



Université  
de Toulouse

# THÈSE

En vue de l'obtention du  
**DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ DE TOULOUSE**

**Délivré par :**  
Institut National Polytechnique de Toulouse (INP Toulouse)

**Discipline ou spécialité :**  
Sciences des Agroressources

---

**Présentée et soutenue par :**  
Mamadou FAYE

**le :** lundi 29 novembre 2010

**Titre :**  
NOUVEAU PROCÉDE DE FRACTIONNEMENT DE LA GRAINE DE NEEM  
(AZADIRACHTA INDICA A.JUSSI) SENEGALAIS : PRODUCTION D'UN  
BIO-PESTICIDE D'HUILE ET DE TOURTEAU

---

## JURY

Komla SANDA, Professeur - Ecole Supérieure d'Agronomie - Université de Lomé - Togo  
Gérard VILAREM, Ingénieur de Recherche - INPT - LCA - ENSIACET - Toulouse - France  
Senghane N'DIAYE, Maître de Conférences - UCAD - ESP - Dakar - Sénégal

---

**Ecole doctorale :**  
Sciences de la Matière (SDM)

**Unité de recherche :**  
Laboratoire de Chimie Agro-Industrielle - UMR 1010 INRA/INPT - ENSIACET

**Directeur(s) de Thèse :**  
Luc RIGAL, Ingénieur de Recherche - INPT - LCA - ENSIACET - Toulouse - France  
Oumar SOCK, Professeur - UCAD - LEPM - ESP - Dakar - Sénégal

**Rapporteurs :**  
Farid CHEMAT, Professeur - Université d'Avignon et des pays de Vaucluse-Avignon - France  
Komla SANDA, Professeur - Ecole Supérieure d'Agronomie - Université de Lomé - Togo

## REMERCIEMENTS

*Ce travail de recherche a été effectué en cotutelle entre l'Institut National Polytechnique (INP) de Toulouse (France) et l'Université Cheikh Anta Diop (UCAD) de Dakar (Sénégal). Il a été réalisé au sein du Laboratoire de Chimie Agro-industrielle (LCA) (UMR 1010 INRA) de l'Ecole Nationale Supérieure des Ingénieurs en Arts Chimiques Et Technologiques (ENSIACET) de l'INP et du Laboratoire d'Electrochimie et des Procédés Membranaires (LEPM) de l'Ecole Supérieure Polytechnique (ESP) de l'UCAD.*

*Je voudrais tout particulièrement remercier Madame le Professeur Marie-Elisabeth BORREDON ainsi que son conseiller scientifique, Monsieur le Professeur Antoine GASET, de m'avoir accueilli au sein de leur laboratoire.*

*Je voudrais exprimer toute ma gratitude à Monsieur le Professeur Oumar SOCK, Directeur du LEPM, pour avoir assuré la co-direction de cette thèse. J'ai toujours bénéficié de son soutien et de son conseil.*

*J'exprime mes plus sincères remerciements à Monsieur Luc RIGAL, Ingénieur de Recherche, pour avoir dirigé cette thèse. Sans lui, cette thèse n'aurait jamais vu le jour. Ses capacités scientifiques, sa rigueur, sa disponibilité, sa simplicité, son enthousiasme ont toujours été une source de motivation pour moi.*

*Je tiens à remercier Monsieur Senghane N'DIAYE qui n'a ménagé aucun effort pour la réussite de ce travail. Il a été le porteur du projet. Je tiens à lui exprimer toute ma gratitude pour l'intérêt et la confiance qu'il m'a accordés.*

*J'exprime mes sincères remerciements à Monsieur Farid CHEMAT et Monsieur Komla SANDA d'avoir accepté de juger ce travail et de faire l'honneur d'être rapporteurs de cette thèse.*

*Je remercie également Monsieur Gérard VILAREM d'avoir accepté de juger ce travail de recherche.*

*Ce travail m'a par ailleurs conduit à collaborer avec les équipes du LCA et du LEPM, je remercie leurs membres pour leurs aides qui ont été primordiales pour l'aboutissement de*

*cette œuvre. Je pense à Catherine DOUMENG pour les séances d'extrusion bi-vis, Anne LUNG pour les analyses physico-chimiques, Philippe EVON l'un des auteurs les plus cités, Céline MATHIEU, Muriel CERNY, Didier NICOLAS, Virginie VANDENBOSCHE, Laure CANDY, Jean-François FABRE et Sébastien HOLMIERE. Je remercie également Marie-Christine TALOU, Karine TREMAUVILLE, Isabelle NOEL, Antoine ROUILLY, Didier DANGLA, Emmanuelle DAO, Michel LE GAL, qui m'ont toujours aidé dans mes démarches quotidiennes, en somme tout le personnel du Laboratoire LCA.*

*Je pense à mes collègues doctorants qui m'ont très bien intégré : Chaker, Christian, Dorothee, Emilie, Fabien, Hermine, Houssien, Julien H., Lupita, Mathieu M., Nicoleta, Rawan, Romain, Sylvain, William et tous les autres.*

*Je tiens à exprimer toute ma gratitude à Jean-François FABRE, Sébastien HOLMIERE, Jazia SRITI, Anthony GUILLON, Christian NGAKEGNI LIMBILI, Veronica LICEA MORENO, Meriem ELALOUI et Isabelle qui demeurent des amis. Ils m'ont permis de découvrir certaines localités et certains aspects de la culture française ; je pense aux week end de ski en montagne à La Mongie et aux vacances et visites à Arcachon, Bordeaux, dans le Périgord, etc.*

*Au sein de l'ESP, je tiens à remercier le Directeur El Hadji Habib NGOM, qui m'a toujours aidé pour mes déplacements à Toulouse. Je tiens particulièrement à remercier le Département Génie Chimique et Biologie Appliquée, en particulier Cheikh Tidiane MBAYE, le chef du département ainsi que mes professeurs, particulièrement : Mesdames et Messieurs Senghane NDIAYE, Oumar SOCK, Abdoulaye SOW, Falilou MBACKE SAMBE, Mady CISSE, Démo KEITA, Codou MAR DIOP, Habib NGOM, Mama SAKHO, Cheikh NGUER, Cheikhou KANE. Je pense à mes collègues étudiants et aux personnels techniques et administratifs, particulièrement Alpha Ousmane TOURE, Djibril DIEDHIOU, Matar DIOP, Alé KANE, M<sup>me</sup> SALL.*

*Ce travail a été financé par le Service de la Coopération et d'Actions Culturelles (SCAC) de l'ambassade de France à Dakar. Je saisis cette opportunité pour exprimer toute ma reconnaissance aux membres du SCAC.*

*Je remercie enfin mes parents, mes frères et sœurs, mon épouse ainsi que mon grand père Cheikh DIOUF et ses fils qui ont su m'aider, me soutenir et m'encourager durant ces longues années de travail.*

## Sommaire

INTRODUCTION GENERALE.....	9
CHAPITRE I: SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE ET SITUATION DES CONNAISSANCES.....	15
I.1 LE NEEM ET SES PRINCIPALES CARACTERISTIQUES :.....	15
I.1.1 Nomenclature et classification.....	15
I.1.1.1 Classification botanique.....	15
I.1.1.2 Nomenclature.....	15
I.1.2 Etymologie.....	16
I.1.3 Origine du neem.....	17
I.1.4 Description de l'arbre.....	17
I.1.4.1 La tige.....	19
I.1.4.2 Les feuilles.....	19
I.1.4.3 Les racines.....	19
I.1.4.4 Le fruit.....	20
I.1.5 Conditions de croissance du neem.....	21
I.1.6 Répartition géographique du neem.....	22
I.2 LE NEEM, "ARBRE DIVIN".....	26
I.2.1 Propriétés médicinales du neem.....	26
I.2.1.1 Effet antibactérien.....	27
I.2.1.2 Effet antidiabétique (hypoglycémiant).....	27
I.2.1.3 Activité antifertile.....	27
I.2.1.4 Effet antipaludéen.....	28
I.2.1.5 Effet antiulcéreux.....	28
I.2.1.6 Effet antiviral.....	28
I.2.1.7 Effet sur le système nerveux central.....	28
I.2.2 Propriétés insecticides du neem.....	28
I.2.3 L'azadirachtine : principe actif du neem.....	35
I.2.3.1 Structure et caractérisation de l'azadirachtine.....	35
I.2.3.2 Dosage de l'azadirachtine dans le neem.....	36
I.2.3.3 Activité insecticide de l'azadirachtine.....	40
I.2.3.4 Composition et exploitation de la graine de neem.....	46
I.3. FRACTIONNEMENT DE LA GRAINE DE NEEM.....	51
I.3.1 Les procédés de fractionnement de la graine de neem.....	51
I.3.2 Les procédés bi-vis : nouveaux modèles de fractionnement des graines oléagineuses.....	53
I.3.2.1 Les éléments constitutifs de l'extrudeur.....	54
I.3.2.1.1 Eléments et profil de vis.....	56
I.4. CONCLUSION.....	62
CHAPITRE II: CARACTERISATION CHIMIQUE DE LA GRAINE DE NEEM SENEGALAIS ET CHOIX D'UN SCHEMA DE FRACTIONNEMENT.....	67
II.1. REPARTITION DES PRINCIPAUX CONSTITUANTS DE LA GRAINE DE NEEM.....	67
II.1.1 Caractéristiques physiques des graines de neem.....	67
II.1.2. Répartition des principaux constituants de la graine de neem.....	69
II.1.3. Caractérisation des lipides de graines de neem.....	70
II.1.3.1. Composition en acides gras des huiles de neem.....	70
II.1.3.1. Composition en stérols des huiles de neem.....	74
II.1.4. Caractéristiques des protéines de graines de neem.....	76

II.1.4. Caractéristiques des composés pariétaux de graines de neem.....	78
II. 2. ETUDE DE LA VARIABILITE DES CARACTERISTIQUES ET COMPOSITION DES GRAINES DE NEEM EN FONCTION DE DIFFERENTES ZONES GEOGRAPHIQUES DU SENEGAL .....	80
II.2.1. Variabilité des caractéristiques physiques des graines .....	82
II.2.2. Variabilité de la teneur en huile des graines.....	83
II.2.3. Variabilité de la composition en acides gras des huiles .....	84
II.2.4. Variabilité de la composition en stérols des huiles.....	85
II.2.5. Variabilité des caractéristiques physico-chimiques des huiles de graines de neem ..	86
II.2.6. Variabilité de la teneur en protéines des graines de neem.....	88
II.3. TENEUR EN AZADIRACHTINE DE LA GRAINE DE NEEM.....	91
II.3.1. Description du protocole d'extraction, de purification et de dosage de l'azadirachtine .....	91
II.3.2. Choix du solvant d'extraction liquide/solide.....	93
II.3.3. Distribution de la teneur en azadirachtine dans la graine de neem.....	95
II.4. CONCLUSION .....	96
 CHAPITRE III : ETUDE DE L'EXPRESSION DE L'HUILE DE GRAINES DE NEEM EN EXTRUDEUR MONO ET BI-VIS.....	101
III.1 ETUDE DU PRESSAGE DE LA GRAINE DE NEEM EN PRESSE MONO-VIS .....	102
III.1.1. Description et principe de fonctionnement de la presse mono-vis : OMEGA 20..	103
III.1.2 Influence des principaux facteurs sur l'expression de l'huile des graines de neem en presse mono-vis.....	105
III.1.2.1 Construction d'un plan d'expérience .....	110
III.1.2.2 Influence du diamètre de la buse et de la distance tête de vis-buse sur les rendements d'expression de l'huile.....	112
III.1.2.3 Influence du diamètre de la buse et de la distance tête de vis-buse sur les caractéristiques de l'huile exprimée.....	116
III.1.2.4 Influence du diamètre de la buse et de la distance tête de vis-buse sur les caractéristiques du tourteau .....	120
III.1.3. Conclusion.....	124
III.2. ETUDE DU PRESSAGE DE LA GRAINE DE NEEM EN EXTRUDEUR BI-VIS ..	125
III.2.1 Choix des conditions de pressage des graines de neem en extrudeur bi-vis.....	128
III.2.2 Influence des principaux facteurs sur le rendement d'expression de l'huile .....	132
III.2.3 Influence des principaux facteurs sur les caractéristiques des huiles exprimées et sur l'extraction de l'azadirachtine .....	134
III.3. CONCLUSION .....	135
 CHAPITRE IV : ETUDE DU FRACTIONNEMENT AQUEUX DE LA GRAINE DE NEEM POUR LA PRODUCTION DE PESTICIDES A BASE D'AZADIRACHTINE.....	139
IV.1. ETUDE DU FRACTIONNEMENT DES GRAINES DE NEEM PAR EXTRACTION AQUEUSE EN CONTACTEUR AGITE .....	141
IV.1.1 Présentation générale du protocole d'extraction aqueuse.....	141
IV.1.2 Etude du fractionnement aqueux des graines de neem au Mixeur Waring Blendor	143
IV.1.3 Etude du fractionnement aqueux des graines de neem à l'émulsificateur Silverson L4RT .....	147
IV.1.4 Caractérisation des émulsions obtenues par fractionnement aqueux de la graine de neem .....	150
IV.1.5 Conclusion .....	153

IV.2 ETUDE DU FRACTIONNEMENT AQUEUX DES GRAINES DE NEEM EN EXTRUDEUR BI-VIS DE TYPE CLEXTRAL BC 21 .....	154
IV.2.1 Configuration et profil de vis de l'extrudeur bi-vis BC 21 et protocole opératoire pour l'extraction aqueuse des graines de neem .....	154
III.2.2. Influence des principaux facteurs sur l'extraction aqueuse simultanée de l'azadirachtine et de l'huile des graines de neem en extrudeur bi-vis BC 21 .....	158
IV.3 OPTIMISATION DU FRACTIONNEMENT AQUEUX DE LA GRAINE DE NEEM EN EXTRUDEUR BI-VIS.....	164
IV.3.1 Choix de la configuration et du profil de vis de l'extrudeur bi-vis BC 45 pour le fractionnement aqueux des graines de neem.....	165
IV.3.2 Etude de la répartition de la matière et de la distribution des temps de séjour dans l'extrudeur bi-vis BC 45.....	167
IV.3.2 Etude de l'influence des facteurs vitesse de rotation des vis, débits de graine et d'eau sur la distribution des temps de séjour du solide et du liquide dans les différentes zones de l'extrudeur bi-vis BC 45.....	179
IV.3.2.1 Calcul des temps de séjour dans les éléments de vis de l'extrudeur.....	179
IV.3.2.2 Calcul des masses de solides secs dans les éléments de vis de l'extrudeur.....	182
IV.3.2.3 Déterminations des coefficients ajustables du modèle.....	182
IV.3.2.4 Validation expérimentale du modèle par le calcul des temps de séjour moyens du solide et du liquide et par le calcul du remplissage de l'extrudeur bi-vis .....	183
IV.3.2.5 Orientations pour une optimisation de l'extraction aqueuse de l'huile et de l'azadirachtine en extrudeur bi-vis.....	185
CONCLUSION GENERALE .....	197
PARTIE EXPERIMENTALE.....	203
V.1 DETERMINATIONS ANALYTIQUES .....	203
V.1.1 Teneur en impuretés des lots de graines de neem .....	203
V.1.2 Broyage de la matière végétale.....	203
V.1.3 Répartition granulométrique.....	203
V.1.4 Détermination du taux de matière sèche, de la teneur en eau et en matières volatiles (COV) .....	204
V.1.5 Détermination de la teneur en matières minérales (cendres) et en matières organiques .....	204
V.1.6. Détermination de la teneur en lipides des phases solides.....	205
V.1.7 Teneur en lipides des phases émulsions .....	205
V.1.8. Teneur en lipides des « phases aqueuses ».....	206
V.1.9 Détermination du taux d'hydrosolubles .....	206
V.1.10 Détermination de la teneur en fibres par la méthode de Van Soest & Wine (dosage ADF-NDF) .....	207
V.1.11 Détermination de la teneur en protéines .....	209
V.1.12 Détermination de la teneur en azadirachtine .....	211
V.1.12.1 Détermination de la teneur en azadirachtine des solides.....	211
V.1.12.2 Détermination de la teneur en azadirachtine des phases émulsions.....	212
V.1.12.3 Détermination de la teneur en azadirachtine des phases aqueuses.....	212
V.1.13 Détermination de la composition en acides gras des huiles .....	212
V.1.14 Détermination des composés insaponifiables (stérols) de l'huile .....	213
V.1.15 Détermination de l'indice d'acide .....	214
V.1.16 Détermination de l'indice de saponification.....	215
V.1.17 Détermination de l'indice d'iode.....	216

V.1.18 Détermination de l'indice de peroxyde .....	216
V.1.19 Détermination de l'indice de réfraction.....	216
V.1.20 Détermination de la densité.....	217
V.1.21 Détermination du pouvoir calorifique .....	217
V.1.22 Teneur en phosphore .....	218
V.2 MISE EN ŒUVRE DE LA PRESSE MONO-VIS OMEGA 20 .....	218
V.2.1 Description générale de la presse mono-vis OMEGA 20 .....	218
V.2.2 Caractéristiques générales de la vis.....	219
V.2.2 Caractéristiques générales du moteur.....	220
V.3 MISE EN ŒUVRE DE L'EXTRUDEUR BI-VIS CLEXTRAL DE TYPE BC 21 .....	221
V.3.1 Description de l'extrudeur BC 21 .....	221
V.3.2 Description des périphériques de l'extrudeur BC 21 .....	221
V.3.2.1 L'armoire électrique.....	221
V.3.2.2 Le doseur utilisé pour l'alimentation en solide .....	221
V.3.2.3 La pompe utilisée pour l'introduction du liquide.....	222
V.3.3 Mise en œuvre de l'extrudeur BC 21 .....	222
V.3.3.1 Mise en œuvre de l'extrudeur BC 21 pour l'expression de l'huile des graines de neem .....	222
V.3.3.2 Mise en œuvre de l'extrudeur BC 21 pour l'extraction de l'azadirachtine et de l'huile des graines de neem : .....	223
V.4 MISE EN ŒUVRE DE L'EXTRUDEUR BI-VIS CLEXTRAL DE TYPE BC 45 .....	223
V.4.1 Description de l'extrudeur CLEXTRAL BC 45.....	223
V.4.2 Description des périphériques de l'extrudeur CLEXTRAL BC 45 .....	224
V.4.2.1 L'armoire électrique.....	224
V.4.2.2 Le doseur utilisé pour l'alimentation en solide .....	224
V.4.2.3 La pompe utilisée pour l'introduction du liquide.....	225
V.4.3 Mise en œuvre de l'extrudeur bi-vis BC 45 pour l'extraction aqueuse de l'huile et de l'azadirachtine .....	225
V.4.4 Evaluations des consommations énergétiques.....	225
V.4.4.1 L'énergie mécanique spécifique.....	225
V.4.4.2 L'énergie thermique spécifique.....	226
V.4.4.3 L'énergie totale.....	226
V.4.5 Détermination de la distribution des temps de séjour dans l'extrudeur .....	226
V.4.5.1 Choix du traceur .....	226
V.4.5.2 Détermination de la DTS du solide .....	226
V.4.5.3 Détermination de la DTS du liquide.....	227
V.4.5.4 Conditions de mesure de la coloration .....	227
V.4.5.5 Principe de mesure de la coloration .....	227
V.4.5.6 Détermination des grandeurs caractéristiques.....	228

# INTRODUCTION GENERALE





## INTRODUCTION GENERALE

Depuis sa sédentarisation, l'homme a cherché à développer une agriculture capable de garantir aux populations un accès à une alimentation suffisante. Il a ainsi créé des écosystèmes productifs locaux, plus ou moins durables et plus résistants aux aléas climatiques et environnementaux. L'industrialisation des cultures, qui a permis à de nombreux pays d'accéder à une autosuffisance alimentaire et qui a contribué au cours des dernières décennies à faire reculer les famines et la malnutrition dans le monde, s'est aussi traduite par des effets pervers sur l'environnement, sa biodiversité et la santé humaine.

En effet, pour maîtriser les cultures, toute une stratégie de spécialisation des plantes, d'augmentation des rendements en biomasse utile pour l'alimentation s'est mise en place à travers les engrais, l'irrigation et surtout la protection contre les ravageurs. L'ampleur des dégâts que peuvent causer certains insectes sur les cultures est bien connue depuis l'antiquité : l'invasion des criquets était l'une des dix plaies d'Egypte.

Face à ces menaces, l'industrie agro-chimique a développé des molécules au spectre d'action pesticide le plus large possible pour détruire les ravageurs, responsables d'une pénurie alimentaire, voire de famines. D'une redoutable efficacité, puisque plusieurs d'entre eux ont été développés lors de la seconde guerre mondiale pour une utilisation comme arme chimique, ces produits pesticides synthétiques se sont aussi avérés néfastes pour l'environnement à travers leur persistance dans les sols et leur accumulation dans les eaux et surtout dans la chaîne alimentaire.

Parmi ces pesticides, nous pouvons citer en particulier les organophosphorés et les organochlorés qui constituent un groupe important des Polluants Organiques Persistants (POP), et sont connus pour être très toxiques, bioaccumulables à travers la chaîne alimentaire et peuvent être transportés sur une longue distance. Ainsi, pendant des décennies, ces produits chimiques très toxiques ont fragilisé la santé des êtres humains et des animaux, endommageant leurs systèmes immunitaires, reproductifs et nerveux. Certains d'entre eux ont ainsi été interdits dans les pays développés depuis 1972. D'après les données statistiques de WHO/UNEP (World Health Organization/United Nations Environment Programme) de 1989,

plus de 20 000 décès par an parmi un million de cas d'intoxication par ces produits ont été signalés dans le monde la plupart se trouvant dans le tiers monde.

Cependant, de nombreux produits sont encore utilisés car du fait de l'absence de remplaçant, leur interdiction pourrait conduire à des récoltes insuffisantes et des famines.

Face aux enjeux majeurs pour l'environnement et la santé des populations, les pouvoirs politiques ont mis en place des législations relatives à la mise sur le marché, à l'utilisation et à l'élimination des pesticides. Au Sénégal, une loi sur l'environnement a été votée en 2001 (Loi N° 2001-01 du 15 janvier 2001). Elle a pour objet d'établir les principes fondamentaux destinés à gérer et à protéger l'environnement contre toutes les formes de dégradation, afin de valoriser rationnellement l'exploitation des ressources naturelles, de lutter contre les différentes sortes de pollutions et nuisances et d'améliorer les conditions de vie des populations dans le respect de l'équilibre de leurs relations avec le milieu ambiant.

Ces contraintes ont fortement relancé les recherches sur les produits ou extraits de plantes susceptibles d'avoir une activité phytosanitaire. Ainsi, les utilisations traditionnelles du neem (*Azadirachta indica* A. Juss) pour le contrôle des ravageurs des cultures et des forêts ont attiré l'attention des chercheurs depuis plus de trente ans. Cet arbre s'est avéré être une remarquable source de molécules biologiquement actives à travers ses feuilles et ses fruits, et en particulier d'un insecticide naturel : l'azadirachtine, essentiellement contenu dans la graine du fruit.

Le neem est un arbre qui appartient à la famille des méliacées et qui est originaire du sous continent indien où ses propriétés médicinales sont connues depuis des millénaires. Au début du XX<sup>ème</sup> siècle, l'arbre est introduit dans plusieurs pays en voie de développement, notamment en Afrique tropicale, et particulièrement au Sénégal où le nombre d'arbre y est estimé entre 18 et 30 millions. On le trouve aussi bien en ville qu'en milieu rural.

Cependant, malgré d'importantes recherches et une bibliographie importante réalisées autour de cet arbre, surtout en Inde, les compositions chimiques des graines de neem, les caractéristiques de ses huiles et des autres constituants sont peu connues. De même, les technologies adaptées permettant la production directe d'un biopesticide ou d'une matière première capable d'être utilisée par l'industrie phytosanitaire n'ont pas été inventoriées.

Ainsi, notre objectif à travers cette thèse est de caractériser la graine de neem sénégalaise et de mettre en place un nouveau procédé de fractionnement, respectueux de l'environnement, pour la production d'azadirachtine comme bio-pesticide, d'huile pour la formulation des pesticides surtout à base d'azadirachtine et de tourteau.

Dans le premier chapitre, nous présenterons le bilan bibliographique des connaissances sur la botanique et la culture de l'arbre, les propriétés pesticides et médicinales des extraits de neem, ainsi qu'un rappel sur la technologie de l'extrudeur bi-vis qui sera mise en œuvre pour le fractionnement des graines.

Le second chapitre sera consacré à la caractérisation des principaux constituants des graines de neem sénégalais de différentes origines, et à l'étude des conditions d'extraction de l'huile et de l'azadirachtine.

Le troisième chapitre sera consacré à l'étude du fractionnement des graines par expression de l'huile. Deux technologies seront étudiées : le pressage mono-vis et le pressage bi-vis.

Enfin, dans le quatrième chapitre, un nouveau procédé de fractionnement des graines de neem par extraction aqueuse sera étudié et développé. Il sera d'abord étudié en contacteur agité puis au stade pilote en extrudeur bi-vis.

La dernière partie de ce manuscrit est la partie expérimentale qui rassemble l'ensemble des protocoles analytiques utilisés pour caractériser les graines de neem, les techniques d'expression d'huile en mono et bi-vis, et également d'extraction aqueuse en bi-vis.



# CHAPITRE I

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE ET  
SITUATION DES CONNAISSANCES



# CHAPITRE I : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE ET SITUATION DES CONNAISSANCES

## I.1 LE NEEM ET SES PRINCIPALES CARACTÉRISTIQUES :

Aujourd'hui connu sous le nom botanique d'*Azadirachta indica* A. Juss, le neem est un arbre qui appartient à la famille des Méliacées. Il a été l'objet d'intenses activités de recherches depuis l'isolement et la caractérisation de l'azadirachtine comme insecticide naturel à partir de ses graines (BUTTERWORTH et MORGAN, 1968).

Cet arbre est originaire du sous continent indien où ses propriétés médicinales sont connues depuis des millénaires. Au début du XX<sup>ème</sup> siècle, l'arbre est introduit dans plusieurs pays en voie de développement, et particulièrement en Afrique tropicale. Il a fait l'objet d'intenses campagnes de plantations au cours des dernières années, particulièrement au Sénégal où on le trouve aussi bien en campagne qu'en ville.

### I.1.1 Nomenclature et classification

#### I.1.1.1 Classification botanique

Le neem peut être classé comme suit (SCHMUTTERER, 1995 ; PURI, 1999):

Ordre : Rutales

Sous ordre : Rutineae

Famille : Meliaceae

Sous famille : Melioideae

Genre : *Azadirachta*

Espèce : *Indica* A. Juss

#### I.1.1.2 Nomenclature

L'*Azadirachta indica*, appelé « neem » en wolof (Langue nationale sénégalaise), possède plusieurs noms vernaculaires (**Tableau I-1**) selon les régions géographiques.



**Tableau I-1 :** Quelques noms vernaculaires pour le neem (SCHMUTTERER, 1995 ; PURI, 1999 ; NATIONAL RESEARCH CONCIL, 1992)

Situation géographique	Noms Vernaculaires
<b>Asie, Australie, Sud du Pacifique</b>	
Inde	Limba, Limbo, Neem, Nim, Nimb, Nimba, Vepa, Bery, Roku...
Pakistan	Nimmi
Myanmar	Tamarkha
Sri Lanka	Kohomba, Kohunmba
Thaïlande	Sadao India, Kwinim, Dao
Indonésie	Imba, Mindi, Mimbo, Intran
Malaisie	Mambu
Singapour	Nimbagaha
Iran	Azad-darakht-i-hindi, Nib
Yémen	Meraimarah
Australie	Neem
Fidji	Neem
<b>Afrique</b>	
Nigeria	Babo Yaro, Dongoyaro
Tanzanie	Mwarobaini
Cameroun	Ganye, Marrango
Madagascar	Nim
Sénégal	Nim, Neem, Nivaquine, Kaaki, Leeki, Nouwakini...
<b>Amérique</b>	
U.S.A	Neem
Amérique latine	nim
<b>Europe</b>	
Allemagne	Niembaum, Indischer Zedrach, Nim, Niem, Indischer Flieder...
France	Azadira d'Inde, Margousier, Lilas des Indes, Zidirac...
Portugal	Margosa, Amargosiera
Espagne	Nim, Margosa,
Angleterre	Neem, Indian Lilac

### I.1.2 Etymologie

Le nom « *neem* » actuellement très populaire, et qui se prononce simplement “nim”, est dérivé du Sanskrit du mot “nimba” qui signifie “arroseuse”, et qui est le raccourci de l’expression : “arroseuse de nectar” (nimbroisia) (PURI, 1999).

Mais la signification du générique *Azadirachta indica* est plus controversée. Selon PURI, (1999), le mot azadirachta provient des mots Perses “azad” (libre) et “drakhat” (arbre). Ce qui signifie l’arbre libre, et le nom Indica y a été ajouté en référence à l’Inde, son lieu d’origine.

La signification du nom botanique du neem (*Azadirachta indica*) deviendrait alors l'arbre libre de l'Inde.

Les arguments développés par WATT (1889), apparaissent plus convaincants. Selon sa thèse, les Perses étaient bien familiers d'un arbre : Mélia azédarach, communément connu sous le nom de China Berry (Baie de Chine), mais appelé en perse "Azadirakhat" ; "Aza" signifie "amer" et "drakhat" signifie "arbre". Ainsi le nom de Mélia azédarach (azadirakhat) devient en perse "l'arbre amer". Lorsque le neem est introduit en Iran, pour le distinguer du Mélia azédarach, auquel il ressemble énormément, le neem est appelé "aza-drakhat hindi" ; c'est à dire l'arbre amer provenant de l'Inde. C'est, selon lui, ce qui aurait conduit au nom botanique d'*Azadirachta indica*.

### **I.1.3 Origine du neem**

Plusieurs sources bibliographiques évoquent l'origine géographique du neem, mais la majorité des auteurs s'accorde à dire que l'arbre est originaire de l'Inde. Ainsi selon plusieurs auteurs (OO, 1989 ; GAMBLE, 1902 ; TROUP, 1921 ; VARTAK et GHATE, 1990), le neem est originaire soit de la forêt de Karnaba au sud de l'Inde, soit de l'intérieur de la forêt de Buma Myanmar. Mais pour d'autres, cet arbre proviendrait de la forêt de Chivalik (PURI, 1999).

Cependant, d'autres situent son origine dans les forêts sud et sud-est de l'Asie, y compris le Pakistan, le Sri Lanka, la Thaïlande, la Malaisie et l'Indonésie (NATIONAL RESEARCH COUNCIL, 1992).

### **I.1.4 Description de l'arbre**

Le neem est une plante verte attrayante avec une multitude de feuilles (**Photo I-1**). C'est un arbre à croissance rapide qui peut atteindre 15 à 20 m de hauteur (SCHMUTTERER, 1995), souvent 20 à 30 m (PURI, 1999 ; NATIONAL RESEARCH CONCIL, 1992) et plus rarement 35 à 40 m.

C'est un arbre à feuillage persistant ; mais dans des zones très sèches, les jeunes arbres peuvent parfois perdre la plupart ou la totalité de leurs feuilles pendant un temps relativement court, et de nouvelles feuilles de couleurs généralement rosâtres à vertes peuvent réapparaître durant les mois de mars et d'avril.



**Photo I-1** : Vue d'ensemble d'*Azadirachta indica* A. Juss

**Figure I- 1** : Photographie du neem, de ses feuilles, fleurs et fruits



**Photo I-2** : Faces ventrale et dorsale des feuilles



**Photo I-3** : Fleur du neem



**Photo I-4** : Fruit du neem avant maturité

#### **I.1.4.1 La tige**

Le tronc de l'arbre du neem est relativement court, habituellement droit ; il peut atteindre 1,5 à 3,5 m de diamètre (SCHMUTTERER, 1995). La couleur de l'écorce varie d'une plante à l'autre, selon l'âge et la localité. Les plus petites branches ont une écorce plus légère alors que les arbres matures ont un tronc rugueux, dur, de couleur grise à grisâtre-noire, et faiblement fissuré. La surface intérieure de l'écorce est fibreuse et varie de rosâtre à brune. De petits dépôts de gommages peuvent être présents sur certains endroits de la tige. Parfois, sur certains arbres, en général les plus vieux, dans les climats humides, une sève fétide peut exsuder du tronc (PURI, 1999).

#### **I.1.4.2 Les feuilles**

Les feuilles du neem sont disposées de manière alternée sur un long et mince pétiole (**Photo I-2**). La face dorsale d'une feuille de neem a une couleur verte foncée alors que la face ventrale est plus claire. Elles mesurent entre 20 et 40 cm de long et sont plus denses à l'extrémité des branches. Les feuillettes, variables dans leurs formes notamment au niveau de l'axe central, varient entre 7 et 15 cm, et dépassent parfois 17 cm sur un même pétiole (PURI, 1999). Les feuillettes les plus jeunes ont une couleur rougeâtre ; à la maturité ils ont une forme plus ou moins asymétrique et leurs marges sont dentées. Selon SCHMUTTERER, (1995) on peut en trouver jusqu'à 31 sur un même pétiole. Elles mesurent entre 3 et 8 cm de long chacune.

Les feuillettes sont lisses et un examen plus poussé de jeunes feuillettes situés près de la pousse de l'apex montre la présence de glandes sécrétrices de résine (PURI, 1999).

Les branches sont en général écartées, ce qui explique que l'arbre produit grâce à ces multitudes de feuilles une couronne assez dense, ronde ou ovale qui peut atteindre 15 à 20 m de diamètre pour les arbres matures (NATIONAL RESEARCH COUNCIL, 1992 ; SCHMUTTERER, 1995).

#### **I.1.4.3 Les racines**

Le système racinaire du neem est constitué d'une forte racine pivotante et d'un ensemble de racines latérales bien développées. La surface latérale des racines peut aller jusqu'à plus de 18 m (BENGE, 1989). Elles pénètrent le sol profondément et produisent des surrogens ; c'est ce qui permet à l'arbre de résister dans les zones sèches.

#### **I.1.4.4 Le fruit**

Les fleurs du neem (**Photo I-3**) sont petites, blanches, et soutenues par un faisceau auxiliaire qui peut aller jusqu'à 25 cm de long. Elles contiennent une sève qui dégage une odeur qui attire les abeilles (NATIONAL RESEARCH COUNCIL, 1992). Les inflorescences, qui s'embranchent jusqu'au troisième degré, soutiennent jusqu'à 150 à 250 fleurs (GRUBER, 1991). Chaque fleur peut faire 5 à 6 mm de long et 8 à 11 mm de large (SCHMUTTERER, 1995).

Son fruit est lisse, et de forme ellipsoïdale. Il mesure 1,4 à 2,8 cm de long et 1,0 à 1,5 cm de large (SCHMUTTERER, 1995). Il ressemble à celui de l'olivier (**Photo I-4**). Avant la maturité il est vert, et devient ensuite jaune à jaune verdâtre. Il comporte une pulpe enfermant une graine. Sa peau (exocarpe) est mince et lisse. La pulpe (mésocarpe), aigre et douce, est blanche-jaunâtre et très fibreuse. Elle mesure 0,3 à 0,5 cm de profondeur. A l'intérieur se trouve la coquille (endocarpe). Elle est blanche, assez dure, et renferme en son sein un, rarement deux et très rarement trois noyaux ovales de couleur brune. La coquille mesure 0,9 à 2,2 cm de long et 0,5 à 0,8 cm de large, et son noyau 0,8 à 1,0 cm de long et 0,4 à 0,5 cm de large.

L'arbre commence à fructifier parfois dès l'âge de 2 ans, le plus souvent au bout de 3 à 5 ans, et atteint son maximum de production à l'âge de 10 ans. Environ trois mois après la floraison, les fruits mûrissent et commencent à tomber. Dans l'hémisphère nord, la floraison a lieu en général à partir de janvier/février à mai (Inde), et au sud de l'équateur, en novembre et décembre. Mais, dans certains pays, deux saisons de fructifications peuvent être distinguées, l'une en mars/avril et l'autre en juillet/août comme c'est le cas en Afrique de l'Ouest et particulièrement au Sénégal (SCHMUTTERER, 1995). Dans la vallée azua en République Dominicaine l'arbre peut même fructifier trois fois de suite par an ; et les périodes de récoltes dans cette région sont début février et mars, fin juin et fin août, et novembre-décembre (SCHMUTTERER, 1995).

La production annuelle de fruits varie ainsi considérablement d'un lieu à un autre. Selon KETKAR, (1976), en moyenne, un seul arbre de 8 m de hauteur produit environ 37-55 kg de fruits par an. Selon RADWANSKI, (1977) la moyenne observée au Nigeria est de 20,5 kg par arbre et par an. Selon HEGDE, (1993), la moyenne est de 25 kg de graines par arbre mature.

Mais selon SAXENA et al., (1989) on peut récolter plus de 100 kg sur un seul arbre au Kenya. Au Sénégal, la moyenne est estimée à 50 kg.

### **I.1.5 Conditions de croissance du neem**

Le neem est un arbre qui se développe généralement rapidement dans de bonnes conditions climatiques et pédologiques.

Selon RADWANSKI, (1977), 66% de la croissance totale de l'arbre dans le Nord du Nigeria a lieu pendant les trois premières années pour atteindre une hauteur de 4-7 m, et de 5 à 11 m à la cinquième année. Il peut vivre pendant deux siècles.

Connu pour sa résistance à la sécheresse, il se développe normalement dans les zones arides et semi arides, avec une pluviométrie annuelle comprise entre 400 et 1200 mm (SCHMUTTERER, 1995 ; NATIONAL RESEARCH COUNCIL, 1992). Il peut aussi s'adapter dans les régions où les précipitations annuelles sont inférieures à 400 mm, dépendant alors en grande partie de la nappe phréatique, et pendant les périodes de fortes et longues sécheresses, l'arbre peut perdre une partie ou la totalité de ses feuilles. Le neem peut aussi vivre dans des régions où les précipitations annuelles vont jusqu'à 2500 mm par an, à condition que le sol sur lequel il pousse soit bien drainé. Mais, dans ces conditions, la production de fruits est généralement faible en raison de la chute des fleurs et fruits pendant la saison des pluies. Les tentatives au cours de ces dernières années d'augmenter le nombre d'arbres dans des zones à fortes pluviométries, entre 3 000 et 4 000 mm par an comme dans la partie orientale de l'Equateur dans le bassin amazonien et sur l'île de Tonga, ont complètement échoué.

Le neem peut se développer sur de nombreux types de sols, mais est mieux adapté aux sols bien drainés et sableux (SCHMUTTERER, 1995), et meurt rapidement si le site est saturé d'eau (NATIONAL RESEARCH COUNCIL, 1992).

Un pH des sols compris entre 6,2 et 7 semble être le mieux adapté à cet arbre (FISHWICK, non daté), mais des pH de 5,9 à 10 peuvent être tolérés dans certaines conditions.

Typique des régions tropicales et subtropicales, où les températures moyennes annuelles varient entre 21 et 32°C, il peut tolérer des températures élevées, par exemple dans le Nord-Est et le centre de l'Afrique où les températures à l'ombre peuvent atteindre 50°C durant les

mois d'été (SCHMUTTERER, 1995 ; NATIONAL RESEARCH COUNCIL, 1992). A l'inverse, des températures inférieures à 4°C et les gels prolongés conduisent à la mue des feuilles et la mort des jeunes plantes.

Habituellement rencontré sur les plaines et les basses collines, le neem peut se développer à des altitudes allant jusqu'à 700-800 m, mais rarement au-delà de 1 000 m. Généralement, pour les altitudes élevées, 1 000 à 1 500 m, la plante a une croissance lente et une faible production de fruits en raison des températures faibles et des précipitations importantes.

Enfin, la lumière est un facteur environnemental très important pour la croissance de la plante. Bien que les jeunes arbres soient souvent dans l'ombre, les arbres matures ont besoin de beaucoup de lumière. A titre d'exemple, le taux net de la photosynthèse, mesuré en Australie est de 10-17  $\mu\text{mol CO}_2\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-2}$ , ce qui est élevé par rapport à d'autres arbres fruitiers tropicaux (GRUBER, 1991).

### **I.1.6 Répartition géographique du neem**

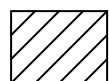
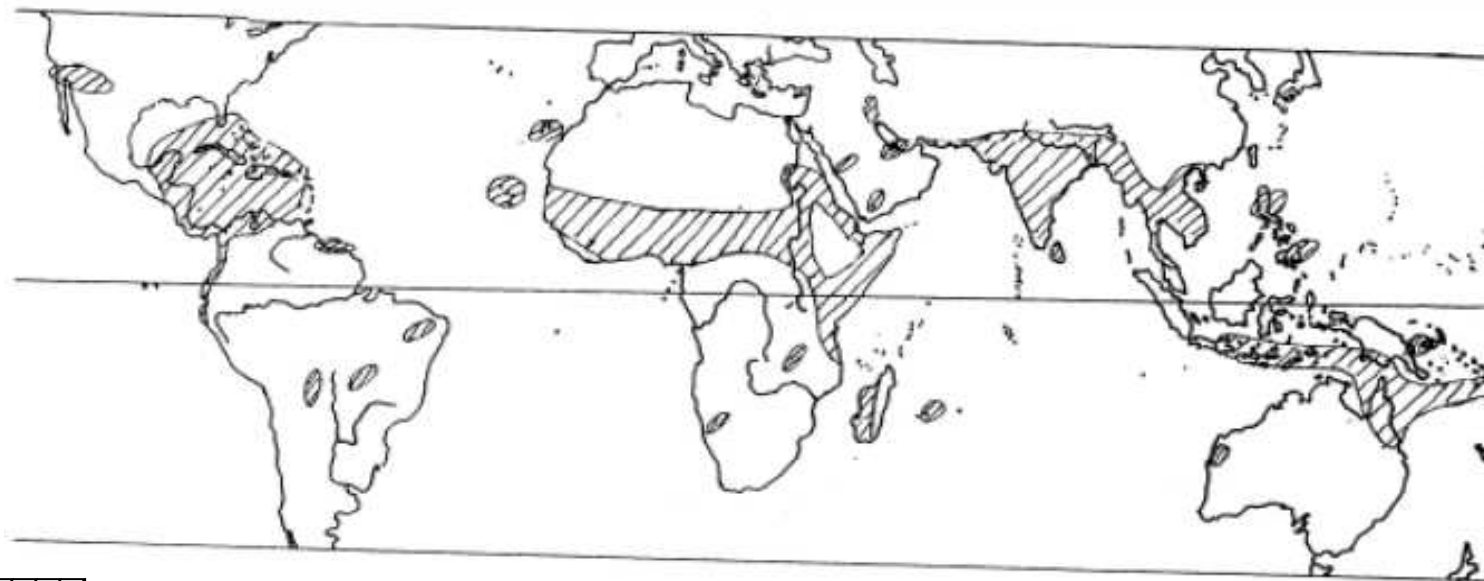
Grâce au fait qu'il s'adapte bien aux climats chauds et secs, le neem est devenu une espèce très communément plantée dans les régions tropicales sèches et subtropicales d'Océanie, d'Asie, d'Afrique et d'Amérique (**Figure I-2**).

En Océanie, dans le sud du pacifique, le neem se développe dans les îles Fidji, en particulier dans la partie occidentale des îles de Viti Levu, où il a été introduit par des immigrants venus de l'Inde qui travaillaient dans les champs de canne à sucre. En Polynésie, des plantations de neem sont apparues dans différentes îles d'Hawaï au cours de ces dernières années. Le neem est aussi présent en Australie, actuellement dispersé dans toutes les zones tropicales et subtropicales. Grâce aux plantations effectuées dans ce pays durant ces dernières années, en particulier dans le Nord du Queensland, le nombre d'arbres avoisine les 160 000 dont quelques 60 000 arbres répertoriés dans le Queensland.

En Asie, le neem est un arbre caractéristique de la végétation dans le nord du Bangladesh, dans de nombreuses régions de l'Inde, et au Pakistan. Il y a plus de 34 ans, KETKAR (1976), signalait déjà plus de 14 millions d'arbres en Inde. En Arabie Saoudite, l'arbre a été introduit il y a plus de 50 ans (SCHMUTTERER, 1995) pour fournir de l'ombre, lutter contre la

chaleur et les conditions d'aridité dans certaines villes du pays où il est probablement devenu plus fréquent que le palmier dattier ou tout autre arbre. En particulier sur la plaine d'Arafat, l'une des plus chaudes de la planète, quelques 50 000 arbres ont été récemment plantés pour fournir de l'ombre aux plus de 2 millions de pèlerins musulmans qui viennent annuellement pour le Hadj (AHMED et al., 1989).





Pays où le neem est rencontré

USA	Rep. Dom.	Porto Rico	Iles Canaries	Mali	Egypte	Irak	Iran	Myanmar	Philippines
Mexico	Haïti	Ile Vierge	Iles de Cap Vert	Côte d'Ivoire	Soudan	Arabie Saoudite	Pakistan	Thaïlande	Indonésie
Guatemala	Cuba	Antigua	Mauritanie	Burkina Faso	Erythrée	Yémen	Inde	Chine	Nouvelle Guinée
Honduras	Jamaïque	Montserrat	Sénégal	Ghana	Ethiopie	Qatar	Népal	Vietnam	Australie
El Salvador	Costa Rica	Trinidad Tobago	Gambie	Togo	Djibouti	Madagascar	Sri Lanka	Malaisie	Ile Fidji
Nicaragua	Panama	Venezuela	Guinée Bissau	Bénin	Somalie	Mauritius	Bangladesh		
	Colombie	Guyana	Guinée	Niger	Kenya				
	Equateur	Surinam	Sierra Léone	Nigeria	Ouganda				
	Pérou	Brésil	Liberia	Cameroun	Tanzanie				
		Bolivie		Tchad	Mozambique				
				Namibie	Malawi				

**Figure I-2** : Zones d'implantations et de cultures du neem (*Azadirachta Indica* A. Juss) (FORSTER et MOSER, 2000)

En Amérique, la date à partir de laquelle la première graine de neem est introduite n'est pas très bien connue, et encore moins l'endroit où elle a été plantée. Cependant il pourrait avoir été introduit par les immigrants indiens venus travailler dans les Iles de Trinité et Tobago, ou de la Guyane. En Haïti, le succès du programme de plantation lancé il y a 40 ans pour fournir du bois de chauffage, de l'ombre et pour protéger les sols contre l'érosion, a fortement favorisé la propagation rapide de l'arbre de neem dans cette partie du continent américain (LEWIS et ELVIN-LEWIS, 1983). Des plantations se sont développées autour de Miami et d'autres régions de la Floride, ainsi que dans le sud de la Californie, l'Arizona et l'Oklahoma (BENGE, 1989). Des plantations plus ou moins importantes ont été établies au Nicaragua et au Honduras ; dans ce pays on décompte plus de 100 000 arbres. Le neem est aussi présent dans plusieurs régions du Mexique, du sud-ouest du Guatemala, du Salvador, du Costa Rica, du Panama, de l'ouest de la Colombie (KLEIN KOCH, 1986), le nord-ouest du Venezuela, de la Bolivie et l'ouest de l'Equateur.

En Afrique de l'Est, le neem a été probablement introduit par des immigrants en provenance du continent indien. Répandu dans presque tout le continent africain par des acteurs de l'administration coloniale, il est actuellement présent dans un peu moins de trente pays, en particulier ceux des régions de la frange méridionale du Sahara, où il est devenu un important fournisseur de charbon de bois et de bois de charpente (NATIONAL RESEARCH COUNCIL, 1992). Il existe le long de la côte de l'Afrique orientale, en Somalie, au Kenya et en Tanzanie, et en Egypte, environ 4 000 arbres ont été plantés au cours des dernières années, principalement dans le delta du Nil (SCHMUTTERER, 1995).

En Afrique centrale, le neem est présent dans le bassin du lac Tchad (Est du Niger, Nord-Est et Sud-Est du Nigeria, Sud-Ouest du Tchad, Nord du Cameroun). Il est également fréquent dans les autres parties du Nigeria où il a été introduit probablement vers 1828 (SCHMUTTERER, 1995), principalement dans les régions sèches du Nord. Planté autour de Niamey, capitale du Niger, il a été introduit dans ce pays vers 1940 (ANON, 1992). Le neem pousse aussi au Bénin, au Togo, au Burkina Faso, au Ghana et en Côte d'Ivoire.

En Afrique de l'Ouest, le neem est présent au Mali, en particulier le long du fleuve du Niger vers le Nord de Tombouctou, mais aussi en Mauritanie, en Gambie, aux deux Guinées et dans la Sierra Leone (SCHMUTTERER, 1995).

Au Sénégal, le neem est présent dans toutes les régions du pays, aussi bien dans les campagnes qu'en ville, où il est planté traditionnellement par les populations locales pour son

ombre et pour fournir du bois de chauffage. Son développement a bénéficié d'un programme de plantation du Département des forêts sénégalais.

Les estimations du nombre d'arbres dans le monde données par FORSTER et MOSER en 2000 (**Tableau I-2**) situaient l'Afrique en tête du recensement, et le Sénégal y est probablement l'un des principaux contributeurs.

**Tableau I-2** : Estimation du nombre d'arbres de neem dans le monde (FORSTER et MOSER, 2000)

Régions ou situation géographique	nombre d'arbres en millions
Monde entier	64,1 à 91,1
Asie et Océanie	27,1 à 39,1
Afrique	31 à 45
Caraïbes et Amérique Latine	5,5 à 6,5
Pays industrialisés	< 0,5

## I.2 LE NEEM, "ARBRE DIVIN"

Les caractéristiques d'adaptation à des conditions pédoclimatiques difficiles font du neem un candidat de choix dans la lutte contre la déforestation, l'érosion et pour la stabilisation des sols. Outre l'ombre remarquable que procure cet arbre et qui a motivé certains projets de plantations, notamment au Sénégal et en Arabie Saoudite, il est aussi pourvoyeur de bois d'œuvre et de chauffage en Inde et dans certaines régions d'Afrique et des Caraïbes.

Mais ce sont sans aucun doute les propriétés remarquables des extraits qui peuvent en être tirés qui ont été à l'origine du plus grand développement de cet arbre. Certaines d'entre elles sont connues depuis très longtemps, et toutes les parties de la plante ont ainsi été exploitées en médecine traditionnelle.

### I.2.1 Propriétés médicinales du neem

Appelé "*pharmacie du village*" ou "*l'arbre miracle*" par les praticiens de la médecine traditionnelle indienne ou "*l'arbre divin*" par certains auteurs (PURI, 1999), le neem est utilisé depuis des millénaires en médecine traditionnelle. Les propriétés thérapeutiques de ses fruits, de ses graines et de son huile, de son écorce, de ses feuilles et de ses racines, qui ont

une longue tradition d'usage dans la médecine ayurvédique et unani en Inde, sont mentionnées il y a de cela 3 000 ans dans des récits Sanskrit.

Aujourd'hui le neem est connu comme étant une plante de la médecine traditionnelle dans de nombreuses zones rurales de régions d'Asie et d'Afrique. Il a également été très étudié par la médecine moderne : les effets antiseptiques, anti-inflammatoires, hypoglycémiant, antibactériens, antipaludéens, antiviral, etc., de divers constituants des feuilles, écorces, graines, racines sont maintenant établis. Ainsi, plusieurs médicaments à base d'extraits de neem sont commercialisés en Inde (NATIONAL RESEARCH COUNCIL, 1992).

### **I.2.1.1 Effet antibactérien**

Des préparations à base de neem ont été utilisées comme désinfectant depuis longtemps ; CHOPRA et al., (1952) ont testé l'huile essentielle des fleurs de neem contre un certain nombre d'agents pathogènes à l'homme et aux végétaux. La plupart des espèces testées à l'exception du *barrilluss mycoïdes*, ont montré une sensibilité par rapport à cette huile essentielle.

### **I.2.1.2 Effet antidiabétique (hypoglycémiant)**

Le neem est l'un des plus anciens médicaments utilisés dans le traitement du diabète (MUKHERJI, 1957). SHUKLA et al., (1973) ont montré que l'administration orale de 5 grammes d'extrait aqueux ou d'un équivalent en feuilles sèches dans des capsules a permis de réduire la dose d'insuline des patients de plus de 30 à 50%. LUSCOMBE et TAHA, (1974) ont testé un extrait aqueux de 10% de jeunes et tendres feuilles pour leurs effets hypoglycémiques sur des lapins et une diminution de la concentration du glucose dans le sang a été observée.

### **I.2.1.3 Activité antifertile**

Durant leurs études pharmacologiques, MURTHY et SIRSI, (1958a) ont observé une activité oestrogénique de l'huile de neem et de ses dérivés. Selon SHARMA et SAKSENA, (1959 ; 1959a) deux composés, le nimbinat et nimbidinat de sodium possèdent des effets spermicidal in vitro chez l'homme et les rats. SINHA et al., (1984) ont signalé une activité anti-flagellation de l'huile de neem sur le sperme : le spermatozoïde étant immobile devient alors incapable de féconder un ovule.

#### **I.2.1.4 Effet antipaludéen**

Des préparations à base de neem, notamment de l'écorce, ont pendant très longtemps été utilisées contre le paludisme. Les résultats des dernières études sur cette activité antipaludéenne sont cependant contradictoires. Certains auteurs comme TELLA, (1976) trouvent que les doses orales à base de préparations de neem sont presque inefficaces, alors que d'autres comme EKANEM, (1976) ont démontré l'activité schizonticide de ces préparations contre le *plasmodium berghei berghei*.

#### **I.2.1.5 Effet antiulcéreux**

L'extrait nimbidine du neem a été étudié par PAILLAI, (1978) pour son activité antigastrique, et s'est révélé efficace. Les études pharmacologiques ont montré que ce composé bloque l'effet stimulant de l'acétylcholine, mais inhibe également la stimulation produite par l'histamine. Le nimbidine administré par voie orale de façon significative empêche l'ulcération et ces observations ont été confirmées par PILLAI et SANTHA KUMARI, (1984). D'autres études ont montré l'importance de l'effet protecteur du nimbidine à une dose de 20 à 40 g.kg<sup>-1</sup>.

#### **I.2.1.6 Effet antiviral**

RAO et al., (1969) ont montré que l'extrait aqueux de 10% de feuilles tendres possédait une activité antivirale contre le virus de la *vaccina et de la variole*. L'extrait aqueux des feuilles de neem ne tueait pas directement le virus mais inhibe la multiplication du *vaccina* (RAI et SETHI, 1972).

#### **I.2.1.7 Effet sur le système nerveux central**

DEBELMAS et HACHE, (1976) ont testé l'effet de l'extrait aqueux du neem sur le système nerveux central. Aucun effet significatif n'a été observé, ni anticonvulsivant, anticholinergique, analgésique, ou sédatif. PILLAI et al., (1980) ont cependant observé des effets antistress.

### **I.2.2 Propriétés insecticides du neem**

Ce sont les propriétés insecticides des extraits de neem qui ont été les plus étudiées. Et bien que cette activité soit mentionnée dans les récits médicaux sanskrits il y a de cela des milliers

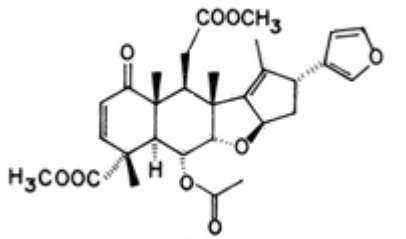
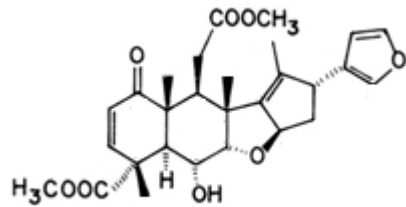
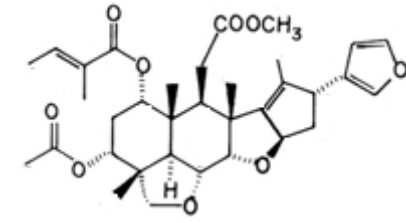
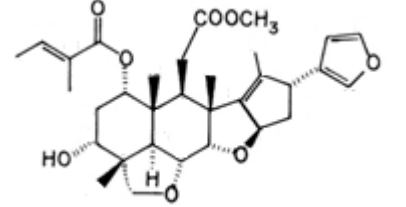
d'années, les énormes potentialités du neem pour le contrôle et la lutte contre les insectes ravageurs ne sont devenues claires que récemment, en particulier en réponse au problème posé par la bioaccumulation et la toxicité des pesticides de synthèse utilisés pour l'agriculture depuis plus de 60 ans.

La capacité du neem à repousser les insectes a été signalée pour la première fois dans la littérature scientifique en 1928 et 1929 par deux chercheurs indiens (CHOPRA, R.N. et HUSAIN, M.A.), qui ont utilisé 0,001% d'une suspension aqueuse de graines de neem pour repousser du sol des criquets pèlerins (SCHMUTTERER, 1995). En 1962, à New Delhi, PRADHAN, S. constate que les criquets refusent de manger les cultures traitées par pulvérisation d'un extrait aqueux de graines de neem, et ce jusqu'à trois semaines après le traitement (SCHMUTTERER, 1995).

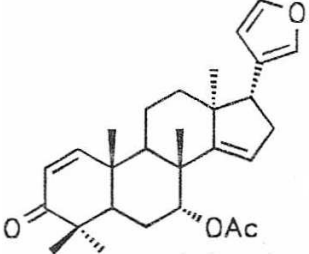
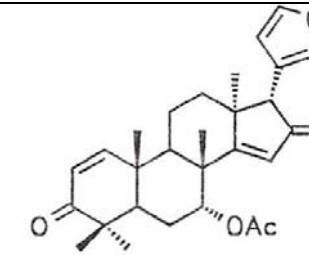
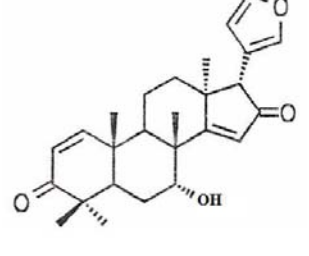
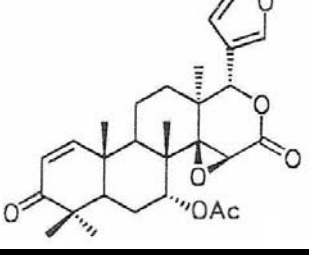
Dix ans plus tard, des essais réalisés à la station de recherche sur le café en Haute Kiambu (Kenya) ont montré que les extraits méthanoliques de feuilles de neem contrôlaient la croissance du bogue du café (*Antestiopus orbitalis bechuana*) (SCHMUTTERER, 1995). La plupart des groupes d'insectes traités avec cet extrait perdait la vie au cours des mues et les rares survivants présentaient des malformations au niveau des ailes et du thorax à l'âge adulte. De même les extraits méthanoliques d'amande de neem se sont avérés efficace pour la réduction de la fécondité de coléoptères du haricot mexicain (*Epilachna varivestis*) et de la patate du Colorado (*Leptinotarsa decemlineata*) : certaines femelles avaient presque cessé de pondre et d'autres étaient devenues stériles (SCHMUTTERER, 1995).

Ces activités insecticides des extraits de neem sont attribuées à la présence dans différentes parties de la plante de plusieurs composés de la famille des terpénoïdes. Parmi les nombreux dérivés de la sous famille des limonoïdes qui ont été identifiés (**Tableau I-3**) et dont l'activité biologique a été étudiée (**Tableau I-4**), c'est l'azadirachtine et ses dérivés qui ont fait l'objet du plus grand nombre de travaux.

**Tableau I-3 : Quelques composés de la famille des limonoïdes isolés à partir du neem**

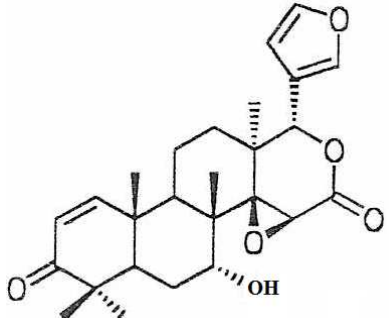
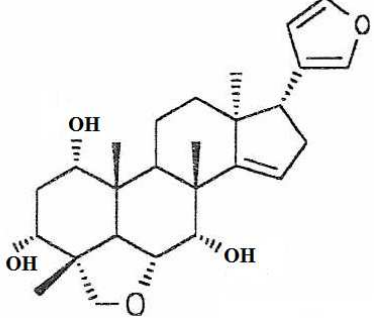
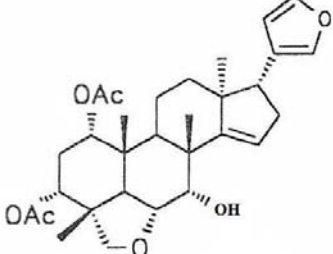
Nom du composé	Formule	Organes sources	Références	Remarques
Nimbine		Graines Feuilles	SIDDIQUI, S., 1942 NARAYANAN et al., 1964 HARRIS et al., 1968 BOKEL et al., 1990	Le nimbine est l'un des premiers constituants du neem à être isolé à partir de ses graines et plus récemment à partir de ses feuilles. Sa structure complète a été déterminée par RMN en 1968.
Déacétylnimbine		Graines Feuilles Ecorce	NARAYANAN et al., 1967a BOKEL et al., 1990 EKONG, 1967	Le 6-déacétylnimbine se rencontre dans les graines, l'écorce et dans les feuilles (BOKEL et al., 1990) qui contiennent également le nimbolide
Salannine		Graines Huile	HENDERSON et al., 1968 SRIVASTAVA, 1986 DE SILVA et al., 1969	La salannine a été aussi rencontrée dans les extraits du <i>Melia azedarach</i> . Il est le troisième triterpénoïde isolé à partir du neem.
Déacétylsalannine		Graines Feuilles Ecorce	KRAUS et al., 1981c ISHIDA et al., 1992	Le 3-déacétylsalannine a été isolé plus tard à partir des graines ainsi que la salannole

**Tableau I-3 (Suite) :** Quelques composés de la famille des limonoïdes isolés à partir du neem

Nom du composé	Formule	Organes source	Références	Remarques
Azadirone		Huile Fruits	LAVIE et JAIN 1967 LAVIE et LEVY, 1971	L'azadirone a été isolée à partir de l'huile de neem et plus tard à partir du fruit.
Azadiradione		Huile	LAVIE et JAIN 1967 LAVIE et LEVY, 1971	L'azadiradione a aussi été isolée à partir de l'huile et récemment synthétisée par COREY et HAHN, (1989)
Déacétylazadirone		Graines Huile	CRAMER, 1979	Le 7-déacétylazadirone n'a pas encore été rencontré dans la nature mais a été synthétisé à partir de l'azadirone (CRAMER, 1979)
Gédunine		Huile Ecorce	LAVIE et JAIN, 1967 LAVIE et al., 1971	Le gedunine a été isolé à partir de l'huile et de l'écorce de neem



**Tableau I-3 (Suite) :** Quelques composés de la famille des limonoïdes isolés à partir du neem

Nom du composé	Formule	Organes source	Références	Remarques
Déacétylgedunine		Huile Ecorce	LAVIE et JAIN, 1967 LAVIE et al., 1971	Le déacétylgedunine a aussi été isolé à partir de l'huile et de l'écorce de neem
Vilasinine		Feuilles	PACHAPURKAR et al., 1974	Le valasinine a été isolé à partir des feuilles vertes de neem
Déacétylvilasinine		Huile	KRAUS et al., 1981 KRAUS, 1984 KRAUS et al., 1987a, 1991, 1993a	Le 1,3-diacétylvalasinine a été isolé à partir de l'huile

**Tableau I- 4 :** Activités biologiques de quelques limonoïdes extraits du neem

Composés et organismes testés	Activités biologiques	Références
Nimbine		SIDDIQUI et al., 1942
<i>Epilachna varivestis</i>	A EC50=50ppm	NARAYANAN et al., 1964 HARRIS et al., 1968 SCHWINGER, 1985 KRAUS et al., 1993a
6-Déacetylnimbine		NARAYANAN et al., 1967a BOKEL et al., 1990
<i>Epilachna varivestis</i>	A EC50=50ppm	SCHWINGER, 1985 KRAUS et al., 1993a
<i>Popillia japonica</i>	A EC50=100ppm	SCHWINGER, 1985
<i>Reticulitermes speratus</i>	A EC50=28µg.mL <sup>-1</sup>	ISHIDA et al., 1992
Salannine		HENDERSON et al., 1968
<i>Acalymma vittatum</i>	A EC50=20ppm	REED et al., 1981
<i>Earias insulana</i>	A EC50=0,01%	MEISNER et al., 1981
<i>Epilachna varivesti</i>	A EC50=14ppm	SCHWINGER, 1985 KRAUS et al., 1993a
<i>Heliothis virescens</i>	G EC50=170ppm	KUBO et al., 1986
<i>Musca domestica</i>	A	WARTHEN et al., 1978
<i>Popillia japonica</i>	A EC50=280ppm	SCHWINGER, 1985
<i>Reticulitermes speratus</i>	A EC50=19,5µg.mL <sup>-1</sup>	ISHIDA et al., 1992
<i>Spodoptera frugiperda</i>	A ED50=13µg.mL <sup>-1</sup>	RAJAB et al., 1988
<i>Spodoptera littoralis</i>	A EC50=0,01%	MEISNER et al., 1981
3-Déacétylsalannine		KRAUS et al., 1991
<i>Epilachna varivestis</i>	A EC50=20ppm	SCHWINGER et al, 1984 SCHWINGER, 1985 KRAUS et al., 1993a
<i>Heliothis virescens</i>	G EC50=170ppm	KUBO et al., 1986
<i>Popillia japonica</i>	A EC50=390ppm	SCHWINGER, 1985
<i>Reticulitermes speratus</i>	A EC50=55,2µg.mL <sup>-1</sup>	ISHIDA et al., 1992 KRAUS et al., 1981 SCHWINGER et al., 1985 KRAUS et al., 1993a

A=activité anti-appétant, G=inhibiteur de la croissance, EC50=Concentration Effective 50 : dose qui induit 50% d'effet, ED50 : Dose effective 50

**Tableau I-4 (Suite) : Activités biologiques de quelques limonoïdes extraits du neem**

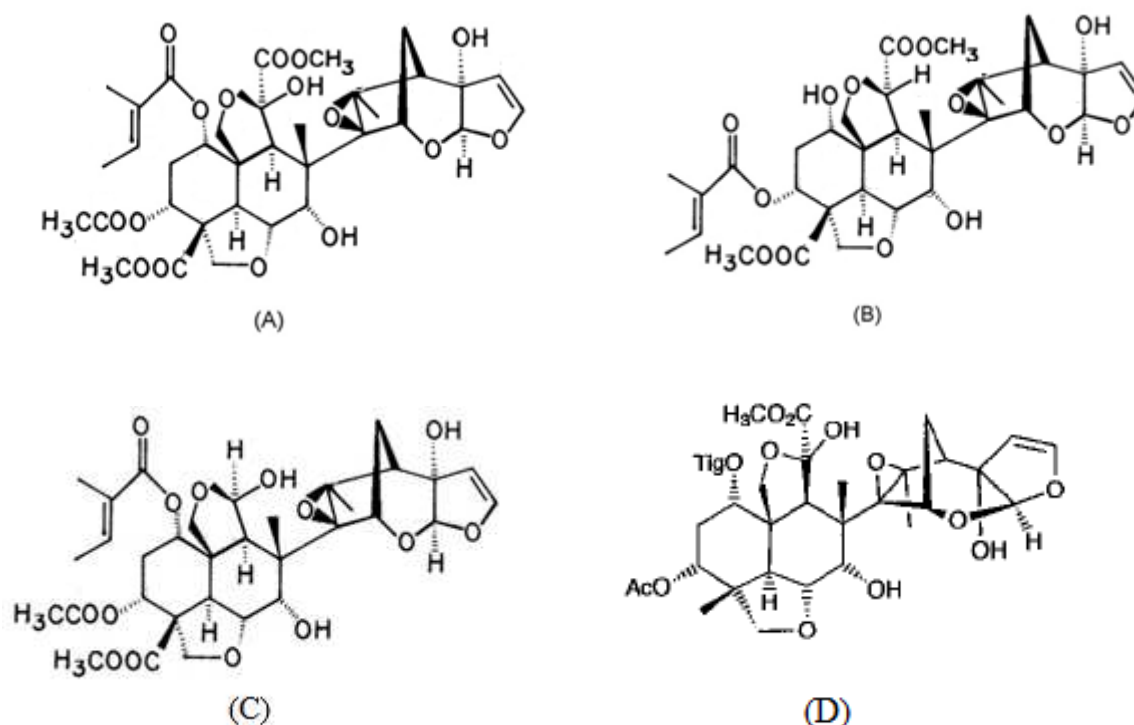
Composés et organismes testés	Activités biologiques	Références
Azadirone		LAVIE and JAIN, 1967, 1971
<i>Epilachna varivestis</i>	A EC50=5500ppm	SCHWINGER et al., 1984 SCHWINGER, 1985
<i>Popillia japonica</i>	A EC45=5000ppm	SCHWINGER, 1985
7-deacetylazadirone		CRAMER, 1979
<i>Epilachna varivestis</i>	A EC50=500ppm	SCHWINGER, 1985
Azadiradione		LAVIE et al., 1967, 1971
<i>Epilachna varivestis</i>	A EC50=320ppm	SCHWINGER, 1985 SCHWINGER et al., 1984
<i>Helicoverpa zea</i>	A EC50=250ppm	KUBO and KLOCKE, 1986
<i>Heliothis virescens</i>	A EC50=560ppm	LEE et al., 1988
<i>Musca domestica</i>	A LC50=0,85µg.mL <sup>-1</sup>	SIDDIQUI et al., 1990a
<i>Spodoptera frugiperda</i>	A EC50=130ppm	LEE et al., 1988
<i>Pectinophora gossypiella</i>	A EC50=42ppm	KUBO et al., 1986
<i>Popillia japonica</i>	A EC50=5000ppm	SCHWINGER, 1985
<i>Reticulitermes speratus</i>	A EC50=238ppm	ISHIDA et al., 1992
Gédunine		LAVIE et al., 1970, 1971
<i>Epilachna varivestis</i>	A EC50=930ppm	SCHWINGER et al., 1984 SCHWINGER, 1985
<i>Helicoverpa zea</i>	G EC50=50ppm	KUBO et al., 1986
<i>Ostrinia nubilalis</i>	A EC50=500ppm	ARNASON et al., 1987
<i>Pectinophora gossypiella</i>	G EC50=32ppm	KUBO et al., 1986
<i>Popillia japonica</i>	A EC50=500ppm	SCHWINGER, 1985
<i>Reticulitermes speratus</i>	A EC50=49µg.mL <sup>-1</sup>	ISHIDA et al., 1992
<i>Spodoptera frugiperda</i>	G EC50=47ppm	KUBO et al., 1986
<i>Plasmodium falciparum</i>	M LC50=1µM.mL <sup>-1</sup>	KUBO et al., 1986
Déacetylgedunine		LAVIE et al., 1970, 1971
<i>Helicoverpa zea</i>	G EC50=165ppm	KUBO et al., 1986
<i>Reticulitermes speratus</i>	A EC50=22,5µg.mL <sup>-1</sup>	ISHIDA et al., 1992
<i>Spodoptera frugiperda</i>	G EC50=60ppm	KUBO et al., 1986
<i>Pectinophora gossypiella</i>	G EC50=22ppm	KUBO et al., 1986
<i>P-388 leukemia cell line</i>	G ED50=0,11ppm	PETTIT et al., 1983
Déacetylvalasinine		KRAUS et al., 1981c
<i>Epilachna varivestis</i>	A EC50=13ppm	SCHWINGER, 1985 KRAUS et al., 1991, 1993a
Valasinine		KRAUS et al., 1984
<i>Epilachna varivestis</i>	A EC50=10ppm	SCHWINGER, 1985 KRAUS et al., 1991, 1993a KRAUS et al., 1987a,b

A=activité anti-appétant, G=inhibiteur de la croissance, M=Mortel, EC50=Concentration Effective 50 : dose qui induit 50% d'effet, ED50=Dose Effective 50, LC50, Concentration Létale 50

## I.2.3 L'azadirachtine : principe actif du neem

### I.2.3.1 Structure et caractérisation de l'azadirachtine

BUTTERWORTH et MORGAN, (1968) ont isolé pour la première fois l'azadirachtine sous sa forme cristalline à partir d'extraits méthanoliques de graines de neem. Bien que sa présence ait aussi été signalée dans un autre arbre, le *Melia Azedarach. L* (MORGAN et THORNTON 1973), qui pousse dans les mêmes régions, cette molécule apparait spécifique au neem. En réalité, depuis la première proposition de structure (BUTTERWORTH et al., 1972), modifiée par KRAUS et al., (1985a,b ; 1986 ; 1987c) et PÖHNL, (1985) plusieurs molécules de structure analogue ont aussi été isolées à partir du neem et peuvent être classées en trois groupes : les azadirachtoles, les azadirachtines et les méliacarpines (SCHEMUTTERER, 1995). Par mesure de simplification, ces dérivés qui présentent le même squelette carboné mais différent par la position ou la nature des substituants, ont été désignés sous le nom générique d'azadirachtine, affecté d'une lettre A, B, C etc. (**Figure I-3**, REMBOLDT et al., 1987a,b ; REMBOLDT, 1989a ; YAMASAKI et KLOCK, 1987). C'est l'azadirachtine A qui est considérée comme le motif structural de référence.



**Figure I- 3 :** Formules de l'azadirachtine A et ses dérivés

### I.2.3.2 Dosage de l'azadirachtine dans le neem

Les méthodes de dosage de l'azadirachtine dans les extraits de neem ont fait l'objet de nombreux travaux (**Tableau I-5**).

**Tableau I-5** : Méthodes de dosage de l'azadirachtine dans les formulations et les extraits de neem

Méthode	Phase mobile	Longueur d'onde du détecteur UV (nm)	Références
Chromatographie Liquide Haute Performance (CLHP)	Ethanol-eau	-	WARTEN et al., 1984
Chromatographie Flash puis HPLC	Acétonitrile-eau (30-70)	254	YAMASAKI et al., 1986
Chromatographie Liquide Haute Performance.	Acétonitrile-eau (60-40)	214	KAUSHIK, 2002
Chromatographie Liquide Haute Performance.	Méthanol-eau (65-35)	214	RENGASAMY et al., 1993
Chromatographie Liquide Haute Performance.	Méthanol-eau (60-40)	215	GOVINDACHARI et al., 1990
Chromatographie Liquide Haute Performance.	Méthanol-eau (70-30)	214	KUMAR et PAMAR, 1996
Chromatographie Liquide Haute Performance.	Acétonitrile-eau (Gradient)	217	JOHNSON et MORGAN et al., 1997
Chromatographie Liquide Haute Performance.	Acétonitrile-eau (Gradient)	210	THEJAVATHI et al., 1995

Outre la caractérisation des différentes structures des dérivés de l'azadirachtine, ces méthodes ont permis d'étudier les variations de sa teneur dans les graines de neem (ERMEL et al., 1984 ; ERMEL et al., 1987 ; KETKAR et KETKAR, 1993 ; RENGASAMY et al., 1993). En particulier, l'étude menée par ERMEL et al., (1984, 1987) révèle que la teneur moyenne en azadirachtine des amandes de graines de neem (**Tableau I-6**) peut varier de 2,05 à 6,10 g.kg<sup>-1</sup> d'amande. Les valeurs extrêmes rencontrées sont de 2,05 g.kg<sup>-1</sup> pour la plus faible au Mali, et de 6,10 g.kg<sup>-1</sup> pour la plus forte, mais la valeur moyenne pour les 256 échantillons provenant de 22 pays est de 3,60 g.kg<sup>-1</sup>. Au Sénégal, elle est de 3,30 g.kg<sup>-1</sup>.

**Tableau I-6 :** Teneur moyenne en azadirachtine des amandes de graines de neem des échantillons de 22 pays (ERMEL et al., 1984 ; 1987)

Pays	Nombre d'échantillons	Teneur en Azadirachtine (g.kg <sup>-1</sup> )
République dominicaine	44	3,43±0,74
Haïti	16	3,05±0,59
Honduras	1	4,2
Equateur	26	3,99±1,19
Guinée Bissau	1	2,4
Mali	2	2,05
Sénégal	22	3,3±0,63
Gambie	6	2,98±0,88
Niger	15	3,4±0,67
Togo	3	5,4
Bénin	57	3,75±0,94
Soudan	9	2,53±0,6
Somalie	19	2,9±0,88
Zanzibar	1	4,8
Madagascar	1	2,2
Iran	4	2,75
Yémen	7	4,44±0,9
Inde	9	5,14±1,8
Sri Lanka	3	3,4±0,34
Myanmar	3	6,1±0,7
Thaïlande	6	5,2±1,1
Australie	1	4,9

Plus récemment, SIDHU et al. (2003) ont étudié la variabilité de la teneur en azadirachtine des graines de neem provenant de 43 zones de 7 états de l'Inde : elle varie de 780 à 3 165 mg.kg<sup>-1</sup> d'amande, sans corrélation apparente avec la surface de l'amande. La forme A de l'azadirachtine est toujours nettement majoritaire par rapport à la forme B (près de 10 à 30 fois plus, à quelques exceptions près : **Tableau I-7**). Par comparaison avec le dosage des triterpénoïdes, nimbine et salannine rapporté par ces mêmes auteurs (SIDHU et al., 2004) dans le cas de graines de neem provenant de six états d'Asie, l'azadirachtine est le limonoïde majoritaire, bien que la teneur en salannine puisse atteindre des valeurs équivalentes dans certains cas (1 000 à 1 800 mg.kg<sup>-1</sup> d'amande).

**Tableau I-7** : Teneur en azadirachtine A et B selon plusieurs zones géographique d'Inde

Provenance	Aire de l'amande	Azadirachtine A (mg.kg <sup>-1</sup> )	Azadirachtine B (mg.kg <sup>-1</sup> )	Azadirachtine (A+B) (mg.kg <sup>-1</sup> )	Ratio (A/B)
Oraia	83,5	556,9	225,7	782,6	2,47
Chaprab	98,1	678,6	111,5	790,2	6,13
Auraiyaa	83,7	804,2	68,1	872,3	33,07
Kanyakumaric	88,9	829,9	379,4	1209,3	2,95
Bijnora	73,4	834,8	177,1	1011,9	4,71
Kannauja	102,1	880,2	312,3	1192,5	3,32
Rampura	72,3	929,7	88,9	1018,7	10,48
Gazipura	98,8	942,6	66,2	1008,9	14,31
Ajmerd	86,3	955,5	316,2	1271,7	3,02
Bhagalpurb	100,3	980,6	101,9	1082,5	9,62
Baraunib	90,9	982,7	147,4	1130,1	7,25
Darbhangab	89,9	1002,5	119,7	1122,1	8,42
Jodhpurd	68,8	1003,1	103,2	1106,3	9,71
Moradabada	101,3	1013,3	214,7	1228,1	6,41
Farrukhabada	112,3	1022,5	94	1116,5	10,7
Mathuraa	90,5	1071,8	58,7	1130,5	31,41
Kheria	91,6	1082,6	173,2	1255,7	5,88
Jaisalmerd	75,2	1092,2	426,2	1518,4	2,56
Hathrasa	82,4	1126,9	134,4	1261,2	8,4
Ranchig	92,5	1159,8	190,1	1349,9	6,09
Muzzafarpurb	90,1	1169,4	141,5	1310,9	8,26
Bulandshahara	97	1205,1	139,4	1344,5	9,79
Haridware	83,3	1231	182,8	1413,8	7,17
Hazipurb	101,1	1254,4	96,6	1351	13,04
Patnab	86,2	1272,6	228,3	1500,9	5,58
Lucknowa	105,2	1334,2	139,4	1473,6	9,66
Badauna	97,8	1388,1	143,9	1532	9,64
Dehradune	89,3	1459,7	326,6	1786,3	4,72
JP Nagara	74,9	1505,2	590,6	2095,9	6,03
Varanasia	104,8	1531,7	69,7	1601,5	24,54
Muzzafarnagara	88,8	1534,5	149,7	1684,2	10,27
Meeruta	101,2	1573,8	105,2	1679	22,63
Agraa	76,2	1576,2	261,9	1838	8,16
Siwanb	81,1	1629	96	1725	17
Kanpura	80,5	1671,4	68,9	1740,4	23,14
Pratapgarha	78,9	1705,9	100,8	1806,7	17,12
Jaipurd	92,6	1706,4	251,5	1957,9	6,78
Samastipurb	84,5	1916,5	95	2011,5	20,19
Fatehpura	97	1941,2	43,1	1984,3	98,15
Rohtakf	86,6	2032,9	243,9	2276,8	8,33
Maua	92,6	2058,2	100,3	2158,5	20,53
Sri Ganganagard	89	2400	172,3	2572,3	13,92
Shahjahanpura	110,9	3030,8	134,1	3165	24,32

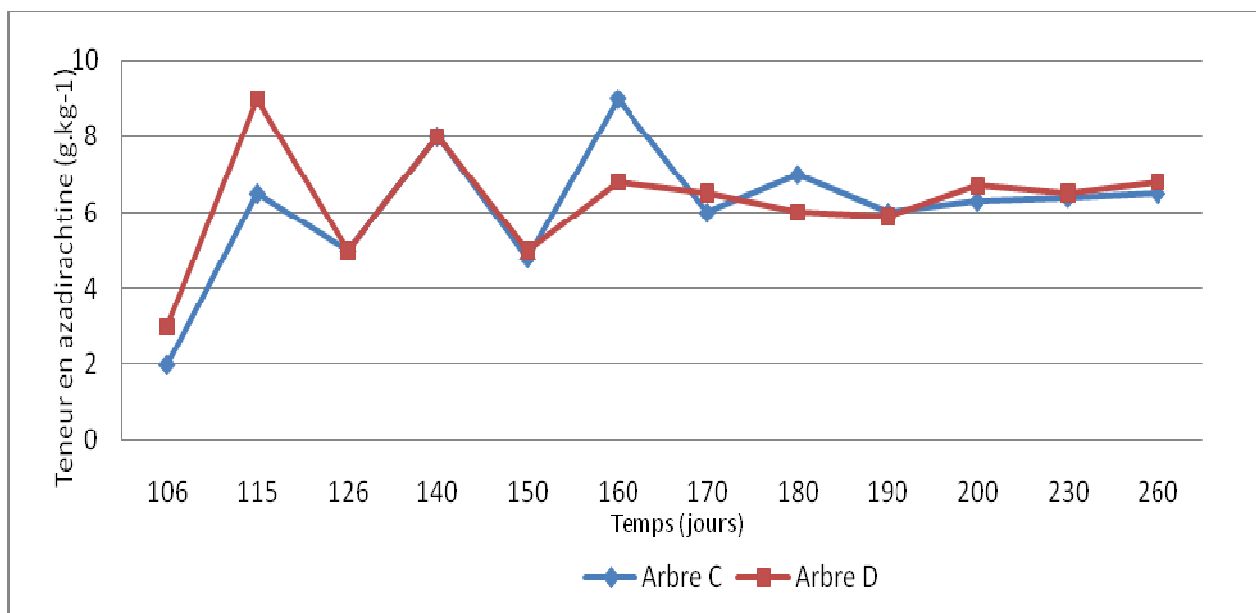
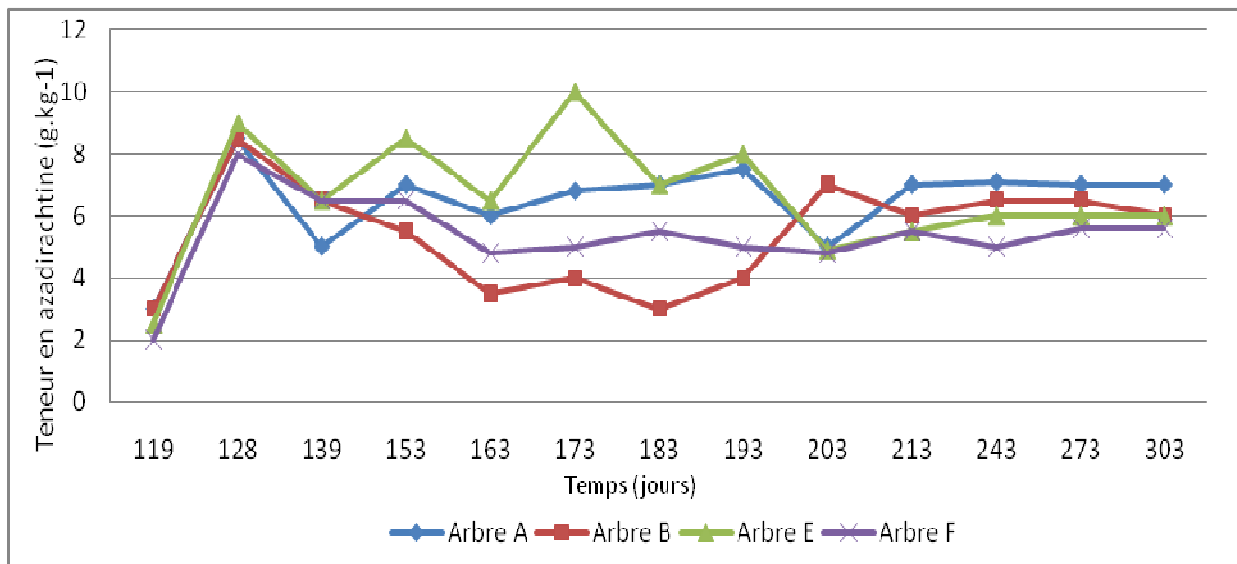
L'évolution de la teneur en azadirachtine a également été étudiée aux différents stades de floraison et fructification de l'arbre (RANGASWAMY et PARMAR, 1994). Non détectable jusqu'à 40 jours après l'anthèse, l'azadirachtine apparaît à l'âge de neuf semaines du fruit vert (YAKKUNDI et al., 1995), et s'accumule pour atteindre son maximum après 19 semaines, lorsque le fruit commence à changer de couleur en virant du vert au jaune. JOHNSON et al., (1996) ont étudié le développement des terpénoïdes majeurs du neem (azadirachtine, nimbine, salanine, déacétylnimbine, déacétylsalanine) de six arbres du village de Dambulla au Centre Nord du Sri Lanka. Les différentes étapes de la floraison et de la fructification de ces six arbres sont résumées dans le **Tableau I-8**.

**Tableau I-8** : Evolution de la fructification de six arbres de neem du village de Dambulla au Centre Nord du Sri Lanka (JOHNSON et al., 1996)

Etape de la fructification	Arbre A	Arbre B	Arbre C	Arbre D	Arbre E	Arbre F
Age de l'arbre (ans)	20	18	15	18	20	22
Hauteur de l'arbre (m)	10	8	7,5	10	11	13
Diamètre de l'ombre (m)	67	39	28	24	33	40
Début de formation des fleurs (jours)	0	0	0	0	0	0
Début de formation du fruit (jours)	68	68	55	55	63	68
Formation complète des fleurs (jours)	79	81	76	76	81	81
Premier fruit vert (jours)	119	119	106	106	119	119
Formation complète des fruits (jours)	147	147	139	139	147	147
Début de la maturité des fruits (jours)	149	157	145	141	161	161
Premier fruit mûr (jours)	156	165	159	149	175	175
Maturité complète des fruits (jours)	193	193	190	180	193	203

Le teneur en azadirachtine, qui varie d'un arbre à l'autre, tend néanmoins à se stabiliser après maturité complète des fruits (**Figure I-4**).





**Figure I- 4 :** Développement de la teneur en azadirachtine au moment de la fructification de la graine en fonction du temps des arbres A à F

### I.2.3.3 Activité insecticide de l'azadirachtine

Depuis la mise en évidence des propriétés de régulation de la croissance d'insectes (*Insect growth Regulating*) en 1972 (SCHMUTTERER, 1995), l'azadirachtine, considéré comme principal composé actif du neem, a fait l'objet de nombreux travaux et publications (LAVIE et al., 1971 ; CONNOLLY, 1983 ; KRAUS, 1983 ; KRAUS et al., 1985, 1987 ; MOGAN et MANDAVA, 1987 ; SIDDIQUI et al., 1988 ; BALANDRIN et al., 1988), y compris dans le

cadre de congrès internationaux organisés sur le neem (SCHMUTTERER et al., 1981 ; SCHMUTTERER et ASCHER, 1984 ; 1987). D'autres propriétés insecticides de l'azadirachtine et d'extraits de neem ont ainsi été mises en évidence : effet anti-nutritif ou répulsif, et de réduction de la fécondité (**Tableau I-9**).

**Tableau I-9 :** Quelques espèces (bactéries, champignons, insectes, protozoaires et nématodes) sensibles à l'action de l'azadirachtine)

Composés et organismes testés	Sources	Activités biologiques	Références
Azadirachtine	Graine		BUTTERWORTH et al., 1968 KRAUS et al., 1985b, 1987c
<i>Acricotopus lucidus</i>	G	100% à 1µg.mL <sup>-1</sup>	STAIBER, 1992
<i>Epilachna varivestis</i>	A	EC50=13ppm	SCHWINGER, 1985 SCHWINGER, et al., 1984 KRAUS et al., 1991, 1993a
	G	LC50=1,66ppm	REMBOLD, 1989a,b
	G	69% à 1,00ppm	SCHWINGER, 1985
	G	60% à 0,01µg.g <sup>-1</sup>	BAUMANN, 1985 KRAUS et al., 1991, 1993a
<i>Helicoverpa zea</i>	G	EC50=0,7ppm	KUBO and KLOCKE, 1982
<i>Heliothis virescens</i>	G	EC50=0,7ppm	KUBO and KLOCKE, 1982
	G	EC50=0,07ppm	YAMASAKI et al., 1987
	L	LC50=0,8ppm	YAMASAKI et al., 1987
<i>Melanoplus sanguinipes</i>	G	ED50=10,8ppm	CHAMPAGNE et al., 1989, 1992
<i>Oncopeltus fasciatus</i>	G	ED50=3,5ppm	ISMAN et al., 1990
	G	ED50=5ppm	CHAMPAGNE et al., 1989, 1992
<i>Pectinophora gossypiella</i>	G	EC50=0,4ppm	KUBO and KLOCKE, 1982 KUBO et al., 1986
<i>Peridroma saucia</i>	A	EC50=8,0g/cm <sup>2</sup>	ISMAN et al., 1990
	G	EC50=0,26ppm	ISMAN et al., 1990
	G	EC50=0,4mol.g <sup>-1</sup>	CHAMPAGNE et al., 1989, 1992
	G	100% à 2µg.g <sup>-1</sup>	KOUL et al., 1990
<i>Popillia japonica</i>	A	EC50=2ppm	SCHWINGER, 1985
<i>Schistocerca gregaria</i>	A	100% à 0,07ppm	BUTTERWORTH et al., 1968
<i>Spodoptera frugiperda</i>	G	EC50=0,4ppm	KUBO and KLOCKE, 1982 KUBO et al., 1986
	G	EC50=0,08ppm	LEE et al., 1991
	L	LC50=1ppm	LEE et al., 1991
<i>Spodoptera littoralis</i>	A	EC50=0,07ppm	KLINGELE, 1985
	A	98,8% à 1ppm	LEY et al., 1993
	G	20-30% à 10ppm	BAUMANN, 1985
	G	100% à 10µg.g <sup>-1</sup>	BAUMANN, 1985
<i>Tenebrio molitor</i>	G	100% à 1µg.g <sup>-1</sup>	PASCUAL et al., 1990
<i>Trypanosoma cruzi</i>	G	ED50=0,25µg.g <sup>-1</sup>	GONZALES et al., 1992
3-Déacétylazadirachtine	Graine		REMBOLD, 1989a,b THIELE, 1991 KRAUS et al., 1991, 1993a
<i>Epilachna varivestis</i>	G	EC50=0,38ppm	REMBOLD, 1989a,b
<i>Heliothis virescens</i>	G	EC50=0,09ppm	YAMASAKI et al., 1987
	L	LC50=0,37ppm	YAMASAKI et al., 1987
3-Tigloylazadirachtol	Graine		KLENK, 1985

---

(Azadirachtine B)			KLENK et al., 1986
			REMBOLD, 1987a,b
			BILTON et al., 1988
<i>Epilachna varivestis</i>	G	70% à 0,01µg.g <sup>-1</sup>	SCHWINGER, 1985
	G	85% à 2ppm	SCHWINGER, 1985
			KRAUS et al., 1991, 1993a
<i>Heliothis virescens</i>	G	ED50=1,3ppm	REMBOLD, 1987b, 1989a,b
	G	ED50=0,17ppm	KUBO et al., 1986
	L	LC50=0,8ppm	KUBO et al., 1986
	G	65% à 5ppm	KLINGELE, 1985
			LEY et al., 1993
1-Detigloylazadirachtin		G	EC50=0,15ppm
(azadirachtine E)	Graine		GARCIA et al., 1984
			REMBOLD, 1989a,b
<i>Epilachna varivestis</i>	G	EC50=0,57ppm	REMBOLD, 1989a,b

---

*A=activité anti-appétant, G=inhibiteur de la croissance, L=activité anti-larvaire, EC50=Concentration Effective 50 : dose qui induit 50% d'effet, ED50=Dose Effective 50, LC50, Concentration Létale 50*

Ainsi, l'azadirachtine provoquerait plus de 90% des effets de la plupart des insecticides conventionnels. Ce principe actif naturel ne tue pas les insectes, du moins pas immédiatement, mais agit comme répulsif, perturbe leur croissance et leur reproduction. Les recherches effectuées au cours des dernières années ont montré qu'il est l'un des plus puissants régulateurs de croissance et de dissuasion de l'alimentation jamais découvert vis-à-vis de plusieurs espèces d'insectes ravageurs, ainsi que de certains nématodes. C'est une substance si puissante que la présence d'une faible trace peut empêcher certains insectes de toucher aux plantes.

D'après SCHMUTTERER, (1995), la structure de l'azadirachtine est similaire à celle de l'hormone des insectes appelée « ecdysone », qui contrôle le processus de métamorphose des insectes qui passent du stade de larve à pupes, et à l'âge adulte. Elle affecte le *corpus cardiacum*, qui contrôle la sécrétion des hormones. Le changement métamorphique requiert une synchronisation aiguë de nombreuses hormones et d'autres changements physiologiques pour aboutir. L'azadirachtine semblerait bloquer l'ecdysone, la sécrétion de ces hormones vitales et la croissance des insectes. Les insectes ne peuvent pas muer, et c'est ce qui freine leur cycle de vie.

Ces remarquables propriétés insecticides de l'azadirachtine, active contre une très large gamme d'insectes à des doses inférieures à 0,1 ppm, la placent comme l'une des plus

prometteuses parmi les substances naturelles actives extraites des familles de plantes actuellement étudiées.

Susceptibles de contrôler efficacement les populations d'insectes nuisibles, ces insecticides naturels, contre lesquels les insectes auront de la difficulté à mobiliser leur système de détoxification, garantie de la durabilité de leur effet, auront l'avantage de ne pas provoquer d'effet d'accumulation de produits neurotoxiques pour l'homme.

Ainsi, les formulations artisanales à base d'extraits de neem sont utilisées depuis fort longtemps (EPPLER, 1993a ; EPPLER, 1993b ; FEUERHAKE et SCHMUTTERER, 1982 ; AHMED ; 1988 ; KAUSHIK et., 2002). Actuellement, plusieurs formulations à base d'azadirachtine (extraite du neem) sont commercialisées dans plusieurs pays sous des noms variés (Econeem plus, neemix, etc. ; **Tableau I-10**).

Cependant, comme dans le cas de nombreuses substances naturelles, le développement de l'utilisation de cet insecticide naturel est dépendant de la disponibilité de sa production.

**Tableau I-10 : Quelques formulations à base d'azadirachtine**

Nom commercial	Teneur en Azadirachtine	Fabriquant	Pays	Références
Nimbecidine®	(0,03%)	T. Stanes and Company Ltd.	Inde	KUMAR et al., 2003
Econeem Plus®	(1%)	Margo Bio-control Pvt. Ltd.	Inde	KUMAR et al., 2003
Soluneem®	(6,5%)	Vittal Mallya Research Foundation	Inde	KUMAR et al., 2003
Limonool®	(0,03%)	Bio Multi-tech (Pvt) Ltd.	Inde	KUMAR et al., 2003
Neemgold®	(0,15%)	SPIC Biotechnology Division	Inde	KUMAR et al., 2003
Econeem Plus®	(1%)	Margo Bio-control Pvt. Ltd.	Inde	KUMAR et al., 2003
Fortune Aza®	(3%)	Fortune Bio tech Lab, Hyderabad	Inde	KUMAR et al., 2003
NeemAzal TM-F	(5%)	EID Parry (India) Ltd.	Inde	KUMAR et al., 2003
Neemix 4.5®	(4,5%)	-	Canada	Agence de Réglementation de la Lutte antiparasitaire
Margocide-OK <sup>Z</sup>	-	Monofix Agroproducts Ltd.	Inde	PARMAR et KETKAR, 1993
Neemark	-	west Coast Herbochem Pvt. Ltd.	Inde	PARMAR et KETKAR, 1993
Neem Oil Emulsion	-	Sio Agro Research Laboratories	Inde	PARMAR et KETKAR, 1993
Neem Plus	-	B.D.Keathen and Co.	Inde	PARMAR et KETKAR, 1993
Neemrich	-	National Chemical Laboratories	Inde	PARMAR et KETKAR, 1993
Neemosan	-	Agro Links	Inde	PARMAR et KETKAR, 1993
Neemta 2100	-	A.J. chemicals	Inde	PARMAR et KETKAR, 1993
Nimlin	-	Sunline Agro Chemicals	Inde	PARMAR et KETKAR, 1993
Neem Azal T/S	(1%)	Trifolio-M	Allemagne	BIOFIL, 2008
Margosan-o	(0,3%)	Grace Sierra Co.	USA	BIOFIL, 2008
Bioneem	(1%)	Ringer Corporation	USA	BIOFIL, 2008
Suneem	(1%)	SENCHEM	Sénégal	-

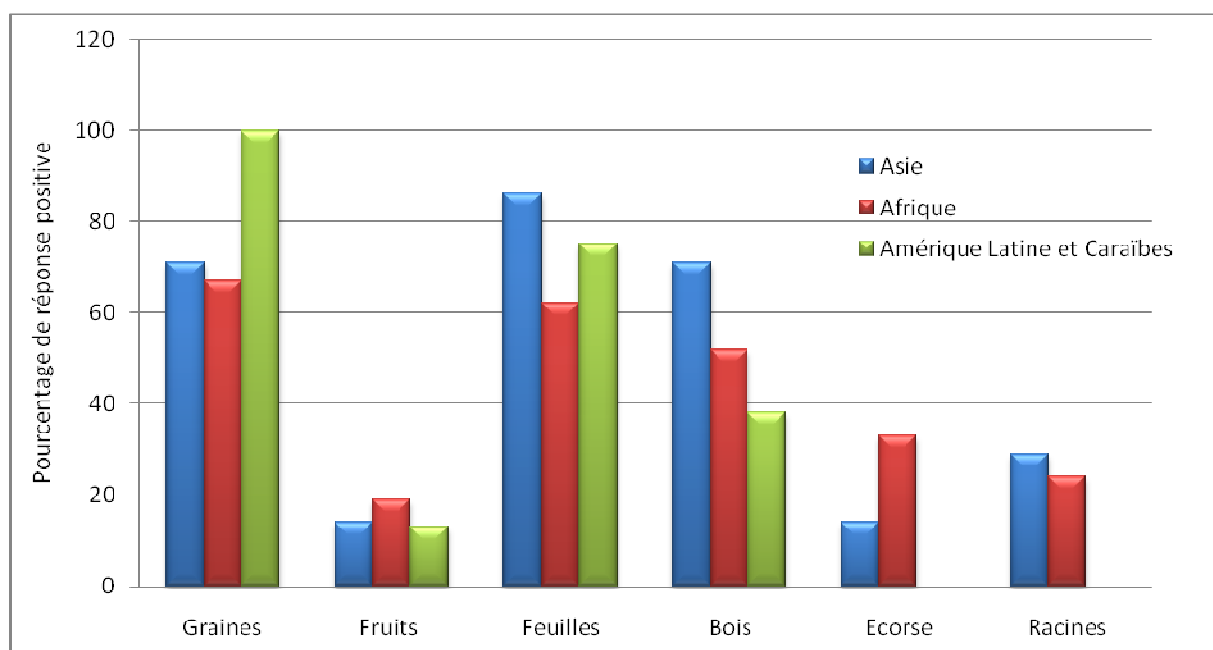
### I.2.3.4 Composition et exploitation de la graine de neem

Au delà de l'exploitation du neem comme arbre d'ornement, de protection contre le soleil (à travers son ombre), mais aussi pour la reforestation et la stabilisation des sols, et pour la production de bois d'œuvre (tronc de l'arbre) et de combustible solide, toutes les parties de l'arbre (racine, écorces, feuilles, fruits et graines) ont fait l'objet d'utilisations traditionnelles dans les régions du monde où il est présent et/ou il a été implanté (**Tableau I-11**).

**Tableau I- 11** : Quelques utilisations potentielles des différentes parties de l'arbre de neem

<b>Partie ou produit de l'arbre</b>	<b>Usages potentiels</b>
Fruit	Production d'huile, nourriture (pulpe) pour l'homme et surtout pour certains oiseaux, médecine etc.
Graine	Production d'huile, matière première pour la production de pesticides naturels commerciaux, protection des plantes, protection des stocks de graines, médecine, etc.
Huile	Production de savons, matière première pour la production de pesticides naturels, cosmétique, protection des plantes et des stocks, médecine, soins animaliers, huiles de graissages pour moteurs, etc.
Tourteau	Phytopharmaceutique, matières premières pour la production de pesticides naturels, additifs pour le sol, engrais, alimentation et hygiène animale, etc.
Feuilles	Médecine, cosmétique, ombre, protections des plantes et stocks, soins animaliers, etc.
Bois	Bois de chauffage, production de charbon, matériau de construction, meuble, etc.
Ecorces	Hygiène dentaire, médecine, cosmétique, etc.
Racines	Médecine, etc.

Une enquête réalisée sur l'utilisation de différentes parties de l'arbre de neem (racines, écorces, bois, feuilles, fruits et graines) a permis de montrer que les graines (pour leurs propriétés biocides) et les feuilles (pour leur vertu thérapeutiques) sont les plus utilisées et dans une moindre mesure le bois (**Figure I-5**). Cette figure exprime le pourcentage de réponse positive sur l'utilisation individuelle ou collective de ces différentes parties (FORSTER et MOSER, 2000). Par exemple, 100% des personnes qui ont au moins une fois utilisé une partie du neem en Amérique Latine et aux caraïbes, ont utilisé les graines de neem contre 0% pour l'écorce et les racines. En Afrique, c'est 87% des personnes qui se servent du neem, utilisent les feuilles contre 71% pour les graines.



**Figure I- 5 :** Pourcentage de réponse positive sur l'utilisation de la graine, du fruit, des feuilles, du bois, de l'écorce et des racines de neem selon différentes zones géographiques

Les feuilles sont utilisées en Asie pour les vertus thérapeutiques des principes actifs mais ce sont surtout les graines qui sont exploitées pour produire, outre l'extrait pesticide, des huiles et des tourteaux.

En effet, les analyses de la teneur en huile de la graine et de l'amande de neem relevées dans la littérature (**Tableau I-12**) montrent que les lipides constituent la fraction majoritaire (30 à 50% de la masse de matière sèche des amandes).



**Tableau I-12** : Teneur en huile de la graine, de l'amande et du fruit selon différentes origines

Teneur en huile (%)	Matières	Lieu de croissance	Références
20 à 32,62	Graine	Inde	KAURA et al., 1998
32,9 à 51,6	Amande	Inde	SIDHU et al., 2003
30 à 50	Amande	Inde	KAUSHIK et al., 2002
30 à 50	Amande	Inde	KAUSHIK et VIR, 2000
32,9 à 45,5	Amande	Inde	SIDHU et al., 2004
18,7 à 24,5	Fruit	Mexique	MUNOZ-VALENZUELA et al., 2007
30	Graine	Cote d'Ivoire	GOSSE et al., 2005
43	Amande	Brésil	MOMCHILOVA et al., 2007

L'huile obtenue par extraction des graines, de couleur jaune pâle à noirâtre, possède une odeur alliacée et une saveur très amère (NDIAYE, 2002). Ses caractéristiques sont les suivantes (DJENONTIN, 2006 ; NDIAYE, 2002) :

Poids spécifique à 25°C : 0,914-0,923

- Indice de saponification : 185 à 197
- Indice d'iode : 69 à 73 (méthode de Wijs)
- Indice de réfraction : 1,466
- Point de fusion : 25°C
- Point de solidification : 9°C

Sa composition en acides gras, caractérisée par les quatre majoritaires : oléique, palmitique, stéarique et linoléique, la distingue des principales huiles exotiques (Jatropha, Chanvre, etc.) et alimentaires (Tournesol, Arachide, etc.) produites industriellement (**Tableau I-13**).

**Tableau I-13** : Répartition des acides gras majoritaires de l'huile de neem et de quelques autres huiles végétales (%)

Graines	Palmitique	Stéarique	Oléique	Linoléique	Références
Neem	17,87 – 22,67	9,09 - 18,79	39,92 - 49,12	17,28 - 24,34	KAUSHIK et al., 2002
Neem	17,3 - 34,3	6,6 - 24	25,4 - 54,2	6,2 - 16,7	KAUSHIK et VIR, 2000
Neem	-	-	45,50	-	MUNOZ-VALENZUELA et al., 2007
Neem	19,4	16,4	43,1	17,6	GOSSE et al., 2005
Neem	17,8	17,4	43,5	18,7	DJENONTIN, 2006
Jatropha	13 -15	6,5 - 7,8	32 - 45	15 - 32	KPOVIESSI et al., 2004
Chanvre	7,9	2,7	20,3	51,3	STAMBOULI et al., 2006
Canarium	3,8	3,2	89,4	0,7	KPOVIESSI et al., 2004
Soja	8,0 - 12,0	2 - 4,5	20 - 25	51 -58	PERRIN, 1999
Tournesol	6,1	3,5	29,4	56,9	EVON, 2008
Arachide	0 - 13	3,0 - 4	48-66	14-28	PERRIN, 1999
Olive	8,5-14	3,0 - 5	61-80	3,0 -15	PERRIN, 1999
Palme	41-46	4,0 - 7	36-42	8,0 - 12	PERRIN, 1999

La proportion de matières insaponifiables (colorants, stérols, tocophérols, cires, vitamines liposolubles, hydrocarbures, etc.) contenue dans un corps gras dépend bien évidemment de son origine biologique, des traitements qu'il a pu subir (raffinage), ainsi que de la nature du solvant d'extraction. Les phytostérols et les tocophérols constituent la partie la plus importante de cette fraction. Leur composition dépend du type d'huile mais le  $\beta$ -sitostérol, le campestérol et le stigmastérol sont, dans l'ordre, les plus importants en termes de quantité.

La composition en phytostérols de l'huile de neem, qui peuvent représenter jusqu'à 2% (MOMCHILOVA et al., 2007), n'est pas bien rapportée dans la littérature. Cependant nous pouvons souligner les travaux effectués par GOSSE et al., (2005) en Cote d'Ivoire, DJENONTIN, (2006) au Bénin et MOMCHILOVA et al., (2007) au Brésil ( **Tableau I-14**).

**Tableau I-14** : Composition des phytostérols de l'huile de neem

Teneur (%)	GOSSE et al., 2005	DJENONTIN, 2006	MOMCHILOVA et al., 2007
$\Delta^5$ -Campestérol	0,3	5,5	8,3
$\Delta^7$ -Stigmastérol	19,2	11,1	16,8
$\beta$ -Sitostérol	62,9	77,7	70,1
$\Delta^7$ -Avenastérol	15,6	4,0	-
Cholestérol	0,8	0,9	-
Fucostérol	-	-	4,1
4-méthylcholestérol	1,2	-	-
Non identifié	-	0,9	0,7

Impropre à la consommation humaine, du fait des nombreux produits actifs qu'elle contient et de son amertume, l'huile de neem est traditionnellement utilisée pour produire du savon. Elle est aussi utilisée pour des applications cosmétiques (shampoings anti-pelliculaires ou contre les poux, pâtes à dentifrices, huiles corporelles et de protection solaire, savons dermatologiques, lotions antiseptiques et pour lutter contre l'acné, l'eczéma, le psoriasis, ...) Enfin elle entre dans la formulation des pesticides à base d'azadirachtine extrait du neem (Neemix, Econeem Plus, etc.).

L'extraction de l'huile des graines de neem laisse un tourteau qui est caractérisé par une forte teneur en azote et donc en protéines, une proportion moyenne de matière minérale et une faible proportion en cellulose (**Tableau I-15**). Ceci expliquerait son utilisation traditionnelle comme aliment de bétail. Riche en azote, phosphore et potassium, elle est également utilisée comme matière fertilisante dans les champs mais aussi comme insecticide du fait de sa teneur en matières bioactives (azadirachtine, nimbine, salannine, etc.). Le **Tableau I-16** décrit la composition en minéraux de différents types de tourteaux gras.

**Tableau I-15** : Caractéristique de tourteaux de neem (NJENONTIN, 2006)

Matière (%)	Tourteaux gras
Matière sèche	95,5
Cendre	5,3
Huile résiduelle	6,4
Protéines	31,5
Sucre	9,6
Cellulose	4,1
Lignine	1,9

**Tableau I-16** : Eléments minéraux dans les tourteaux d'extraction

Eléments minéraux	Teneur (MS)	Tourteaux <sup>1</sup>	Tourteaux <sup>2</sup>
Azote	%	4,7	3,3
Phosphore	%	0,5	0,3
Calcium	%	0,3	0,96
Magnésium	%	0,3	0,44
Potassium	%	0,9	0,98
Sodium	ppm	0,1	0,4
Fer	ppm	75	2705
Manganèse	ppm	25	70
Cuivre	ppm	33	19
Zinc	ppm	56	19

<sup>1</sup> : SCHMUTTERER, 1995 ; <sup>2</sup> : DJENONTIN, 2006

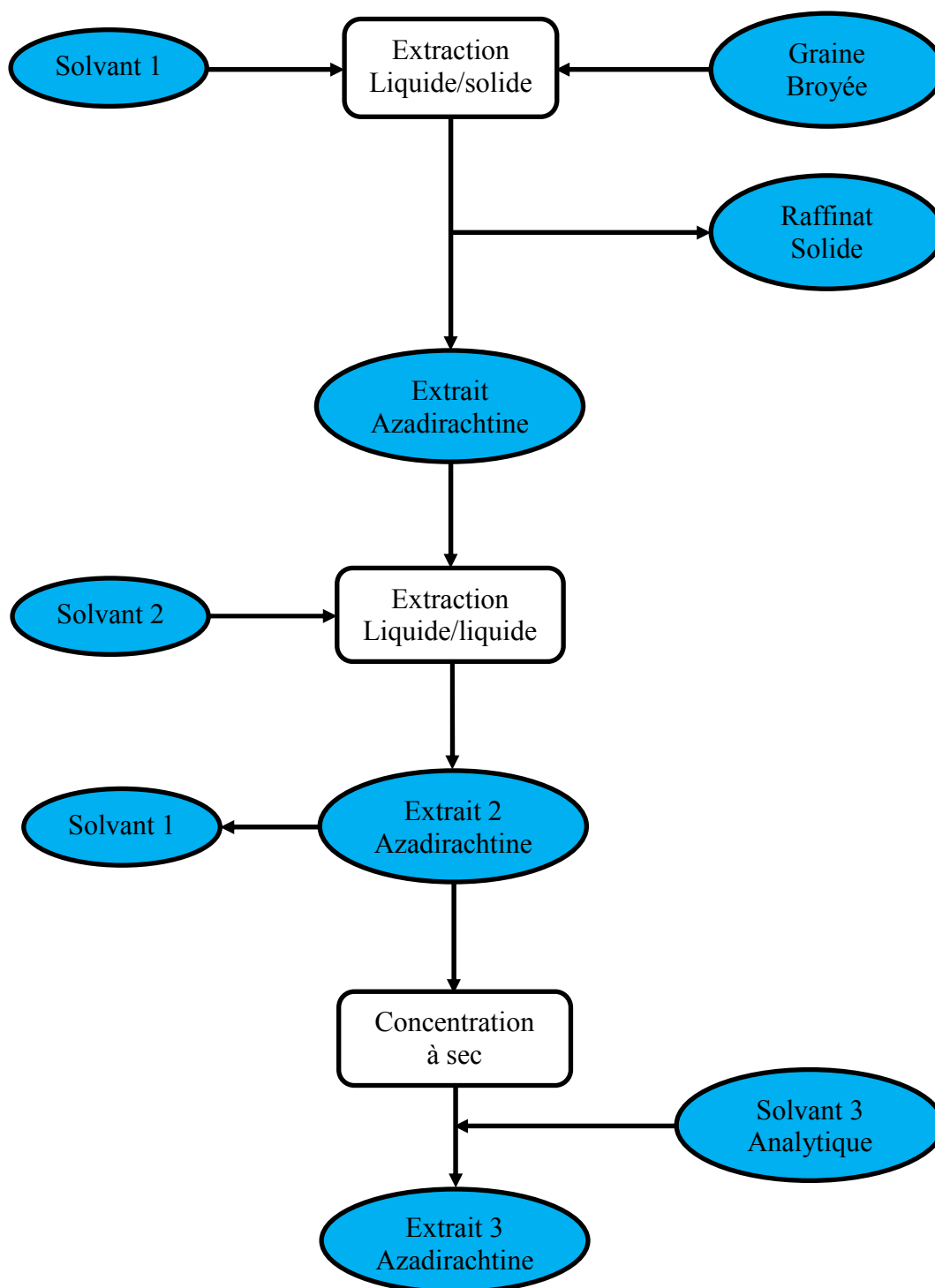
### I. 3. FRACTIONNEMENT DE LA GRAINE DE NEEM

Au-delà des procédés traditionnels et artisanaux de pressage de la graine de neem pour obtenir une huile et un tourteau, les données sur le fractionnement industriel ne sont pas ou peu accessibles. De multiples extraits de neem sont cependant disponibles sur le marché, recouvrant une grande variété de produits et dont la teneur en azadirachtine est aussi très variable (**Tableau I-10**).

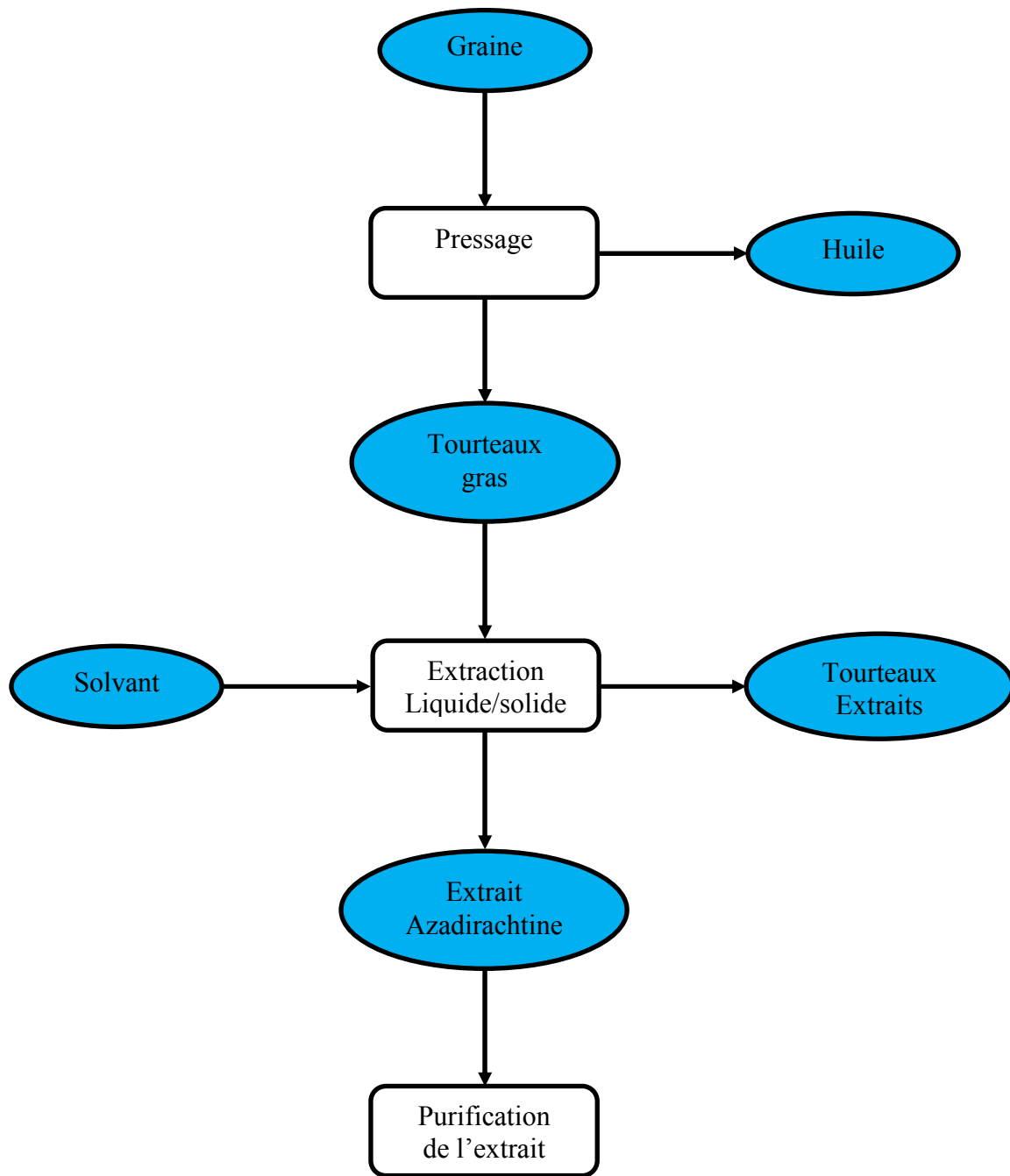
#### I.3.1 Les procédés de fractionnement de la graine de neem

Le fractionnement de la graine de neem conduit à la production de l'azadirachtine, principe actif des formulations à base d'azadirachtine, et à l'huile qui constitue la seconde valeur ajoutée des graines. Les conditions d'extraction de l'azadirachtine de graines de neem ont fait

l'objet de plusieurs travaux, tant pour sa caractérisation (JARVIS, 1999 ; YAMASAKI et al., 1986 ; JOHNSON et al., 1996 ; JOHNSON et MORGAN, 1997 ; KAUSHIK, 2002, SILVA et al., 2007) que pour sa production. Les procédés d'extraction sont rapportés dans la **Figure I-6**, pour les protocoles analytiques, et la **Figure I-7** pour les procédés de production.



**Figure I- 6** : Schéma du procédé d'extraction de l'azadirachtine de neem pour sa caractérisation analytique



**Figure I- 7** : Schéma du procédé de production de l'azadirachtine et de l'huile de graines de neem

### **I.3.2 Les procédés bi-vis : nouveaux modèles de fractionnement des graines oléagineuses**

Initialement dédiée à la réalisation d'un seul type d'opération, centrée sur l'extrusion de matières plastiques, puis la cuisson extrusion de farine, l'extrudeur bi-vis est entré dans le

domaine du fractionnement avec le développement de cette technologie dans l'industrie papetière. Aujourd'hui, cette technologie qui permet de réaliser plusieurs opérations élémentaires en continu dans un seul appareillage a vu exploser ses domaines d'applications. Ainsi, l'extrusion trouve désormais des applications dans des domaines aussi riches que variés : fabrication de pâte à papier, fractionnement des agroressources, fabrication des agromatériaux, traitement des déchets etc. Plusieurs travaux ont été réalisés au Laboratoire de Chimie Agro-Industrielle de Toulouse notamment sur la modélisation du fractionnement des agroressources, sur l'extraction de constituants des agro ressources ainsi que la production d'agromatériaux. Nous pouvons souligner les travaux qui ont porté sur l'extraction des hémicelluloses (N'DIAYE, 1996 ; N'DIAYE et al., 1996 ; NDIAYE et RIGAL, 2000, PRAT, 1998 ; PRAT et al., 1999 ; PRAT et al., 2002 ; ), de xylannes et d'arabinoxylannes (RIGAL et al., 1998), de pectines (MARECHAL, 2001 ; MARECHAL et RIGAL, 1999 ; JORDA, 2003), de protéines (SILVESTRE et al, 1999), la fabrication d'agro matériaux (VANDENBOSSCHE-MARECHAL, V., 1998 ; RIGAL et al., 1999 ; ROUILLY, 2002 ; ROUILLY et al., 2000 ; ROUILLY et al., 2004 ; PEYRAT, 2000 ; GENEAU, 2006 ; GENEAU et al., 2004 ; HUMBERT, 2008 ; NENONENE, 2009), l'expression et l'extraction d'huile par solvant (AMALIA KARTIKA, 2005 ; AMALIA KARTIKA et al., 2004a ; 2004b, 2005 ; 2006 ; LACAZE-DUFAURE, 1998 ; LACAZE-DUFAURE et al., 1996) et l'extraction aqueuse de l'huile de tournesol (EVON, 2008 ; EVON et al., 2007 ; 2009).

### **I.3.2.1 Les éléments constitutifs de l'extrudeur**

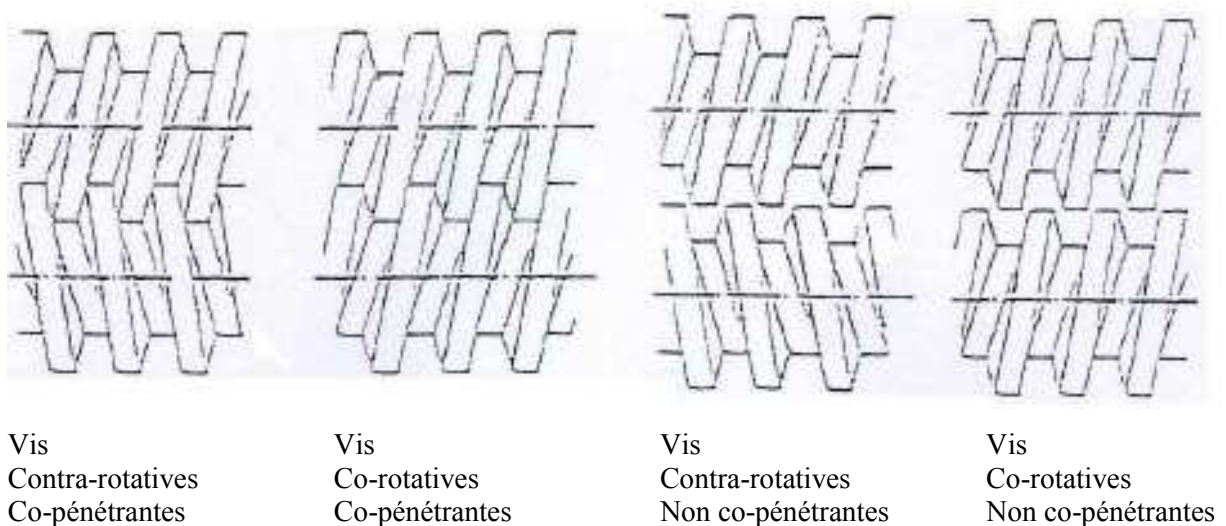
Un extrudeur bi-vis est constitué, entre autres d'un fourreau thermorégulé terminé par une filière de forme variable, dans lequel tournent deux vis. L'extrudeur bi-vis peut être :

- **A vis non pénétrante** : les extrudeurs bis vis non pénétrantes sont assez rares et ont le même comportement que deux extrudeurs mono-vis en parallèle ou encore extrudeurs double vis ;
- **A vis co-pénétrante** : les extrudeurs bi vis co-pénétrantes sont équipés de deux vis modulaires, composés d'éléments de longueur et de pas déterminés. La vis peut être à simple ou à double filet. La profondeur du chenal est la même pour tous les éléments. Cependant, la forme du chenal est variable, arrondie, conjuguée ou trapézoïdale. Il existe également d'autres types d'éléments de vis comme les éléments de malaxages et les éléments de vis à pas inverse, appelés contre-filets.

Les deux vis peuvent tourner dans le même sens (co-rotatives) ou en sens inverse (contra-rotatives).

- **A vis contra-rotatives :** les deux vis tournent en sens inverse, l'une dans le sens des aiguilles d'une montre (*clockwise*) et l'autre dans le sens inverse des aiguilles d'une montre (*counterclockwise*). Les extrudeurs bi-vis contra-rotatives ont un degré de cloisonnement du chenal maximal. Cela se traduit par une action très efficace sur le transport de la matière au détriment de la fonction de mélange. Ils sont particulièrement utilisés pour les matériaux peu visqueux tels que les gommes, les gelées, etc. (DZIEZAK, 1989).
- **A vis co-rotative :** les deux vis tournent dans le même sens, dans le sens des aiguilles d'une montre (*clockwise*) ou dans l'autre (*counterclockwise*). Les extrudeurs bi-vis co-rotatives à vis conjuguées ont une large ouverture longitudinale du chenal. La matière progresse axialement en passant d'une vis à une autre suivant une trajectoire en « huit ouvert ». L'action de mélange est plus importante.

Ainsi, suivant la disposition des vis l'une par rapport à l'autre et leur sens de rotation, nous pouvons classer les extrudeurs bi vis en quatre (4) catégories (**Figure 8**).



**Figure I- 8 :** Disposition des vis l'une par rapport à l'autre et leur sens de rotation



### **I.3.2.1.1 Eléments et profil de vis**

L'extrudeur bi vis est constitué de plusieurs éléments de vis (**Figure I-9**). L'agencement de ces différentes vis constitue le profil de vis et l'arrangement des modules constitue la configuration de l'extrudeur. Le profil de vis détermine la nature des contraintes appliquées au matériau.

On distingue deux types d'éléments de vis : les éléments de convoyage et les éléments restrictifs.

- **Les éléments de convoyage :**

Les vis de convoyage sont des éléments à pas direct, simple ou double filet. Ils assurent principalement une action de transport et dans une moindre mesure une action de mélange et de cisaillement. Généralement, ces éléments sont partiellement remplis. Ils peuvent être conjugués ou trapézoïdals.

Les éléments conjugués à simple ou double filet sont notés respectivement C1F et C2F alors que les éléments trapézoïdals simple et double filet sont notés T1F et T2F.

Les vis de type simple filet ont une meilleure poussée, un effet de cisaillement plus important. Le temps de séjour de la matière y est également plus important que celles de type double filet.

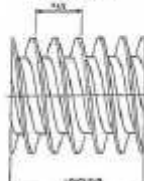
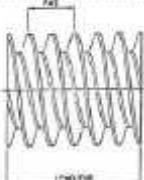
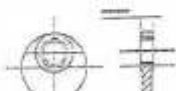

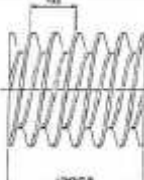

- **Les éléments restrictifs :**

On distingue deux types d'éléments restrictifs selon la nature des contraintes appliquées à la matière.

- ❖ **Les éléments de malaxage :** ils se composent des disques malaxeurs de forme monolobe notés MAL1 ou DM, et de forme bilobe, notés MAL2 ou BB. Ils ont un effet de mélange, de compression mais surtout de cisaillement important. Cependant leur action de convoyage dépend de l'angle de montage entre deux éléments consécutifs. Ils ont un pas direct ( $<90^\circ\text{C}$ ), nul ( $90^\circ\text{C}$ ) ou indirect ( $>90^\circ\text{C}$ ).

- ❖ **Les éléments à pas inverse ou contre filet :** ils peuvent être trapézoïdals ou conjugués, simple ou double filet et sont notés comme suit : trapézoïdal simple filet CF1T, double filet CF2T et conjugué simple filet CF1C et double filet CF2C. Ils exercent un très fort taux de cisaillement sur la matière. Le convoyage en sens inverse engendre l'accumulation de la matière qui se traduit par une forte compression axiale et l'augmentation du temps de séjour.

Ainsi, l'arrangement des différents éléments de vis est dicté d'une part par la nature de la matière à traiter et d'autre part par la qualité du produit recherché. Cette technologie permet de combiner plusieurs opérations unitaires à la fois. Ainsi on peut jouer sur l'effet de compression, de détente, de mélange, de transport, de chauffage, de refroidissement, de malaxage, de cisaillement, de filtration etc.

Dénomination	Schéma	Mélange	Cisaillement	Convoiyage	Remarques
T2F (vis trapézoïdale et à double filet)		+	+	+++	<ul style="list-style-type: none"> <li>■ Vis non autonettoyante.</li> <li>■ Augmente l'avalement dans la zone d'alimentation en solide.</li> </ul>
C2F (vis conjuguée et à double filet)		+	+	+++	<ul style="list-style-type: none"> <li>■ Vis autonettoyante.</li> </ul>
MAL 0 (ou DM) (disque malaxeur monolobe)		++	+++	-	<ul style="list-style-type: none"> <li>■ Compression radiale.</li> <li>■ Fort cisaillement.</li> <li>■ Augmente le temps de séjour.</li> </ul>
MAL 2 (ou BB) (disque malaxeur bilobe)		++++	++	Neutre (si montage à 90°)	<ul style="list-style-type: none"> <li>■ Fort mélange.</li> <li>■ Convoiyage ou compression axiale en fonction de l'angle de montage.</li> <li>■ Augmente le temps de séjour.</li> </ul>
CF2C (contre-filet conjugué et à double filet)		+++	++++	---	<ul style="list-style-type: none"> <li>■ Forte contre-pression.</li> <li>■ Augmente le temps de séjour.</li> <li>■ Forme un bouchon de matière.</li> </ul>
CF1C (contre-filet conjugué et à simple filet)		+++	+++++	---	<ul style="list-style-type: none"> <li>■ Très forte contre-pression.</li> <li>■ Augmente le temps de séjour.</li> <li>■ Forme un bouchon de matière.</li> </ul>

**Figure I- 9 :** Les vis les plus fréquemment utilisées dans les extrudeurs bi vis et leurs effets mécaniques associés

### **I.3.2.1.2 Mise en œuvre de la technologie bi-vis pour l'expression et l'extraction d'huiles végétales**

La mise en œuvre de la technologie bi-vis pour l'expression des huiles végétales a été largement étudiée (**Tableau I-17**). Bien que des rendements élevés en huile exprimée (jusqu'à 85%) aient été atteints, l'huile résiduelle dans le tourteau constitue une perte. L'introduction de solvants organiques (ethylhexanol, esters méthyliques etc.) permet d'ajouter une opération supplémentaire d'extraction à l'opération de pressage et d'augmenter aussi le rendement en huile (**Tableau I-18**). L'extraction de l'huile par l'eau a aussi été étudiée (**Tableau I-19**), l'huile est alors extraite sous la forme d'une émulsion dans l'eau. La démixtion de cette émulsion par des solvants comme l'éthanol absolu ou l'éther permet alors de récupérer l'huile extraite.

**Tableau I-17 : Mise en œuvre de l'extrudeur bi-vis pour l'expression des huiles végétales**

Nature des graines oléagineuses traitées	Type d'extrudeur bi-vis et configuration	Meilleurs résultats	Références
Graines entières de tournesol et graines décortiquées	-Presse bi-vis contra-rotative de type SUCHIRO IRON WORKS -Presse mono-vis	-75% de rendement en huile exprimée avec la bi-vis pour les graines entières -94% de rendement en huile exprimée avec la bi-vis pour les graines décortiquées -20% de rendement en huile exprimée avec la mono-vis	ISOBE et al., 1992
Graines entières de tournesol et de colza	Extrudeur bi-vis co-rotatives et co-pénétrantes de type CLEXTRAL BC 45 équipé d'une filière constituée d'une plaque avant avec insert et entrefer	-85% de rendement en huile exprimée pour les graines de colza -86% de rendement en huile exprimée pour les graines de tournesol	GUYOMARD, 1994
Graines de colza séchées et non séchées	Extrudeur bi-vis co-rotatives et co-pénétrantes de type CLEXTRAL BC 45 constitué de deux parties : une partie bi-vis équipée de deux vis co-rotatives et co-pénétrantes et une partie double mono-vis constituée de deux mono vis co-rotatives. L'extrudeur est équipé d'une filière constituée d'une plaque avant avec insert et entrefer	-75% de rendement en huile exprimée pour les graines non séchés -85% de rendement en huile exprimée pour les graines séchés	BOUVIER et GUYOMARD, 1997
Graines de tournesol oléique concassées	Extrudeur bi-vis co-rotative et co-pénétrante de type CLEXTRAL BC 21 composé d'une zone d'alimentation, d'une zone de trituration, d'une zone de filtration et d'une zone de pressage qui contient le contre-filet	-70% de rendement en huile exprimée	LACAZE-DUFAURE, 1998 ; LACAZE-DUFAURE et al., 1999a
Graines de tournesol classique et oléique	Extrudeur bi-vis co-rotatives et co-pénétrantes de type CLEXTRAL BC 45 composé d'une zone d'alimentation, d'une zone de trituration, d'une zone de filtration et d'une zone de pressage qui contient le ou les contre-filets	-70% de rendement en huile exprimée pour le tournesol oléique -85% de rendement en huile exprimée pour le tournesol classique	AMALIA KARTIKA, 2005 ; AMALIA KARTIKA et al., 2004a, 2005, 2006

**Tableau I-18 :** Mise en œuvre de l'extrudeur bi-vis pour l'extraction (liquide/solide) par solvant des huiles végétales

Nature des graines oléagineuses traitées	Type d'extrudeur bi-vis et configuration	Meilleurs résultats	Références
Graines de tournesol oléique concassées	Extrudeur bi-vis co-rotative et co-pénétrante de type CLEXTRAL BC 21 (même profil que précédemment mais avec injection de 2-ethylhexanol).	-90 % de rendement en huile extraite	LACAZE-DUFAURE, 1998 ; LACAZE-DUFAURE et al., 1999b
Graines de tournesol de variété oléique et de variété classique	Extrudeur bi-vis co-rotatives et co-pénétrantes de type CLEXTRAL BC 45 composé d'une zone d'alimentation, d'une zone d'extraction, d'une zone de filtration et d'une zone de pressage qui contient le ou les contre-filets Injection d'esters méthyliques de tournesol au début du troisième module	-85% de rendement en huile extraite pour le tournesol oléique -90% de rendement en huile extraite pour le tournesol classique	AMALIA KARTIKA, 2005
Graine de tournesol classique	Extrudeur bi-vis co-rotatives et co-pénétrantes de type CLEXTRAL BC 45 composé d'une zone d'expression et d'une zone d'extraction au solvant. Injection d'esters méthyliques de tournesol au début du cinquième module	-70% de rendement en huile exprimée -90% de rendement global (huile exprimée et huile extraite)	AMALIA KARTIKA, 2005 ; AMALIA KARTIKA et al., 2004b

**Tableau I-19 :** Mise en œuvre de l'extrudeur bi-vis pour l'extraction aqueuse de l'huile de tournesol

Nature de la graine oléagineuse traitée	Type d'extrudeur bi-vis et configuration	Meilleurs résultats	Références
Graines entières de tournesol classique	Expression des graines de tournesol suivie d'une extraction aqueuse des tourteaux obtenus Extrudeur bi-vis co-rotatives et co-pénétrantes de type CLEXTRAL BC 45 pour l'expression des graines de tournesol	-80% de rendement d'expression -86% de rendement global (huile d'expression et huile d'extraction)	EVON, 2008 ; EVON et al., 2009
Graines entières de tournesol classique	Expression des graines de tournesol suivie d'une extraction aqueuse dans le même extrudeur Extrudeur bi-vis co-rotatives et co-pénétrantes de type CLEXTRAL BC 45	92% de rendement global (huile exprimée et huile extraite)	EVON, 2008 ; EVON et al., 2007
Graines entières de tournesol classique (avec injection de paille)	Extraction aqueuse directe des graines de tournesol Extrudeur bi-vis co-rotatives et co-pénétrantes de type CLEXTRAL BC 45	-58% de rendement d'extraction en huile -63% de rendement d'extraction en huile avec une vis de convoyage rainurée dans le profil	EVON, 2008
Plante entière de tournesol	Extraction aqueuse directe de la plante entière de tournesol Extrudeur bi-vis co-rotatives et co-pénétrantes de type CLEXTRAL BC 45	-33% de rendement d'extraction en lipides dans la phase hydrophobe supérieure -11% de rendement d'extraction en lipides dans la phase hydrophobe inférieure	EVON, 2008

## I.4. CONCLUSION

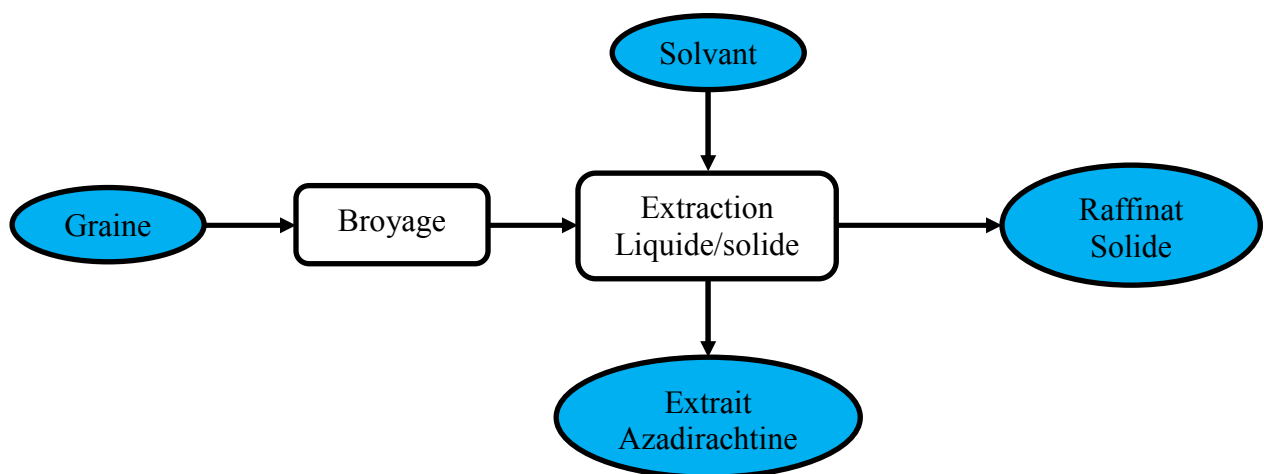
Comme pour de nombreuses substances naturelles actives, l'azadirachtine, de par ses propriétés remarquables insecticides, justifie à elle seule le développement d'une activité d'extraction du neem en vue de sa production industrielle. Au Sénégal, depuis 1995, la société SENCHIM a développé un programme de recherche avec comme objectif principal la production d'azadirachtine et la formulation de pesticides naturels à base d'azadirachtine.

Cependant, outre les critères purement économiques (coût de production, positionnement sur le marché, etc.), une telle activité doit aussi aujourd'hui satisfaire aux critères de développement durable. Mais, à notre connaissance, aucune Analyse de Cycle de Vie (ACV) de l'azadirachtine de neem n'a été réalisée à ce jour, probablement du fait de la difficulté d'accès à l'ensemble des données permettant de l'établir, en particulier au niveau du procédé de production, et au Sénégal, de la ressource elle-même.

Les objectifs de ce travail sont précisément de contribuer à acquérir des connaissances sur la composition de la graine de neem de différentes origines régionales sénégalaises et sur les conditions d'extraction de l'azadirachtine et de l'huile permettant une valorisation complète de la graine.

Deux schémas de fractionnement de la graine seront envisagés dans ce sens :

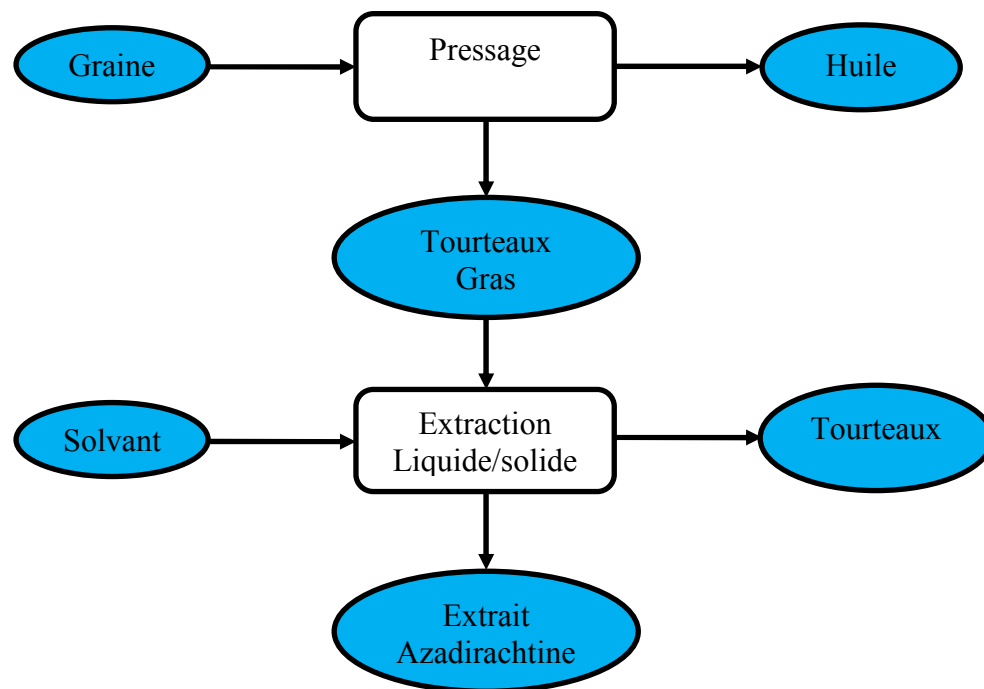
- Le premier vise à l'extraction sélective de l'azadirachtine par solvant en première étape du procédé de fractionnement : (**Figure I-10**)



**Figure I- 10** : Schéma du procédé d'extraction sélective de l'azadirachtine par solvant

La question posée par une telle voie est celle de la nature du solvant : existe-t-il un solvant susceptible d'extraire sélectivement l'azadirachtine sans extraire simultanément les lipides de la graine. Les solvants proposés pour les protocoles analytiques (méthanol, éthanol, eau, etc.) (JARVIS, 1999 ; YAMASAKI et al., 1986 ; JOHNSON et al., 1996, SILVA et al., 2007) ou dans les procédés industriels de trituration des graines oléagineuses (hexane, cyclohexane) ne sont pas sélectifs. L'extrait obtenu nécessite une purification puisque l'huile coextraite doit être séparée de l'azadirachtine. La voie classiquement retenue pour cette purification est la contre extraction liquide/liquide à l'hexane.

- Le second schéma de fractionnement vise à l'expression de l'huile par pressage de la graine conduisant à un raffinat solide appelé tourteau (**Figure I-11**). L'azadirachtine contenu dans ce tourteau est ensuite extrait par un solvant approprié.



**Figure I- 11** : Schéma du procédé de fractionnement de la graine de neem par expression de l'huile



Un tel procédé, mis en œuvre traditionnellement (PURI, 1999 ; NATIONAL RESEARCH COUNCIL, 1992), a l'avantage de produire en amont de l'huile qui constitue la seconde valeur ajoutée de la graine et qui est principalement utilisée dans la formulation de pesticides et surtout ceux à base d'azadirachtine. Cependant, les extraits obtenus nécessitent toujours une purification du fait de l'huile résiduelle dans le tourteau gras.

# CHAPITRE II

## **CARACTERISATION CHIMIQUE DE LA GRAINE DE NEEM SENEGALAIS ET CHOIX D'UN SCHEMA DE FRACTIONNEMENT**



## **CHAPITRE II : CARACTERISATION CHIMIQUE DE LA GRAINE DE NEEM SENEGALAIS ET CHOIX D'UN SCHEMA DE FRACTIONNEMENT**

Notre objectif dans ce chapitre est de caractériser les principaux constituants de la graine de neem et d'étudier la variabilité de la composition en fonction de l'origine de l'arbre, présent sur tout le territoire sénégalais. Cette étude porte d'abord sur l'état physique de la graine, la distribution de ses principaux composants (matière sèche, matière minérale, matière azotée, protéine, huile, azadirachtine, fibres, etc.) dans l'amande et la coque, les caractéristiques de son huile (composition en acides gras, stérols, indices d'acide, d'iode, de saponification, de peroxyde, etc.), puis sur la variabilité de ces caractéristiques selon différentes zones géographiques du Sénégal.

### **II.1. REPARTITION DES PRINCIPAUX CONSTITUANTS DE LA GRAINE DE NEEM**

Les lots de graines de neem utilisés pour cette caractérisation sont fournis par la société SENCHIM (Km 13, route de Rufisque, Sénégal), spécialisée dans la formulation et la commercialisation de pesticides. Ils correspondent à des échantillons prélevés sur les stocks des campagnes de collectes de graines de 2007 et 2008, et seront désignés par les appellations lot2007 et lot2008. Ces échantillons proviennent d'origines diverses et sont utilisés dans la chaîne de fabrication de l'entreprise, particulièrement dans la production d'huile utilisée dans la formulation de certains pesticides.

#### **II.1.1 Caractéristiques physiques des graines de neem**

Les lots de graines sont caractérisés par une pureté élevée (99%), des teneurs en amande légèrement supérieures à celles en coques, avec une teneur en eau et en matière volatile de 9%. Les caractéristiques générales des graines déterminées sur ces deux lots sont très proches (**Tableau II-1**) y compris pour la proportion coque/amande (**Figure II-1**).

**Tableau II-1** : Caractéristiques générales des graines de neem des lot2007 et lot2008

	lot2007	lot2008
Taux d'impureté <sup>(1)</sup> (%)	1,00±0,67	1,09±0,43
Poids moyen <sup>(2)</sup> (g)	268,50±0,32	237,20±1,21
Teneur en eau et en COV <sup>(3)</sup> (%)	9,04±0,40	9,10±0,30
Teneur coque <sup>(4)</sup> (%)	47,68±0,80	48,03±0,15
Teneur amande <sup>(4)</sup> (%)	52,32±2,23	51,97±1,01

<sup>(1)</sup> Partie Expérimentale V.1.1 ; <sup>(2)</sup> Déterminé par pesée sur un échantillon de 100 graines ; <sup>(3)</sup> Partie Expérimentale V.1.4 ; <sup>(4)</sup> déterminé par pesée après décorticage manuel sur des échantillons de 200 g.

A la maturité, le fruit de neem est constitué d'une écaille de couleur jaune (peau), d'une pulpe et de la graine. Il est généralement cueilli à ce stade de floraison par les oiseaux qui mangent la pulpe avant d'abandonner par terre la graine et la peau.



**Photo II-1** : Fruit de neem



**Photo II-2** : Graine de neem



**Photo II-3** : Amande de neem



**Photo II-4** : Coque de neem

**Figure II- 1** : Photos de fruits, graines, amandes et coques de neem sénégalais

## II.1.2. Répartition des principaux constituants de la graine de neem

La répartition des principaux constituants dans la graine entière, l'amande de graine décortiquée et la coque est rapportée dans le **Tableau II-2** pour les deux lots analysés. Les teneurs en constituants minéraux, lipidiques, protéiques et pariétaux sont proches pour les deux lots analysés, que ce soit dans la graine entière, l'amande ou la coque. Si la teneur en matière minérale apparaît uniformément répartie dans la coque et l'amande, la majorité des lipides et des protéines sont contenus dans l'amande (respectivement 92 et 89% des lipides et des protéines de la graine) alors que l'essentiel des composés fibreux est apporté par la coque (82% des composés pariétaux de la graine).

**Tableau II-2 :** Répartition des principaux constituants de la graine, l'amande et la coque de neem pour les lot2007 et lot2008

	Graine entière		Amande		Coque	
	lot2007	lot2008	lot2007	lot2008	lot2007	lot2008
Matière sèche <sup>(1)</sup> (%)	90,96±0,40	9,90±0,30	90,97±0,24	89,76±0,35	90,78±0,54	90,65±0,76
Matière minérale <sup>(2)</sup> (%)	4,25±0,03	4,44±0,23	4,45±0,08	4,78±0,02	4,27±0,07	4,15±0,76
Lipides <sup>(3)</sup> (%)	32,21±0,68	32,74±0,38	58,38±2,4	55,95±2,79	3,55±0,76	3,46±1,29
Azote protéique <sup>(4)</sup> (%)	1,97±0,02	1,95±0,12	3,33±0,09	3,79±0,14	0,22±0,01	0,37±0,06
MS)						
Composés pariétaux <sup>(5)</sup> (%)	49,84±2,55	48,47±2,32	6,57±0,10	6,14±0,46	86,83±0,36	83,25±0,98

<sup>(1)</sup> NFV03-603, *Partie Expérimentale V.1.4* ; <sup>(2)</sup> NFV03-922, *Partie Expérimentale V.1.5* ; <sup>(3)</sup> NFISO 73-1, *Partie Expérimentale V.1.6* ; <sup>(4)</sup> NFV 18-100 *Méthode Kjeldahl, Partie Expérimentale VI.11* ; <sup>(5)</sup> *Insoluble au détergent neutre (NDF), Partie Expérimentale V.1.10*

L'analyse de cette répartition sur 100 g de graines permet de mieux mettre en évidence cette proportion de l'huile et de l'azote protéique dans l'amande et des fibres dans la coque (**Tableau II-3**).

**Tableau II-3 :** Répartition dans l’amande et la coque des principaux constituants dans 100 g de graines de neem

	Graine	Amande	Coque
Masse graine (g MS)	100	52,14	47,86
Matière minérale (g)	4,34	2,40	2,02
Lipides (g)	32,47	29,80	1,68
Azote protéique (g)	1,96	1,86	0,14
Composés pariétaux (g)	49,15	3,31	40,70

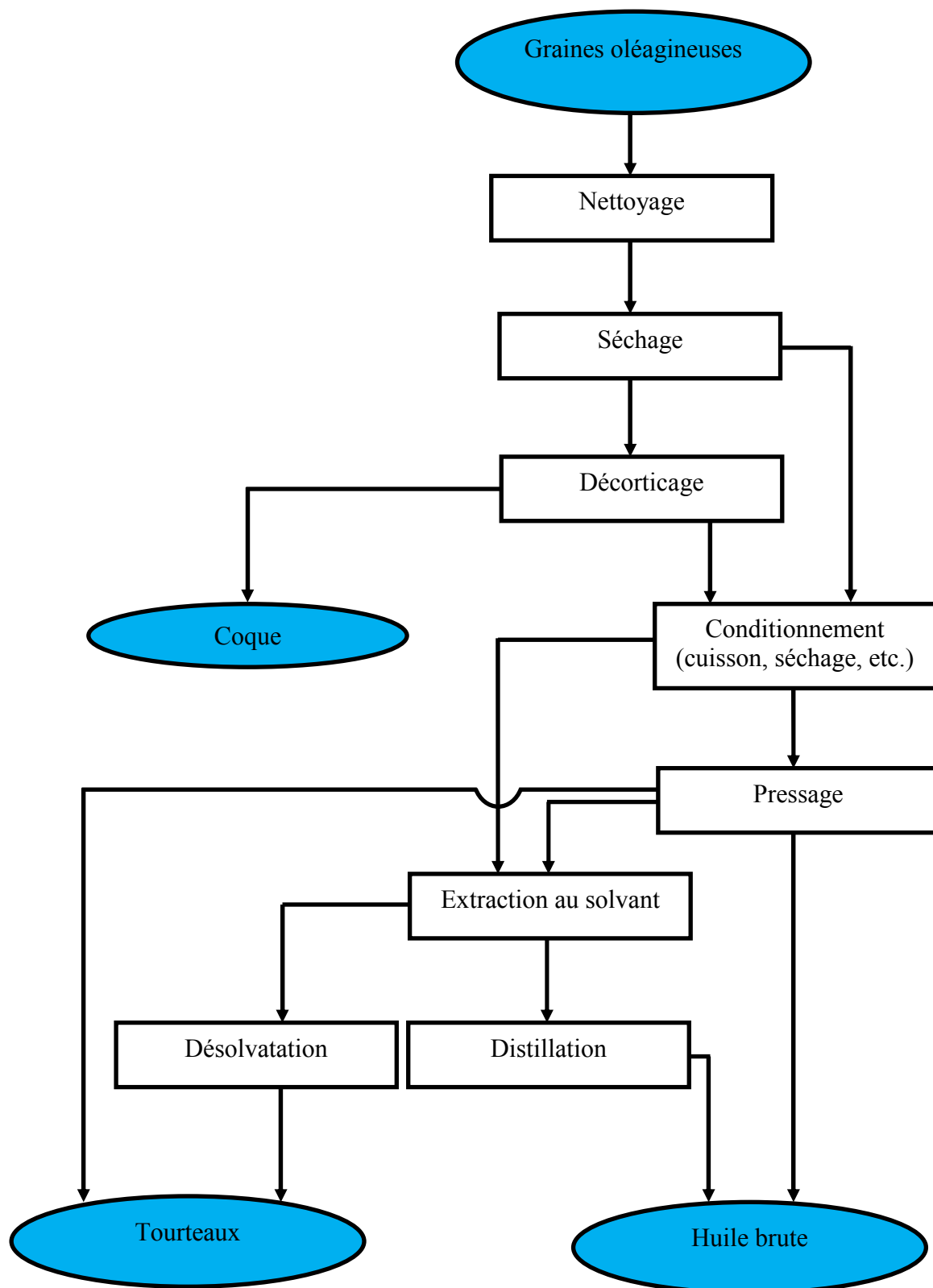
Cette répartition, cohérente avec la fonction de réserve de l’amande et celle de protection de son enveloppe, est en accord avec les données de la littérature pour une teneur en huile de 20 à 32% dans la graine (KAURA et al., 1998 ; MUNOZ-VALENZUELA et al., 2007 ; GOSSE et al., 2005) et de 30 à 52% dans l’amande (KAURA et al., 1998 ; SIDHU et al., 2003 ; KAUSHIK et VIR, 2000 ; KAUSHIK, 2002 ; SIDHU et al., 2004).

La caractérisation de ces différents constituants permet alors de comparer le neem à d’autres graines oléoprotéagineuses et d’établir un schéma de fractionnement adapté à ses caractéristiques.

### **II.1.3. Caractérisation des lipides de graines de neem**

#### **II.1.3.1. Composition en acides gras des huiles de neem**

Les procédés industriels de production d’huile à partir de graines oléoprotéagineuses comme le tournesol, le colza, le soja, etc. sont, en fonction de la teneur en lipide de la graine, soit l’expression d’huile par pressage suivie d’une extraction par solvant de l’huile résiduelle du tourteau brut, soit l’extraction directe de l’huile par solvant (**Figure II-2**). Qu’il s’agisse de l’extraction directe de la graine, ou de celle du tourteau gras, le solvant le plus couramment utilisé et encore autorisé pour application alimentaire est l’hexane. Cependant, son impact environnemental et sur la santé de l’homme a conduit à la recherche de sa substitution par d’autres solvants (JOHNSON et LUCAS, 1983 ; HRON et al., 1982) parmi lesquels l’isohexane (2-methyl pentane) qui est mis en œuvre par un nombre croissant d’huileries d’Amérique du Nord, leur permettant d’être en accord avec les nouvelles lois sur la réduction des émissions atmosphériques de gaz à effet de serre. Il est beaucoup moins toxique que l’hexane et n’est pas considéré comme un polluant atmosphérique (GALVIN, 1997).



**Figure II-2 :** Schéma de production industrielle d'huile brute à partir de graines oléoprotéagineuses par action combinée d'un pressage et d'une extraction (CAMPBELL, 1983 ; KARLESKIND, 1992 ; AMALIA KARTIKA, 2005, EVON, 2008)



Dans le cas de la graine de neem, la comparaison des rendements d'extraction obtenus par percolation au soxhlet (**Partie Expérimentale V.1.6**) avec le cyclohexane, l'hexane et l'isohexane montre que ces deux derniers sont équivalents, mais un peu moins efficaces que le cyclohexane, solvant préconisé pour les déterminations analytiques selon la norme NF-ISO 734-1 (**Tableau II-4**).

**Tableau II-4 :** Rendements en huile obtenus par différents solvants d'extraction et composition en acides gras des huiles obtenues

	<b>Cyclohexane</b>	<b>Hexane</b>	<b>Isohexane</b>
Rendement en huile (%MS)	32,74±0,38	26,08±0,75	26,16±0,63
Acide Myristique (C14:0)	0,05±0,00	0,35±0,42	0,72±0,02
Acide Pentadécanoïque (C15:0)	0,07±0,01	0,20±0,00	0,21±0,01
Acide Palmitique (C16:0)	17,51±0,08	17,38±0,04	17,05±0,07
Acide Palmitoléique (C16:1)	0,13±0,00	0,12±0,00	0,12±0,01
Acide Heptadécanoïque (C17:0)	0,33±0,07	0,24±0,00	0,21±0,00
Acide Stéarique (C18:0)	16,51±0,67	17,07±0,23	17,05±0,05
Acide Elaidique (C18:1)	0,20±0,18	0,25±0,01	0,20±0,03
Acide Oléique (C18:1)	43,61±0,20	42,94±0,13	43,06±0,01
Acide Petroselinique (C18:1)	0,43±0,01	0,40±0,00	0,40±0,00
Acide Linoléique (C18:2)	19,15±0,81	18,82±0,22	18,79±0,15
Acide Arachidique (C20:0)	1,24±0,08	1,30±0,03	1,36±0,01
Acide Linoléique (C18:3)	0,48±0,06	0,51±0,02	0,52±0,00
Acide Behénique (C22:0)	0,23±0,03	0,36±0,13	0,26±0,00
Acide Erucique (C22:1)	0,04±0,01	0,07±0,00	0,06±0,02
Acides gras saturés	34,71±0,86	35,59±0,84	35,5±0,15
Acides gras insaturés	65,29±1,37	64,41±0,42	65,5±0,23
Rapport (Saturés/Insaturés)	0,53	0,55	0,54

L'analyse de la composition en acides gras des fractions lipidiques obtenues avec ces trois solvants ne révèle pas de différence significative du profil des triglycérides permettant d'expliquer des différences de rendement d'extraction. La comparaison des profils d'acides gras des huiles obtenues par extraction au cyclohexane des graines provenant des lots lot2007 et lot2008 (**Tableau II-5**), quasiment identiques, confirme que l'huile de neem est, conformément aux données de la littérature (**CHAPITRE I Tableau I-14**), majoritairement oléique (43%), avec une proportion quasi équivalente d'acide palmitique (17%), stéarique (17%) et linoléique (19%), et un rapport saturé/insaturé voisin de 0,5, traduisant le caractère nettement insaturé des huiles de neem.

**Tableau II-5** : Composition en acides gras des fractions lipidiques contenues dans les graines des lot2007 et lot2008

	<b>lot2007</b>	<b>lot2008</b>
Teneur en huile (%MS) : rappel	32,21±0,68	32,74±0,38
Acide Myristique	0,06±0,01	0,05±0,00
Acide Pentadécanoïque	0,23±0,03	0,07±0,01
Acide Palmitique	16,88±0,02	17,51±0,08
Acide Palmitoléique	0,12±0,00	0,13±0,00
Acide Heptadécanoïque	0,16±0,01	0,33±0,07
Acide Stéarique	15,94±0,02	16,51±0,67
Acide Elaidique	1,35±0,01	0,20±0,18
Acide Oléique	44,61±0,05	43,61±0,20
Acide Pétrosélinique	0,49±0,00	0,43±0,01
Acide Linoléique	16,71±0,02	19,15±0,81
Acide Arachidique	1,27±0,00	1,24±0,08
Acide Linoléinique	0,37±0,01	0,48±0,06
Acide Behénique	1,73±0,06	0,23±0,03
Acide Erucique	0,07±0,01	0,04±0,01
Acides gras saturés	35,00±0,15	34,71±0,86
Acides gras insaturés	65,00±0,10	65,29±1,37
Rapport (Saturé/Insaturé)	0,54	0,53

Le décorticage de la graine ne modifie pas significativement ces caractéristiques de l'huile (**Tableau II-6**). Bien que l'huile extraite de la coque soit un peu plus riche en acides gras saturés, sa contribution à l'huile de la graine entière est faible par rapport à celle de l'amande.

**Tableau II- 6 :** Distribution de la composition en acides gras des fractions lipidiques des différentes parties des graines du lot2008

Acides gras (%)	Graine entière	Amande	Coque
Teneur en huile (%MS) : rappel	32,74±0,38	55,95±2,79	3,46±1,29
Acide Myristique	0,05±0,00	0,06±0,01	1,08±0,03
Acide Pentadécanoïque	0,07±0,01	0,23±0,03	0,22±0,02
Acide Palmitique	17,51±0,08	16,70±0,05	19,75±0,33
Acide Palmitoléique	0,13±0,00	0,12±0,00	1,64±0,42
Acide Heptadécanoïque	0,33±0,07	0,16±0,02	0,17±0,02
Acide Stéarique	16,51±0,67	15,57±0,40	16,67±0,01
Acide Elaidique	0,20±0,18	0,85±0,04	2,70±0,10
Acide Oléique	43,61±0,20	45,53±0,61	39,58±0,13
Acide Petroselinique	0,43±0,01	0,48±0,01	0,48±0,02
Acide Linoléique	19,15±0,81	17,64±0,52	15,37±0,22
Acide Arachidique	1,24±0,08	1,23±0,00	1,18±0,16
Acide Linoléique	0,48±0,06	0,43±0,05	1,07±0,01
Acide Behénique	0,23±0,03	0,94±0,68	0,44±0,02
Acide Erucique	0,04±0,01	0,06±0,00	0,06±0,01
Acides gras saturés	34,71±0,86	33,67±1,19	37,93±0,38
Acides gras insaturés	65,29±1,37	66,33±1,27	62,07±1,08
Rapport (Saturés/Insaturés)	0,53	0,51	0,61

### II.1.3.1. Composition en stérols des huiles de neem

La teneur en insaponifiables des huiles de neem est de 2% (DJENONTIN, 2006), parmi lesquels les stérols occupent une place particulièrement importante pour la qualité des huiles. En effet, parmi les métabolites végétaux qui sont supposés réduire l'adsorption du cholestérol, les phytostérols s'avèrent être d'un grand intérêt (LUTJOHANN et al., 1995). Leur teneur dans les huiles végétales varie de moins de 1% (huile de palme) à plus de 10% (huile de maïs) (GUNSTONE et PADLEY, 1997). Dans les huiles de neem extraites des lots lot2007 et lot2008, la teneur en stérols totaux est près de 4 g.kg<sup>-1</sup> (**Tableau II-7**), valeur proche des huiles de tournesol, supérieure à celle de l'huile de soja, mais plus faible que celle de l'huile de colza.

**Tableau II-7 :** Teneur en stérols totaux des huiles de neem des lot2007 et lot2008 et d'autres huiles végétales

	<b>Lot2007</b>	<b>Lot2008</b>	Neem <sup>(1)</sup>	Jatropha <sup>(2)</sup>	Olive <sup>(3)</sup>	Chanvre <sup>(4)</sup>
Stérols (g.kg <sup>-1</sup> )	<b>3,73±0,08</b>	<b>3,93±0,07</b>	1,88	4,0	7,9-2,1	3,67
	Huile de palme <sup>(3)</sup>	Cotton <sup>(3)</sup>	soja <sup>(3)</sup>	mais <sup>(3)</sup>	arachide <sup>(3)</sup>	tournesol <sup>(3)</sup>
Stérols (g.kg <sup>-1</sup> )	0,8-1,2	2,7-5,9	1,8-4,1	7,9-22,1	0,9-2,9	2,4-4,5

<sup>(1)</sup> DJENONINE, 2006 ; <sup>(2)</sup> KPOVIESSI et al., 2004 ; <sup>(3)</sup> GUNSTONE et PADLEY, 1997 ; <sup>(4)</sup> STAMBOULI et al., 2006

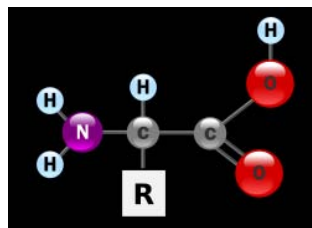
Dix stérols ont été identifiés et dosés dans l'huile de neem (**Tableau II-8**) parmi lesquels, comme dans la plupart des huiles, le  $\beta$ -sitostérol est nettement majoritaire. L'intérêt de ce composé est connu : les études cliniques ont montré que sa consommation d'environ 2 gramme par jour permet de baisser le LDL-cholestérol dans le sang d'environ 10%, en inhibant au moins partiellement l'adsorption intestinale du cholestérol (LUTJOHANN et al., 1995). Par ailleurs, comme d'autres phytostérols, ses effets antitumoraux ont été étudiés (AWAD et al., 2000 ; BOUIC, 2001 ; AWAD et al., 2007), notamment pour la réduction des risques de certains types de cancers : du poumon (MENDILAHARSU et al., 1998), du sein (RONCO et al., 1999), de l'œsophage (STEFANI et al., 2000a), de l'estomac (CANN et al., 2000), du colon (CANN et al., 2003) et de l'ovaire (STEFANI et al., 2000b).

**Tableau II-8 :** Teneur en stérols des huiles des graines des lot2007 et lot2008

Stérols (g.kg <sup>-1</sup> )	<b>lot2007</b>	<b>lot2008</b>
20Meth, Cholestérol	0,09±0,01	0,11±0,01
Campestérol	0,34±0,01	0,36±0,01
Campestanol	0,01±0,01	0,02±0,01
Stigmastérol	0,52±0,07	0,48±0,01
$\beta$ -Sitostérol	2,40±0,06	2,71±0,03
Stigmastanol	0,04±0,02	0,04±0,01
$\Delta^5$ - Avenastérol	0,17±0,01	0,14±0,01
Cycloarténol	0,06±0,01	0,02±0,01
Méthylène cycloartanol	0,08±0,01	0,02±0,08
Citrostadiénol	0,03±0,01	0,05±0,01

## II.1.4. Caractéristiques des protéines de graines de neem

Le dosage de l'azote total (NTK) par la méthode de Kjeldahl (**Paragraphe PE V.1.6**) apporte une indication sur la présence des protéines dans la graine, essentiellement dans l'amande (**Tableau II-2**). L'analyse de la composition en acides aminés de ces protéines (**Tableau II-9**) permet de calculer la teneur en équivalent protéique dans la graine, à partir de la contribution en azote de chaque acide aminé contenu dans les protéines, déterminée en fonction de la masse molaire  $MM(AA_i)$ , du nombre de groupements  $NH_2$  que comporte le motif acide aminé  $nNH_2(AA_i)$  et de sa proportion dosée dans les protéines.



**Figure II-3** : Structure commune à tous les acides aminés (R représente une chaîne latérale spécifique à chaque acide aminé)

$$\text{Teneur en protéines} = \%NTK \times F$$

Avec

$$F = \frac{\sum (\% (AA_i) \times MM(AA_i))}{\sum (\% (AA_i) \times nNH_2(AA_i))}$$

$AA_i$  : Acide aminé i

$MM(AA_i)$  : Masse Molaire de l'acide aminé i

$nNH_2(AA_i)$  : Nombre de groupements  $NH_2$  dans la molécule d'acide aminé i

F est le facteur de conversion de l'azote NTK en protéine

Le facteur de conversion ainsi calculé est de **6,03** ; un peu plus faible que celui couramment utilisé dans le cas des graines de tournesol, 6,25 (EVON, 2008 ; AMALIA KARTIKA, 2005 ; GENEAU, 2006), mais plus élevé que celui calculé pour le blé, 5,7 (SOSULSKI et IMAFIDON, 1990).

**Tableau II-9** : Composition en acides aminés des graines de neem

<b>Acide Aminés</b>	<b>C1</b>	<b>C3</b>	<b>MM</b>	<b>nNH2</b>	<b>Pourcentage (%)</b>
Acide aspartique	D	Asp	133,1	1	37
Thréonine	W	Trp	204,23	2	<2
Sérine	S	Ser	105,09	1	<2
Acide glutamique	E	Glu	147,13	1	36
Proline	P	Pro	115,13	1	19
Cystine	C	Cys	240,2	2	<2
Valine	V	Val	117,15	1	<2
Méthionine	M	Met	149,21	1	<2
Isoleucine	I	Ile	131,18	1	<2
Leucine	L	Leu	131,18	1	<2
Tyrosine	Y	Tyr	181,19	1	<2
Phénylamine	F	Phe	165,19	1	<2
Histidine	H	His	155,16	3	<2
Lysine	K	Lys	146,19	2	<2
Arginine	R	Arg	174,2	4	7
Totals des acides aminés					99

*C1=code à un chiffre ; C3=code à trois chiffres ; MM=Masse molaire des acides aminés ; nNH2 nombre d'atomes d'azote de l'acide aminé*

Les teneurs en protéines, ainsi calculées pour les lot2007 et lot2008, sont respectivement 11,86±0,54 et 11,75±0,57% dans la graine et de 20,07±0,55 et 22,86±0,20% dans l'amande, pour une estimation de 1,30±0,43 et 2,23±0,42% dans la coque. Ces teneurs et répartitions en protéines sont comparables à celles observées dans la graine de tournesol avec respectivement 16%, 19% et 5% dans la graine entière, l'amande et la coque (GENEAU, 2006 ; EVON, 2008).

Par ailleurs, bien que la nature des protéines de neem n'ait pas été décrite, la comparaison de la répartition des principaux acides aminés dosés avec celles connues pour les graines de soja (90% de globulines), de tournesol (55% de globuline et 47% d'albumines), et en particulier du rapport des acides aspartique et glutamique, pourrait indiquer que les protéines de neem sont majoritairement de type globuline et albumine et en proportions comparable à celles du tournesol. Cette hypothèse nécessiterait d'être confirmée par un fractionnement des protéines de neem selon la méthode d'Osborne (solubilité dans l'eau, les solutions salines, les solutions alcooliques et les solutions alcalines).

#### II.1.4. Caractéristiques des composés pariétaux de graines de neem

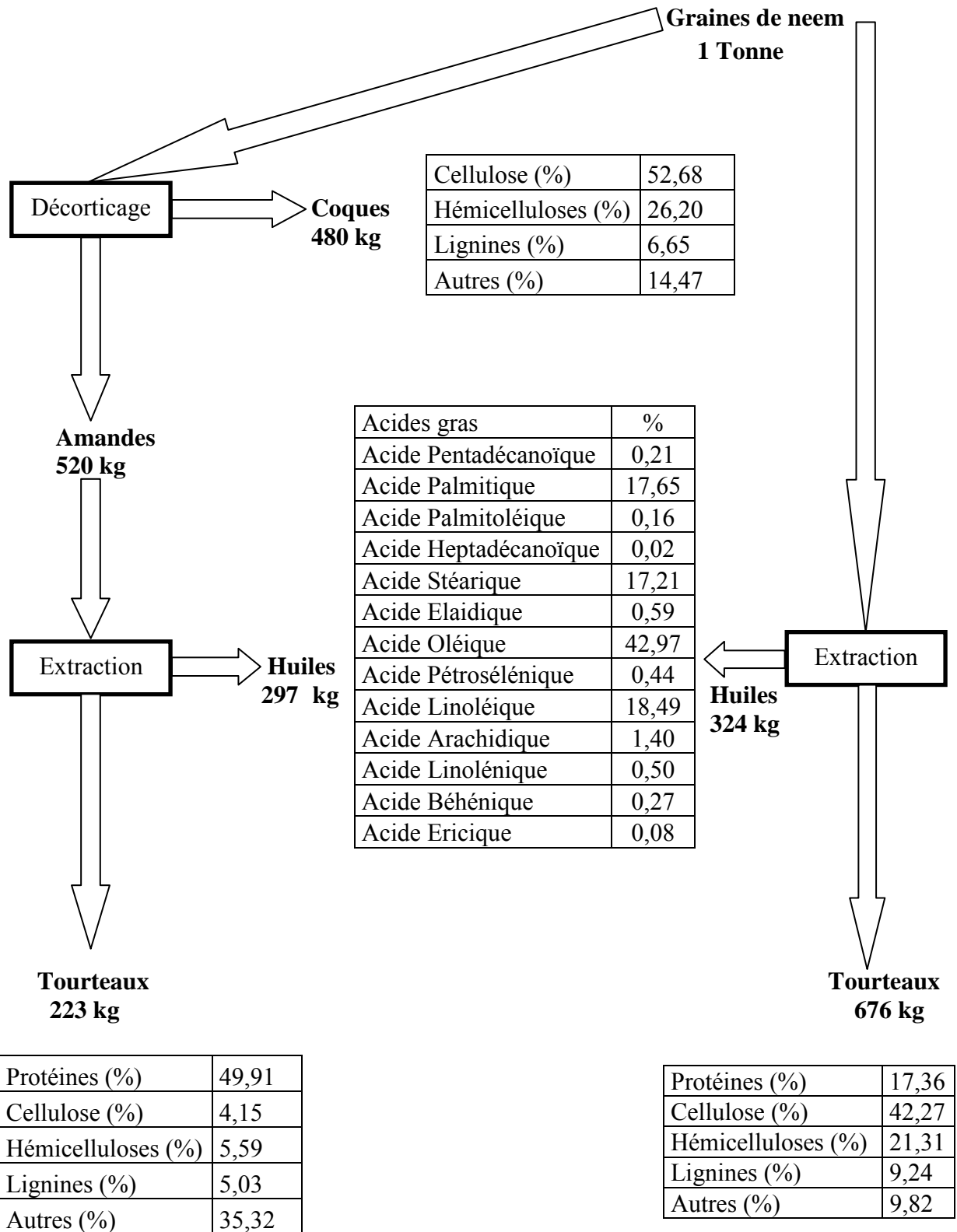
L'analyse de la composition des composés pariétaux de la graine entière, l'amande et la coque par la méthode de Van Soest et Wine (attaque aux réactifs NDF, ADF et  $KMNO_4$  ; **Partie expérimentale V.1.10**) permet de comparer la répartition cellulose-hémicelluloses-lignines des fibres de neem (**Tableau II-10**).

**Tableau II-10** : Répartition des composés pariétaux (cellulose, hémicelluloses, lignines) des fibres de neem

Composés pariétaux (%MS)	Graine entière		Amande		Coque	
	lot2007	lot2008	lot2007	lot2008	lot007	lot2008
Cellulose	29,52±0,42	27,86±1,65	1,85±0,35	1,72±0,53	54,03±0,57	51,33±0,63
Hémicelluloses	14,36±2,48	14,64±1,32	2,56±0,24	2,25±0,37	24,18±0,62	28,22±2,16
Lignines	5,96±0,50	5,64±0,87	2,15±0,20	2,18±0,36	8,61±0,41	6,69±0,61

Il apparait que la coque de neem est constituée de fibres majoritairement cellulosiques (plus de 60%). Cette teneur élevée en holocellulose (cellulose+hémicelluloses) et faible en lignines, nettement différente de celle rencontrée dans la coque de tournesol (47% de cellulose, 23% d'hémicelluloses et 29% de lignines) (BAZUS et al., 1993) et moins ligneuse que celle d'une paille de céréale (50% de cellulose, 34% de d'hémicelluloses, 15% de lignines) (MAGRO et al., 1998) s'apparente à celle d'un fourrage comme le foin (50% de cellulose, 43% d'hémicelluloses et 7% de lignines) et laisse augurer d'une bonne valeur fourragère pour l'alimentation du bétail. Ce caractère faiblement ligneux peut aussi expliquer la relativement faible dureté de la coque de neem comparée à celle de la coque de tournesol.

En conclusion, l'analyse de la composition chimique des graines de neem que nous avons étudiées permet de dresser un premier bilan matière théorique pour la première étape de leur fractionnement (**Figure II-4**).



**Figure II-4** : Premier bilan théorique du fractionnement de la graine de neem



Ce premier bilan théorique pour un schéma de fractionnement primaire conduisant à la production d'une huile et d'un tourteau plus ou moins riche en fibres et protéines en fonction du décorticage préalable des graines, ne tient pas compte des rendements réels atteignables par les procédés d'extraction, en particulier dans le cas du pressage des graines. Ce point sera étudié dans le prochain chapitre. Par ailleurs, la répartition coque/amande, la teneur en huile et ses caractéristiques, ainsi que la teneur en protéines des graines est susceptible de varier en fonction de l'origine des graines.

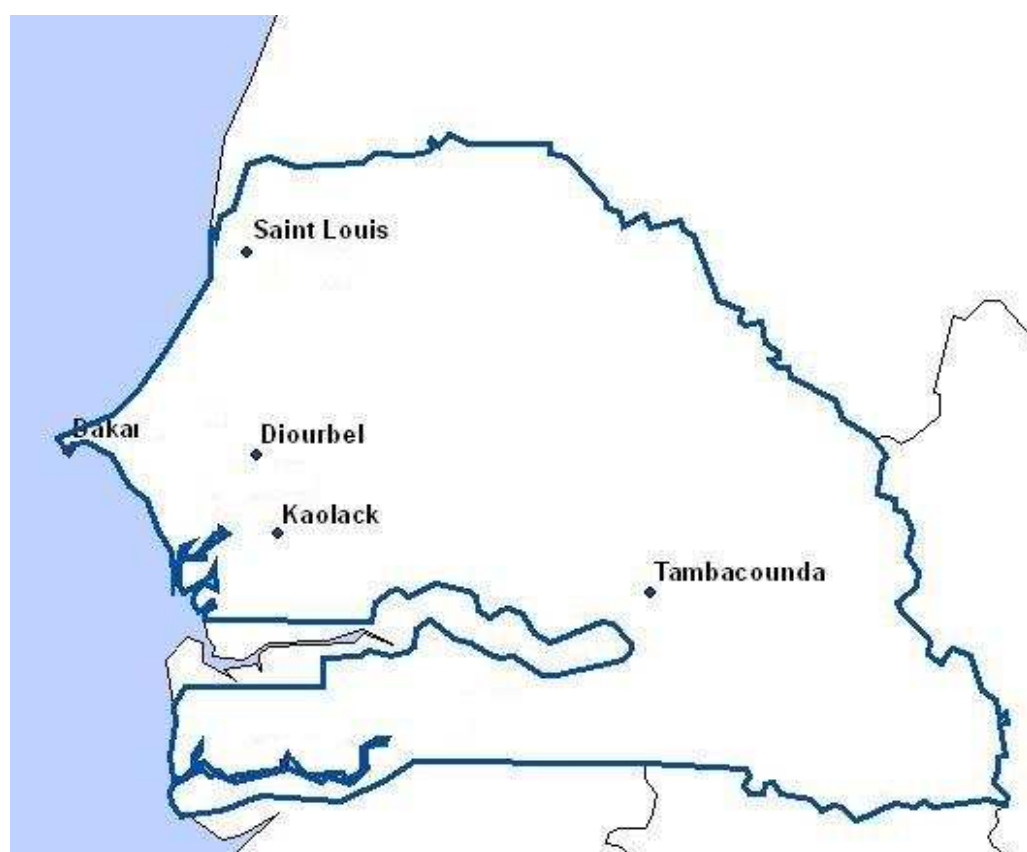
## **II. 2. ETUDE DE LA VARIABILITE DES CARACTERISTIQUES ET COMPOSITION DES GRAINES DE NEEM EN FONCTION DE DIFFERENTES ZONES GEOGRAPHIQUES DU SENEGAL**

La variabilité de la composition de la graine de neem est attribuée aux conditions climatiques, principalement la température et la pluviométrie (SIDHU et al., 2003), mais aussi aux conditions édaphiques et au génotype de l'arbre. Pour évaluer cette variabilité, cinq régions du Sénégal ayant des conditions climatiques (température et pluviométrie) différentes ont été choisies (**Tableau II-11**). Ces cinq zones géographiques sélectionnées sont illustrées dans la **Figure II-5**.

- D'une manière générale les précipitations au Sénégal décroissent du Sud vers le Nord : Ziguinchor (Sud) enregistre 1600 mm de pluie par an, Kaolack (Centre) 800 mm tandis que Louga (Nord Ouest) reçoit en moyenne 475 mm et Podor (Nord Est) 330 mm.
- Les températures, en permanence élevées, sont liées à la latitude tropicale du Sénégal, mais elles varient dans le temps avec les saisons, notamment avec les pluies qui les baissent, et dans l'espace, avec la proximité ou l'éloignement de l'Océan.

**Tableau II-11** : Caractéristiques climatiques et des sols des régions du Sénégal choisies pour l'étude de la variabilité des caractéristiques des graines de neem

Région	Dakar	Saint-Louis	Kaolack	Diourbel	Tambacounda
Type de climat dans la Région	Climat de la grande côte	Climat de la grande côte	Climat du Saloum	Climat du Ferlo	Climat du Boundou
Température moyenne annuelle (°C)	25	25	27	27,5	28
Précipitation (mm)	650	350	800	700	950
Type de Sol	Dune continentale	Mangrove salé	Mangroves, ferrugineux	Ferrugineux	Ferrugineux non lessivé



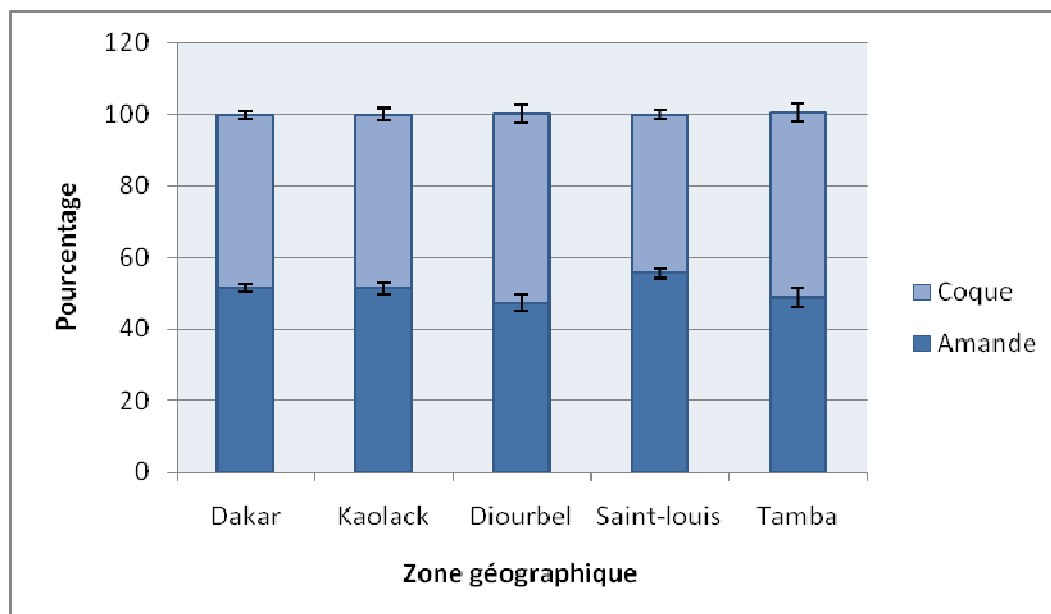
**Figure II-5** : Les différentes zones géographiques sélectionnées pour l'étude de la variabilité des caractéristiques des graines de neem au Sénégal

Pour chaque région, les lots (environ 15 kg) ont été récoltés pour chaque localité par ramassage sous des arbres ayant à peu près la même taille et une bonne floraison, au cours de la même période de l'année (entre juillet et septembre 2008). Les différents lots sont conditionnés avec des sachets avant d'être stockés tels quels. Leurs matières sèches varient de 91,61 à 92,59%.

### **II.2.1. Variabilité des caractéristiques physiques des graines**

Le poids moyen mesuré sur des échantillons de 100 graines de neem provenant des différentes localités étudiées sont :  $300,9 \pm 0,3$  mg pour Dakar,  $228,4 \pm 0,4$  mg pour Kaolack,  $266,9 \pm 0,3$  mg pour Diourbel,  $283,6 \pm 0,5$  mg pour Saint-Louis et  $265,3 \pm 0,4$  mg pour Tambacounda, conduisant à une valeur moyenne de 270 mg, proche de celle mesurée pour les lot2007 et lot2008 précédemment étudiés (253 mg en moyenne). Cette différence de poids des graines n'est pas un caractère étroitement lié aux conditions climatiques, mais plutôt au génotype de la plante, ce qui fait que dans une même localité la taille et le poids des graines peuvent varier d'un arbre à l'autre.

L'analyse de la répartition amande/coque (**Figure II-6**) montre que pour trois régions (Dakar, Kaolack, et Saint-Louis) les pourcentages en amande sont supérieurs à ceux en coque. Le pourcentage en amande le plus élevé étant rencontré à Saint-Louis ( $55,52 \pm 1,44\%$ ), et le moins élevé est observé pour les graines en provenance de Tambacounda et Diourbel, ( $48,94 \pm 0,61$  et  $47,30 \pm 0,30\%$  de coque).



**Figure II-6 :** Répartition moyenne des coques et amandes des graines de neem provenant des cinq régions du Sénégal

### II.2.2. Variabilité de la teneur en huile des graines

La teneur en huile ainsi que sa répartition dans l'amande et la coque des graines des différentes localités étudiées sont rassemblées dans le **Tableau II-12**. Ces résultats, qui confirment la forte teneur en huile dans l'amande, conduisent à une valeur moyenne (34,26%) dans la graine comparable à celle mesurée pour les lot2007 et lot2008 précédemment étudiées (32,46%).

**Tableau II-12 :** Teneur et distribution de l'huile dans les graines des différentes localités étudiées

	Dakar	Kaolack	Diourbel	St-Louis	Tambacounda
Graine (% MS)	32,79	35,86	31,91	38,31	32,46
Amande (% MS)	49,39	54,53	44,58	55,53	52,94
Coque (% MS)	1,78	3,18	1,75	1,64	4,65

Une corrélation semble exister entre les proportions élevées d'amande et la teneur élevée de l'huile dans la graine. Ainsi, les plus fortes teneurs en huile sont rencontrées à Saint-Louis, Kaolack et Dakar, ces mêmes régions où les pourcentages d'amandes sont supérieurs à ceux

des coques. Les plus faibles teneurs en huile sont rencontrées à Diourbel et à Tambacounda, deux localités pour lesquelles la plus forte teneur en coques est observée.

Cependant, la proportion d'amande et de coque n'est pas le seul facteur qui explique la teneur en huile dans les graines. La richesse en huile dans l'amande elle-même peut aussi l'expliquer. C'est le cas pour les échantillons de Dakar et Kaolack qui ont pratiquement la même teneur en amande, mais avec une plus forte teneur en huile des amandes de l'échantillon de Kaolack, qui se traduit par une plus forte teneur en huile dans les graines de cet échantillon.

### II.2.3. Variabilité de la composition en acides gras des huiles

L'analyse de la composition en acides gras des fractions lipidiques des graines des cinq localités étudiées (**Tableau II-13**) confirme bien que l'acide gras majoritaire est l'acide oléique, dont la proportion varie de 42% (Tambacounda) à 48,49% (Kaolack), conduisant à une valeur moyenne de 45,33%, supérieure aux proportions observées dans les lot2007 et lot2008 précédemment caractérisés (44,11%).

**Tableau II-13 :** Variabilité de la composition en acides gras des huiles extraites des graines provenant des différentes zones géographiques

Acides gras	Dakar	Diourbel	Kaolack	Saint-Louis	Tambacounda
Acide Myristique	0,07±0,00	0,16±0,00	0,13±0,01	0,06±0,00	0,08±0,02
Acide Pentadécanoïque	0,03±0,00	0,05±0,00	0,03±0,01	0,03±0,00	0,03±0,00
Acide Palmitique	17,63±0,21	15,22±0,16	17,46±0,01	16,95±0,01	19,13±0,16
Acide Palmitolique	0,15±0,01	0,12±0,01	0,15±0,01	0,09±0,00	0,14±0,00
Acide Heptadécanoïque	0,15±0,00	0,16±0,01	0,14±0,00	0,14±0,01	0,14±0,00
Acide Stéarique	15,59±0,33	15,41±0,03	14,77±0,23	17,42±0,01	16,65±0,00
Acide Elaïdique	0,23±0,01	0,75±0,01	0,30±0,01	0,18±0,01	0,12±0,08
Acide Oléique	43,62±0,66	48,49±0,04	44,91±0,21	43,52±0,03	42,33±0,01
Acide Linoléique	0,06±0,03	0,45±0,00	0,07±0,01	0,04±0,03	-
Acide Linoléique	19,89±1,12	16,43±0,01	19,45±0,08	19,18±0,07	18,90±0,02
Acide Arachidique	1,22±0,03	1,34±0,01	1,19±0,02	1,31±0,01	1,31±0,01
Acide Linoléique	0,53±0,01	0,41±0,01	0,49±0,01	0,49±0,01	0,51±0,01
Acide Gadoleique	0,35±0,05	0,55±0,02	0,40±0,02	0,20±0,05	0,22±0,07
Acide Pétrosélinique	0,48±0,01	0,46±0,01	0,51±0,04	0,39±0,03	0,43±0,01

Les variations des proportions des autres acides gras majoritaires sont moins importantes et les valeurs sont proches de celles déterminées précédemment (**Tableau II-5**). Compte tenu de leurs faibles proportions, les acides gras minoritaires varient peu pour les cinq origines étudiées.

#### II.2.4. Variabilité de la composition en stérols des huiles

L'analyse de la composition des fractions insaponifiables des huiles des graines de neem des différents échantillons étudiés (**Tableau II-14**) montre que contrairement à la composition en acides gras des huiles, la composition en stérols connaît une forte variation. Ainsi, la teneur en  $\beta$ -Sitostérol va presque du simple au double entre les échantillons en provenance de Diourbel (2,02 g.kg<sup>-1</sup>) et de Tambacounda (3,42 g.kg<sup>-1</sup>). La même tendance est aussi observée pour le Stigmastérol qui va de 0,34 g.kg<sup>-1</sup> pour l'échantillon de Diourbel à 0,56 g.kg<sup>-1</sup> pour celui de Tambacounda, de même pour le  $\Delta^5$ -Avenastérol (de 0,25 à 0,45 g.kg<sup>-1</sup>). Globalement, la teneur en stérols est largement plus élevée dans l'échantillon de graines en provenance de Tambacounda.

**Tableau II-14 :** Variabilité de la composition en stérols selon les différentes zones géographiques

Phytostérols (g.kg <sup>-1</sup> )	Dakar	Diourbel	Kaolack	Saint-Louis	Tambacounda
Campestérol	0,31±0,02	0,28±0,00	0,29±0,04	0,33±0,01	0,45±0,06
Stigmastérol	0,40±0,04	0,34±0,02	0,43±0,00	0,47±0,00	0,56±0,08
$\beta$ -Sitostérol	2,40±0,05	2,02±0,09	2,40±0,03	2,56±0,03	3,42±0,51
$\Delta^5$ Avénastérol	0,23±0,07	0,25±0,03	0,30±0,00	0,29±0,00	0,45±0,06
$\Delta^7$ Avénastérol	-	0,02±0,00	-	-	0,01±0,00
Cycloarténol	0,03±0,00	0,13±0,00	0,07±0,00	0,03±0,00	0,08±0,01
Met.cycloarténol	0,07±0,00	0,09±0,00	0,13±0,01	0,06±0,00	0,09±0,01
Citrostadiénol	-	0,01±0,00	-	0,01±0,00	0,01±0,00
<b>Totaux</b>	<b>3,44± 0,18</b>	<b>3,14± 0,14</b>	<b>3,63± 0,08</b>	<b>3,75± 0,04</b>	<b>5,07± 0,73</b>

## II.2.5. Variabilité des caractéristiques physico-chimiques des huiles de graines de neem

Le **Tableau II-15** rassemble les caractéristiques physico-chimiques des cinq huiles extraites des graines de neem de différentes régions étudiées.

**Tableau II-15** : Variabilités des caractéristiques physico-chimiques des huiles de graines de neem

	Dakar	Diourbel	Kaolack	Saint-Louis	Tambacounda
Densité	0,867±0,001	0,86±0,001	0,87±0,002	0,864±0,002	0,863±0,001
Indice d'acide (mg.g <sup>-1</sup> )	9,99±0,32	7,93±0,32	9,61±0,32	8,49±0,32	9,43±0,32
Indice de saponification (mg.g <sup>-1</sup> )	199,63±0,81	199,17±1,40	201,96±1,40	201,49±0,81	200,56±0,97
Indice d'iode (mg I <sub>2</sub> .100 g <sup>-1</sup> )	74,45±1,59	75,93±0,97	75,08±1,32	74,45±0,97	73,60±1,27
Indice de peroxyde (meq.kg <sup>-1</sup> )	6,67±0,29	6,00±0,5	7,00±0,5	7,00±0,5	7,17±0,5
Indice de réfraction (mg.g <sup>-1</sup> )	1,464	1,465	1,463	1,463	1,463
Indice d'ester	184	187	182	188	187
Pouvoir calorifique (MJ.kg <sup>-1</sup> )	39,62	39,63	39,53	39,55	39,55

Il apparaît que :

- La densité et l'indice de réfraction déterminés selon les normes AFNOR T60-214 et T60-220 (**Partie expérimentale V.1.20 et V.1.18**) varient peu entre les échantillons et sont proches de ceux de la littérature (DJENONTIN, 2006 ; NDIAYE, 2002) ;
- L'indice de saponification (**Partie expérimentale V.1.16**), qui varie peu autour d'une valeur moyenne de 200,56 mg.g<sup>-1</sup>, traduit une bonne capacité de l'huile de neem à être transformée en savon, comparable à celle du jatropha (196–208 mg.g<sup>-1</sup> KPOVIESSI et al., 2004) ou du tournesol (188-194 mg.g<sup>-1</sup> CAMPBELL, 1983 ; GUNSTONE et PADLEY, 1997 ; AMALIA KARTIKA, 2005) et supérieure aux huiles de colza, d'olive, de soja, d'arachide etc. mais inférieure à celle des noix de coco, de palmiste etc. (GUNSTONE et PADLEY, 1997) ;
- Les indices d'iodes (**Partie expérimentale V.1.17**) qui varient peu d'une région à l'autre, avec une moyenne de 74,70 mg I<sub>2</sub>.100 g<sup>-1</sup>, traduisent le caractère insaturé de l'huile de neem, confirmé par la répartition des acides gras insaturés et saturés

précédemment déterminée pour les lot2007 et lot2008 (65 à 66% d'insaturés). Mais compte tenu de leurs densités, les huiles de neem restent classées dans la catégorie des huiles non siccatives. Ces valeurs sont proches de celle de l'huile d'olive (75-94 mg I<sub>2</sub> 100 g<sup>-1</sup>) supérieures à celles des huiles de palmiste, de palme, de coco etc., et inférieures à celles du tournesol, du coton, du jatropha, etc. (KPOVIESSI et al., 2004 ; GUNSTONE et PADLEY, 1997);

- Les indices de peroxyde (**Partie expérimentale V.1.18**) varient eux aussi relativement peu autour d'une valeur moyenne de 6,76 meq kg<sup>-1</sup>, traduisant le faible degré d'oxydation des acides gras insaturés des huiles et la faible détérioration de leurs qualités au cours de l'extraction ;
- Seul l'indice d'acide (**Partie expérimentale V.1.15**), qui évalue l'acidité libre de l'huile, est sensiblement élevé : 9,09 mg.g<sup>-1</sup> par comparaison avec une huile alimentaire comme le tournesol (1,56 à 1,88 mg.g<sup>-1</sup>; LACAZE-DUFAURE, 1998 ; AMALIA KARTIKA, 2005 ;) ou le colza et non alimentaire comme le jatropha par exemple (1,8 à 2,5 mg.g<sup>-1</sup> ; KPOVIESSI et al., 2004). Il varie de 8 à 10 mg.g<sup>-1</sup> selon l'origine régionale de l'huile. Une valeur élevée est considérée comme préjudiciable pour les huiles alimentaires. Selon les applications (biocarburant par exemple) il pourra être nécessaire de procéder à un raffinage de cette huile par neutralisation des acides gras libres ;
- La mesure des indices de saponification (I<sub>s</sub>) et d'iode (I<sub>I</sub>) permet de calculer le pouvoir calorifique inférieur grâce à la relation empirique (**Partie expérimentale V.1.21.**)

$$P_{ci} = 11380 - I_I - 9,15 \times I_s$$

Il se situe à une valeur moyenne de 39,58 MJ.Kg<sup>-1</sup>, proche de celle du jatropha (40,6 MJ.Kg<sup>-1</sup>) et du gazole (44,9 MJ.Kg<sup>-1</sup>) (HAIDARA, 1996).



## II.2.6. Variabilité de la teneur en protéines des graines de neem

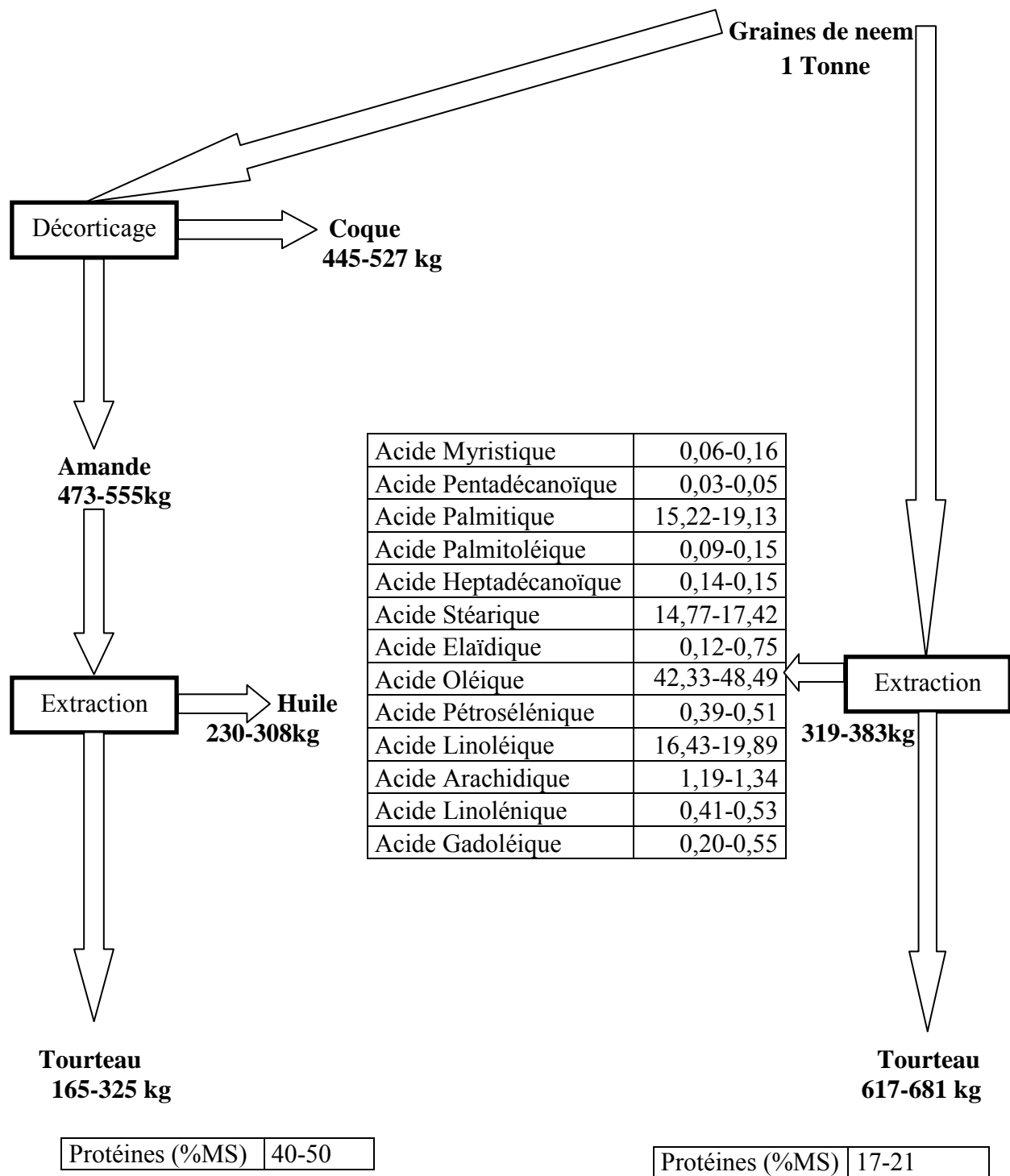
Les variations de la teneur en protéines des graines issues des différentes localités choisies du Sénégal sont relativement faibles (**Tableau II-15**) et non directement corrélées à la proportion d'amande dans la graine. En effet, bien que les plus faibles teneurs soient rencontrées à Diourbel (11,27%) et Tambacounda (11,80%), localités dont les graines contiennent les plus faibles proportions d'amande (respectivement 47,30 et 48,94%), la plus forte teneur en protéines est rencontrée à Kaolack (12,78%) dont la proportion en amande (51,37%) est plus faible que celle de Saint-Louis.

**Tableau II-16** : Variabilité de la teneur en protéines des graines de neem

	Dakar	Kaolack	Diourbel	Saint-Louis	Tambacounda
Protéines (%MS)	12,50±0,31	12,78±0,54	11,27±0,32	11,90±0,16	11,80±0,02

Cette teneur en protéines dans la graine de neem est relativement basse par comparaison aux graines oléagineuses cultivées au Sénégal comme l'arachide (25-30%) ou le coton (18-20% ; ORR, 1971) ou ailleurs comme le tournesol (16% ; GENEAU, 2006 ; EVON, 2008) ou le sésame (25% ; ORR, 1971). Cependant, elle reste suffisante pour justifier l'intérêt des tourteaux issus de l'extraction des huiles, où elle atteindrait des valeurs moyennes de 19% par rapport à la matière sèche pour les tourteaux de graines entières et 43% rapport à la matière sèche pour les tourteaux d'amandes de graines décortiquées. Ainsi, elle est suffisante pour des apports protéiques dans la formulation d'aliments pour bétail (RAO, 1987).

En conclusion, le premier bilan matière théorique du fractionnement primaire de la graine de neem sénégalais est relativement sensible à la variabilité de la composition des graines en fonction de leur origine :



**Figure II-7 :** Premier bilan théorique du fractionnement de la graine de neem selon les cinq zones géographiques étudiées

Dans ce schéma, l'intérêt de l'opération de décorticage devra être évalué en fonction :

- Du coût énergétique et de la complexité de l'opération de décorticage ;
- D'une utilisation éventuelle des coques comme combustible, en particulier pour fournir l'énergie nécessaire au pressage des amandes ;
- De la valeur ajoutée du tourteau d'amande comme apport protéique en alimentation animale. Remarquons que l'augmentation de la teneur en protéines dans le tourteau décortiqué doit être pondérée par la perte de fibres, de nature essentiellement cellulosiques, peu lignifiés et théoriquement de bonne valeur fourragère.

Les teneurs évaluées en huile de la graine de neem, comparables à celles du jatropha dont la culture pour la filière de production de biocarburant (ester méthylique) d'huile a été largement étudiée (JUNFENG et al., 2010 ; SIDDHARTH et SHARMA, 2010), pourraient justifier une telle voie de valorisation pour le neem. En effet, sous l'hypothèse raisonnable d'une production annuelle de 50 kg de graines par arbre et par an avec 50 arbres par hectare, la production d'huile pourrait atteindre 800 kg par hectare et par an.

Cependant, à l'échelle actuelle du Sénégal, pour une population d'arbres de neem estimée à 18 à 30 millions d'arbres ce qui représente entre 9 à 15 arbres par hectare, alors la transformation des graines en huile ne représenterait qu'une production de 146 à 243 kg par hectare et par an soit 5780 à 9620 MJ d'équivalent d'ester carburant par an.

Par ailleurs, si la composition en acides gras et la teneur en stérols des huiles de neem peuvent leur ouvrir le champ d'applications en alimentation humaine, la présence de molécules actives (azadirachtine, nimbine, salannine, etc.) pose problème. Il en est de même dans les tourteaux pour l'alimentation animale. On conçoit donc tout l'intérêt de l'élaboration d'un schéma de fractionnement et raffinage de la graine de neem permettant une valorisation de l'azadirachtine, des huiles et tourteaux de neem.

Une première étape pour élaborer un tel schéma est de déterminer la teneur en azadirachtine des graines de neem et son extractabilité par solvant.

## II.3. TENEUR EN AZADIRACHTINE DE LA GRAINE DE NEEM

La détermination de la teneur en azadirachtine de la graine de neem nécessite son extraction du solide puis sa purification avant son dosage.

### II.3.1. Description du protocole d'extraction, de purification et de dosage de l'azadirachtine

Le protocole opératoire mis en oeuvre pour l'extraction et la purification de l'azadirachtine à partir des graines de neem (**Figure II-8**), basé sur les travaux de caractérisation des graines de neem surtout d'origine indienne (JARVIS et al., 1999 ; JOHNSON et MORGAN, 1996 ; KAUSHIK, 2002 ; JOHNSON et al., 1996), est le suivant :

- **Extraction liquide/solide** : les graines de neem sont broyées à l'aide d'un broyeur à couteaux (MF BASIC 10 IKA) équipé d'une grille de maille 1 mm de diamètre ; 100 g de graines broyées sont mélangées dans un réacteur agité avec 400 mL de solvant pendant une durée de 3 heures à 25°C. Le mélange liquide-solide est filtré et l'opération est répétée 3 fois sur le solide afin d'épuiser sa concentration en azadirachtine. Les filtrats sont mélangés et centrifugés pendant 10 minutes à l'aide d'une centrifugeuse Sigma 6K15, sous une accélération de 8 000 g à une température de 20°C. Le surnageant est concentré sous vide à 40°C à l'aide d'un évaporateur rotatif jusqu'à un volume proche de 100 mL et dilué par un volume équivalent d'eau.
- **Purification de l'extrait** : Une première extraction liquide/liquide est effectuée en ampoule à décanter par un volume égal d'hexane afin d'éliminer la fraction lipidique entraînée par le solvant d'extraction. Cette opération est répétée trois fois. Une seconde extraction liquide/liquide est effectuée en ampoule à décanter par un volume équivalent de dichlorométhane afin de récupérer l'azadirachtine. Cette opération est aussi répétée trois fois. Les trois extraits au dichlorométhane sont ensuite concentrés sous vide et à sec à l'évaporateur rotatif (40°C) et le solide est récupéré dans l'acétonitrile.
- **Dosage de l'azadirachtine** : l'azadirachtine est dosé par Chromatographie Liquide Haute Performance (**Partie expérimentale V.1.12.1**).

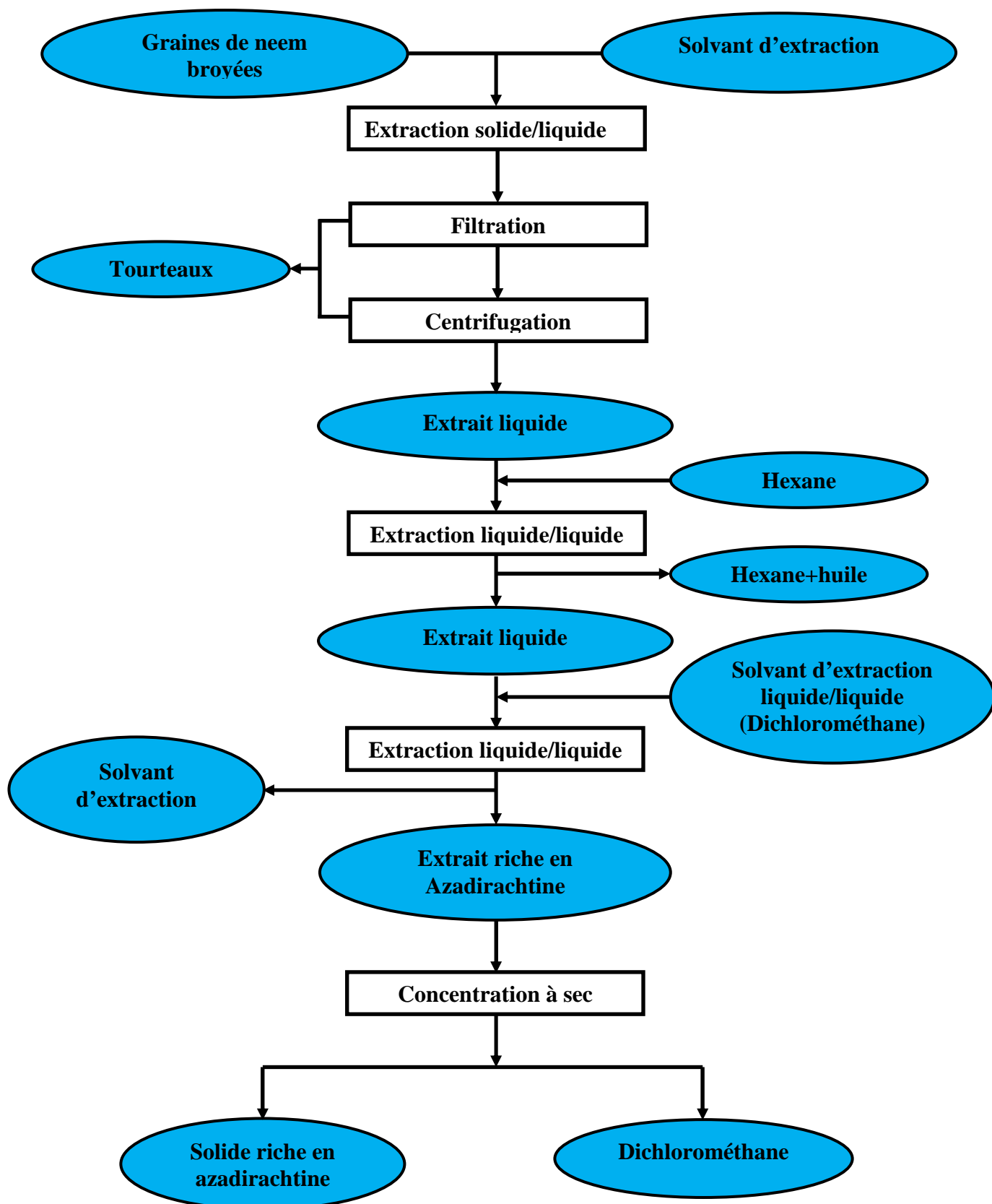


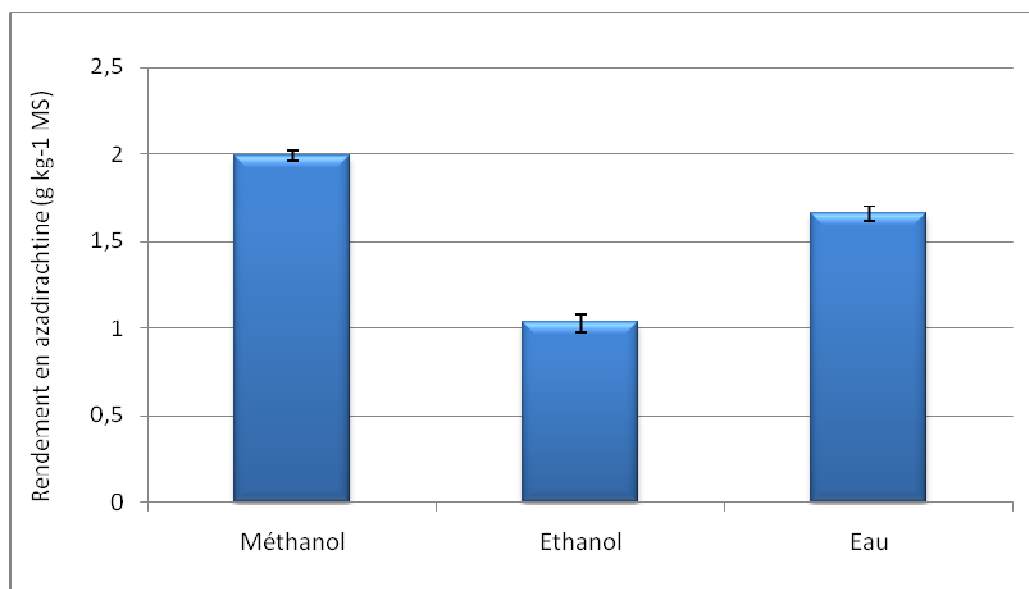
Figure II-8 : Schéma du procédé d'extraction et de purification de l'azadirachtine à partir des graines de neem

### II.3.2. Choix du solvant d'extraction liquide/solide

Le choix du solvant pour un procédé d'extraction liquide/solide doit tenir compte de plusieurs caractéristiques du solide et bien sûr du soluté à extraire. De façon générale, un bon solvant d'extraction doit être sélectif, posséder une grande capacité de diffusion dans le solide et de dissolution du soluté, une température d'ébullition peu élevée, une faible viscosité et être, si possible, non cancérigène, non toxique, ininflammable et non explosif.

Compte tenu des caractéristiques structurales de l'azadirachtine (LEY et al., 1993) et des études antérieures effectuées (JOHNSON et al., 1997 ; GOVINDACHARI et al., 1990 ; YAMASAKI et al., 1986 ; KUMAR et PAMAR, 1996), trois solvants potentiellement intéressants ont été comparés (**Figure II-9**).

Cette étude est effectuée sur les graines provenant du lot2008.



*Graines broyées à 2 mm : 100 g ; volume solvant : 400 mL ; durée : 3 heures ; température : 25°C, Extraction répétée 3 fois*

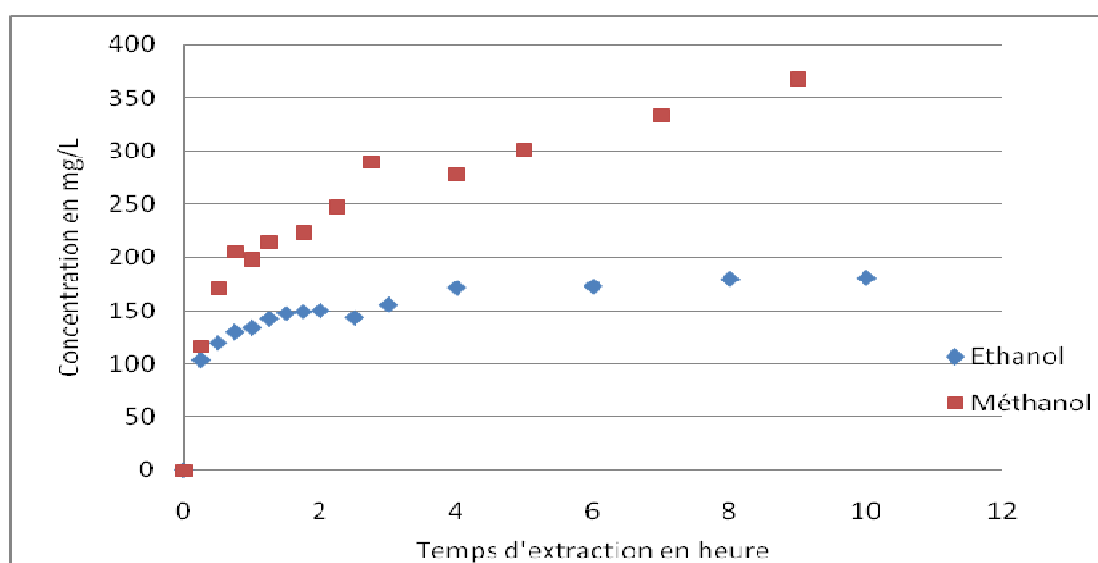
**Figure II-9** : Rendements d'extraction en azadirachtine à partir de graines entières broyées dans l'eau, l'éthanol et le méthanol

L'eau est un bon solvant de l'azadirachtine : près de 1,7 g.kg<sup>-1</sup> sont extraits par kilogramme de graines broyées. Cependant, la présence d'une forte proportion de lipides dans la graine perturbe les échanges et la séparation liquide/solide du fait de la formation d'une émulsion.

Nous reviendrons dans le **Chapitre IV** sur l'adaptation du protocole d'extraction à l'eau en vue de définir un nouveau procédé de fractionnement des graines.

L'éthanol ne conduit pas à des rendements satisfaisants ( $1 \text{ g.kg}^{-1}$  de graines broyées), deux fois plus faible que le méthanol ( $2 \text{ g.kg}^{-1}$  de graines broyées).

Cette différence d'efficacité de ces deux solvants est confirmée par l'étude de la cinétique d'extraction (**Figure II-10**). Dans un cas comme dans l'autre, l'extraction de l'azadirachtine est rapide dès la mise en contact (50% de l'azadirachtine potentiellement extractible l'est au bout de 25 min respectivement pour l'éthanol et le méthanol correspondant à  $0,59$  et  $1,03 \text{ g.kg}^{-1}$  de graines sèches.



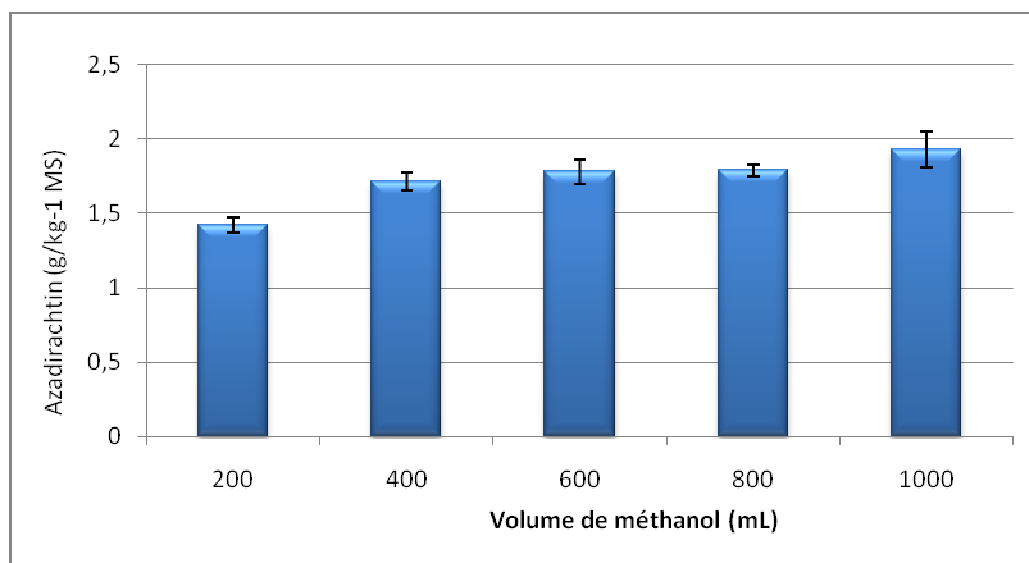
*Graines broyées à 2 mm : 200 g ; volume solvant : 1000 mL ; température : 25°C*

**Figure II-10** : Cinétiques d'extraction de l'azadirachtine des graines de neem par le méthanol et l'éthanol

Ceci pourrait traduire la solubilisation et la diffusion rapide dans ces solvants de la fraction d'azadirachtine directement accessible dans les particules de graines broyées à 1 mm. Par contre, dans l'éthanol, l'extraction atteint rapidement un palier, alors que dans le méthanol elle se poursuit régulièrement jusqu'à des valeurs de rendement deux fois plus élevées ( $0,90 \text{ g.kg}^{-1}$  dans l'éthanol pour  $1,85 \text{ g.kg}^{-1}$  dans le méthanol au bout de 9 heures de contact. Sans écarter l'hypothèse d'une saturation du solvant éthanol, il apparaît que la diffusion du méthanol dans les particules de graines broyées est nettement plus efficace.

Le rendement d'extraction de l'azadirachtine dans le méthanol est bien sûr sensible au taux de solvant (**Figure II-11**), et la répétition de 3 extractions successives avec un rapport

liquide/solide de 4 permet de considérer que la totalité de l'azadirachtine présente dans la graine de neem est extraite.



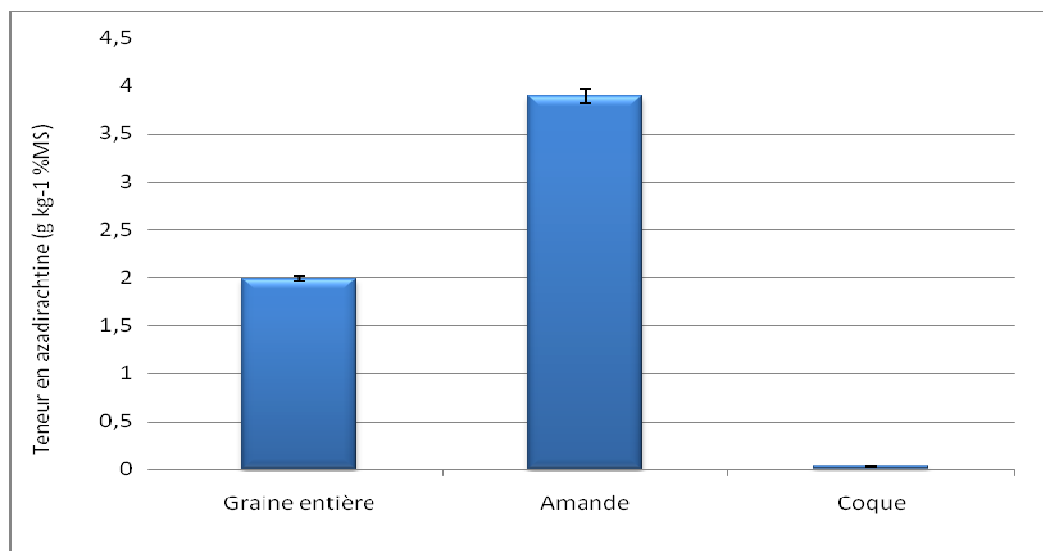
Graines broyées à 2 mm : 100 g ; durée : 4 heures ; température : 25°C

**Figure II-11** : Rendement d'extraction de l'azadirachtine des graines de neem en fonction du taux de solvant méthanol

### II.3.3. Distribution de la teneur en azadirachtine dans la graine de neem

Le dosage de l'azadirachtine dans la graine entière de neem, l'amande et la coque de neem (lot2008) selon le protocole ainsi défini (**Figure II-12**) montre que, comme c'est le cas pour l'huile, la quasi-totalité de l'azadirachtine se retrouve dans l'amande ( $3,86 \pm 0,07 \text{ g.kg}^{-1}$  d'amande et  $0,03 \pm 0,002 \text{ g.kg}^{-1}$  de coque). Cette teneur en azadirachtine dans l'amande est légèrement supérieure à celle donnée par ERMEL et al., (1984, 1987) pour le neem sénégalais ( $3,3 \text{ g.kg}^{-1}$ ). En plus la teneur en azadirachtine du neem sénégalais que nous avons étudié se situe dans la moyenne des valeurs moyennes données pour les amandes de neem d'autres régions du monde (**CHAPITRE I : Paragraphe I. 2. 3. 2**).





*Graines broyées à 2 mm : 100 g ; volume solvant : 400 mL ; durée : 3 heures ; température : 25°C, Extraction répétée 3 fois*

**Figure II-12 :** Distribution de l'azadirachtine dans les différentes parties de la graine de neem

## II.4. CONCLUSION

Les résultats obtenus montrent que le neem Sénégalais est riche en huile (32%) et en azadirachtine (2 g.kg<sup>-1</sup>), comparé au neem indien ou mexicain. Ces composés sont localisés essentiellement dans l'amande (près de 4 g.kg<sup>-1</sup> d'azadirachtine, 55% d'huile) de même que les protéines (20,07% dans l'amande contre 12% dans la graine). Le contraire est observé pour les composés pariétaux (cellulose, lignines et hémicellulose) qui représentent 87% des coques et ne représentent que 6% des amandes du lot2007.

L'huile extraite des graines de neem est caractérisée par une forte teneur en  $\beta$ -sitostérol représentant 64 à 68% des phytostérols. Les fractions de phytostérols représentent 3,73 et 3,93g.kg<sup>-1</sup> d'huile respectivement pour les lot2007 et lot2008.

La composition en acides gras révèle la présence de 14 acides gras dont l'acide oléique est majoritaire (43 à 44%). Les autres acides gras majoritaires sont l'acide palmitique (18 à 19%), l'acide linoléique (15 à 17%) et l'acide stéarique (15 à 19%).

L'étude de la variabilité des teneurs en lipides et des caractéristiques des huiles extraites de graines provenant de cinq zones géographiques différentes du Sénégal (Dakar, Kaolack, Diourbel, Saint-Louis, et Tambacounda) montre globalement de faibles différences.

La présence de cette forte proportion de lipides dans la graine perturbe l'extraction directe par solvant de l'azadirachtine. Une voie envisageable pour le fractionnement de la graine serait l'extraction sélective des lipides en première étape. L'extraction liquide/solide par l'hexane

ou le n-hexane est une technique envisageable au plan industriel, mais qui, outre son impact environnemental défavorable, impose de fortes contraintes de sécurité et de coût pour les installations. Notre choix s'est donc porté dans une première approche sur la technique d'expression des huiles par pressage des graines. Cette étape du fractionnement est classiquement mise en œuvre dans les procédés de trituration des graines oléagineuses riches en huiles, l'étape d'extraction par l'hexane n'intervenant qu'ensuite pour épuisier en huile les tourteaux de pressage.



# CHAPITRE III

## **ETUDE DE L'EXPRESSION DE L'HUILE DE GRAINES DE NEEM EN EXTRUDEUR MONO ET BI-VIS**

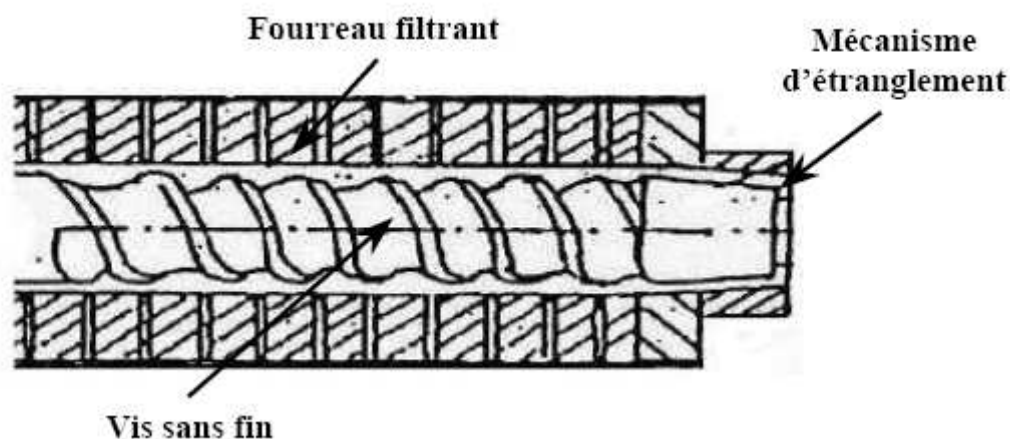


## CHAPITRE III : ETUDE DE L'EXPRESSION DE L'HUILE DE GRAINES DE NEEM EN EXTRUDEUR MONO ET BI-VIS

Comme dans le cas de toutes les graines oléagineuses, l'huile de la graine de neem est localisée dans les cellules de l'amande sous la forme de globules lipidiques. Ainsi, pour l'extraire de la graine, il s'agira donc de libérer ces gouttelettes d'huiles renfermées dans ces cellules par une action mécanique de pressage en vue d'exprimer le liquide huileux hors des cellules de l'amande, et de le séparer du gâteau solide par filtration.

Cette opération peut être réalisée dans une presse hydraulique (presse à piston), permettant d'atteindre des pressions élevées ( $500 \text{ kg m}^{-2} \approx 490,4 \text{ bars}$ ; FRANÇOIS, 1974), mais fonctionnant en discontinu par rapport à la charge de la graine et la décharge en tourteau. Ces presses, plutôt mises en œuvre pour la production d'huiles dites vierges, sont essentiellement réservées pour des productions de faible tonnage. Leur mise en œuvre pour de multiples graines a permis à plusieurs auteurs d'étudier l'influence des principaux facteurs impliqués dans l'expression de l'huile. De façon générale, l'étude des paramètres de pressage hydraulique montre que, quelque soit le type de graine oléagineuse, l'augmentation de la pression appliquée, de la température du gâteau et de la durée de pressage favorise le rendement d'expression en huile (MREMA et McNULTY, 1986; SINGH et al. 1984; ABU-ARABI et al., 2000). Cela a été mis en évidence dans le cas d'un pressage des graines de tournesol, de lin, de ricin, et de colza (LANOISELLE, 1994). L'étude effectuée par SINGH et al., (1984) sur l'effet des caractéristiques de pressage du tournesol sur la teneur résiduelle en huile dans le tourteau a montré que le facteur le plus influant est la pression, suivi de la durée de pressage puis de la température.

Les procédés industriels de trituration de graines oléagineuses mettent également en œuvre des presses à vis fonctionnant en continu. Le principe de ces presses repose sur celui de l'extrusion mono-vis : une vis sans fin, dont le pas et la profondeur des filets varie, est installée dans un fourreau drainant percé d'orifices, équipé enfin d'un dispositif d'étranglement plus ou moins rétréci qui permet de contrôler le transport du solide (FRANÇOIS, 1974). La **Figure III-1** illustre un schéma de principe des presses de type mono-vis.



**Figure III-1** : Schéma général d'une presse mono-vis

La géométrie de la vis sans fin (diamètre et gradient du diamètre, pas et profondeur des filets), sa vitesse de rotation, le réglage du cône ou de l'entrefer du mécanisme d'étranglement en sortie, sont des facteurs qui permettent de régler le taux de remplissage de la machine, et donc sa capacité, la pression dans le fourreau, et la compression radiale qui s'exerce sur la matière dans le fourreau filtrant. VADKE et SOSULSKI (1988), ont montré que des vitesses de rotation de vis minimales, une faible ouverture de l'entrefer et des températures de graines maximales sont favorables à un meilleur rendement. Plus récemment, des études ont montré que des teneurs en eau minimales dans les graines de colza, tournesol et lin étaient aussi favorables au pressage (SINGH et al., 2002 ; ZHENG et al., 2003 ; ZHENG et al., 2005).

Cependant, aucune donnée n'est disponible pour le pressage des graines de neem. Seules des presses artisanales ont souvent été utilisées pour la production d'huile de neem. Nous nous sommes proposés dans ce chapitre d'étudier son expression en extrudeur mono et bi-vis.

### **III.1 ETUDE DU PRESSAGE DE LA GRAINE DE NEEM EN PRESSE MONO-VIS**

La presse mono-vis mise en œuvre pour cette étude est une presse expérimentale de marque OMEGA 20 (**Figure III-2**).

### III.1.1. Description et principe de fonctionnement de la presse mono-vis : OMEGA 20



**Figure III-2 :** Presse mono-vis OMEGA 20

La presse OMEGA 20 est constituée d'un moteur (de 0,75 kW de puissance, 230 V de tension maximale, 5,1 A d'intensité maximale), d'une vis de longueur 18 cm, avec un pas de vis de 1,8 cm, de diamètre interne 1,4 cm et de profondeur de chenal 0,5 cm et d'un fourreau de 2,5 cm de diamètre intérieur équipé d'un filtre percé d'orifices de sortie des liquides à la fin de la vis et d'un support de buses.

La configuration du système vis fourreau permet de définir quatre zones (**Figure III-3**) :

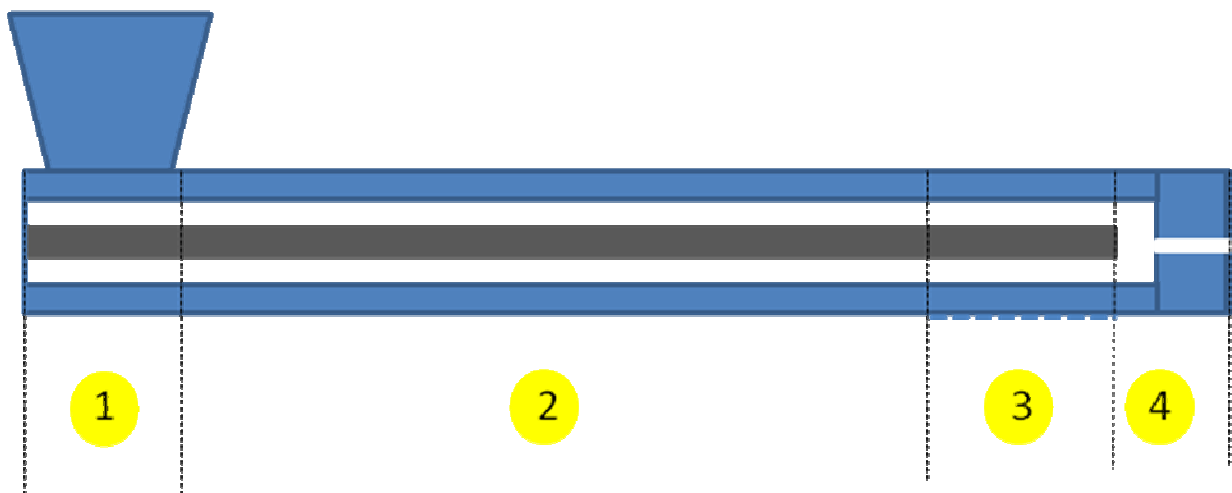
**1 Zone d'alimentation** : L'alimentation de la vis se fait par gravité. Les graines contenues dans la trémie de forme conique sont introduites à travers une colonne jusqu'à la vis qui les entraîne de manière forcée à l'intérieur du fourreau.

**2 Zone de transport** : Le transport de la matière est assuré par la vis qui tourne à l'intérieur du fourreau. L'entraînement de la vis est effectué par un moteur électrique. Dans tous les essais, la vitesse de rotation des vis, qui conditionne le débit de transport des graines, est fixée. La réduction progressive du diamètre du fourreau de 4,5 à 2,5 cm sur une longueur de 4 cm de fourreau provoque le broyage des graines.



**3 Zone de filtration** : Située entre la tête de vis et la zone de pressage de la buse, cette partie permet la séparation du liquide huileux (extrait) et du tourteau extrudé (raffinat).

**4 Zone de pressage** : C'est la zone dans laquelle est montée la buse qui définit le système d'étranglement sous la forme d'une filière d'extrusion du solide. Six types de buses, de diamètre variant de 5 à 10 mm sont disponibles. L'efficacité de la compression exercée sur le solide dépend d'une part du diamètre de la buse (orifice de sortie des tourteaux), d'autre part de la distance entre la tête de vis et l'emplacement de la buse. Cette distance définit le volume de la chambre de pressage. La matière transportée par la vis s'accumule dans cette zone et sort sous l'effet de la compression à travers la buse. Il se forme ainsi dans cette zone un bouchon : la vis, en continuant d'alimenter cette zone en matière, assure sa mise en pression sur les graines. Il s'exerce ainsi une forte pression qui exprime le liquide contenu dans la graine (huile) et densifie la matière solide. Cette compression s'accompagne d'un auto-échauffement de la matière par friction des graines.



**Figure III-3** : Zones fonctionnelles de la presse mono-vis OMEGA 20

Le fourreau de la presse OMEGA 20 n'étant pas thermostaté, la température de pressage est celle atteinte du fait de l'auto-échauffement généré au cours du pressage des graines. Elle sera relevée comme variable dépendante pour chaque essai.

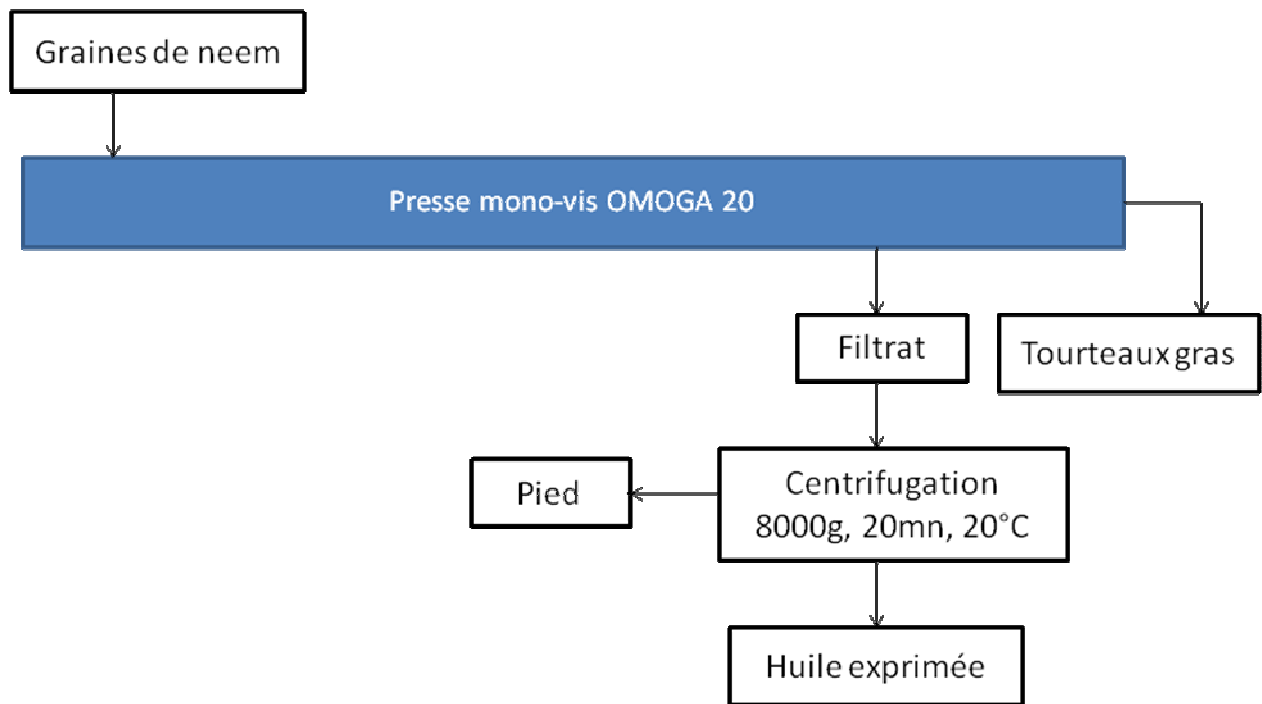
### **III.1.2 Influence des principaux facteurs sur l'expression de l'huile des graines de neem en presse mono-vis**

Les deux variables opératoires ou facteurs directement accessibles dans le dispositif expérimental de la presse OMEGA 20 sont le diamètre des buses (filière) et la distance entre la tête de vis et la buse. Pour chaque diamètre de buse (5, 6, 7, 8, 9 et 10 mm), les expériences seront réalisées pour une distance entre la tête de vis et la buse de 1, 2 et 3 cm.

Les graines de neem utilisées pour cette étude sont issues du lot2008. Les teneurs en eau, en huile et en azadirachtine sont de  $9,10\pm 0,3\%$ ,  $32,74\pm 0,38\%$  et  $1,99\pm 0,03 \text{ g.kg}^{-1}$  (**CHAPITRE II Paragraphe II.1**).

Pour chacune des expériences réalisées, les graines sont introduites dans la trémie qui alimente la machine par gravimétrie. La vitesse de rotation des vis est fixée à 23,33 rpm et le débit d'alimentation en graines est ainsi maintenu constant à  $15 \text{ g.min}^{-1}$  ( $0,9 \text{ kg.h}^{-1}$ ). La température de pressage est relevée au niveau de la zone de filtration au début et à la fin de l'expérience, lorsque la totalité des graines a été pressée.

A l'issue du régime transitoire de mise en charge de la presse (formation et stabilisation du bouchon, écoulement régulier de l'huile), une masse de 500 g de graines est introduite. Le filtrat et le tourteau sont collectés, et les masses pesées. Les contraintes mécaniques de cisaillement dans la zone de pressage génèrent la formation de fines particules, de dimension inférieure au diamètre des orifices du filtre (2 mm). Elles sont entraînées dans le filtrat avec l'huile. Le filtrat est donc centrifugé à l'aide d'une centrifugeuse Sigma 6K15 afin de séparer ces particules, couramment appelées « pied », de l'huile ainsi clarifiée et les masses sont déterminées (**Figure III-4**). Les teneurs en huile ( $T_F$ ) et de pied ( $T_P$ ) du filtrat sont déterminées par rapport à la masse totale du filtrat et celle du tourteau gras ( $L_T$ ) est déterminée par extraction au soxhlet (**Partie expérimentale V.1.6**). Les teneurs en matières minérales ( $M_T$ ) et en protéines ( $P_T$ ) sont aussi déterminées.



**Figure III-4 :** Représentation schématique du procédé d’expression de l’huile des graines de neem en presse mono-vis OMEGA 20

Les réponses du système étudié sont :

- Le rendement en huile recueillie après centrifugation ( $\mathbf{R_G}$ ), exprimé par rapport à la masse de graines sèches introduites

$$\mathbf{R_G} (\%) = 100 \times \frac{\mathbf{M_F} \times \mathbf{T_F}}{\mathbf{M_{G_s}}} \quad \text{avec}$$

$\mathbf{M_F}$  : Masse du filtrat (g)

$\mathbf{M_{G_s}}$  : Masse de graines sèches introduites (g)

$\mathbf{T_F}$  : Teneur en huile du filtrat (%)

- Le rendement en huile recueillie après centrifugation ( $\mathbf{R_H}$ ), exprimé par rapport à l’huile introduite contenue dans les graines

$$\mathbf{R_H} (\%) = 100 \times \frac{\mathbf{M_F} \times \mathbf{T_F}}{\mathbf{M_{G_s}} \times \mathbf{T_{G_s}}} \quad \text{avec}$$

$\mathbf{T_{G_s}}$  : Teneur en huile de la graine par rapport à la matière sèche (%)

- Le rendement total en huile exprimée ( $\mathbf{R}_T$ ) calculé à partir de l'huile résiduelle contenue dans les tourteaux

$$\mathbf{R}_T (\%) = 100 \times \frac{(\mathbf{M}_{G_s} \times \mathbf{T}_{G_s}) - (\mathbf{M}_{T_s} \times \mathbf{T}_{T_s})}{\mathbf{M}_{G_s} \times \mathbf{T}_{G_s}} \text{ avec}$$

$\mathbf{M}_{T_s}$  : Masse de tourteau sèche recueillie (g)

$\mathbf{T}_{T_s}$  : Teneur en huile du tourteau (%)

Les résultats obtenus pour les 18 expériences réalisées sont rassemblés dans le **Tableau III-1**.

**Tableau III-1** : Résultats expérimentaux obtenus pour l'expression de l'huile des graines de neem par la presse mono-vis OMEGA 20

	Essai 1	Essai 2	Essai 3	Essai 4	Essai 5	Essai 6	Essai 7	Essai 8	Essai 9
<b>Conditions opératoires</b>									
Diamètre buse (mm)	5	5	5	6	6	6	7	7	7
Distance buse-vis (cm)	1	2	3	1	2	3	1	2	3
Masse de graines (g)	500	500	500	500	500	500	500	500	500
Température initiale (°C)	22,2	52,2	60,7	47,9	54,1	-	42,1	49,1	56,8
Température finale (°C)	53,3	64,5	69,5	55,5	58,5	-	51,9	58,4	61,2
<b>Filtrat</b>									
Masse du filtrat (g)	86,5	89,1	89,0	88,8	89,6	86,8	86,9	88,0	90,0
T <sub>H</sub> (%)	67,97	68,8	70,12	70,38	71,26	76,24	70,25	74,64	76,19
T <sub>P</sub> (%)	32,03	31,2	29,88	29,62	28,74	23,76	29,75	25,36	23,81
T <sub>HP</sub> (%MS)	79,95	-	77,54	69,30	71,07	74,04	68,20	71,28	77,80
<b>Tourteaux</b>									
Masse Tourteaux (g)	409	396,7	394,5	401,1	392,1	396,8	412,0	399,6	399,9
H <sub>T</sub> (%)	8,30±0,09	8,29±0,06	8,75±0,12	8,35±0,10	8,36±0,08	8,42±0,11	9,02±0,14	8,76±0,07	8,75±0,03
M <sub>T</sub> (%MS)	4,43±0,07	4,63±0,12	4,84±0,09	4,85±0,06	5,01±0,05	5,17±0,17	4,57±0,02	4,91±0,07	4,98±0,36
L <sub>T</sub> (%MS)	14,34±0,35	14,95±0,24	15,22±0,12	16,22±0,15	14,49±0,16	15,12±0,42	16,41±0,22	14,71±0,24	13,73±0,18
P <sub>T</sub> (%MS)	12,47±0,31	14,03±0,12	12,62±0,63	12,88±0,94	12,39±0,30	13,35±0,14	12,42±0,70	13,84±0,43	13,90±0,28
<b>Rendement en huile</b>									
<b>R<sub>G</sub> (%MS)</b>	<b>12,92</b>	<b>13,47</b>	<b>13,72</b>	<b>13,74</b>	<b>14,03</b>	<b>14,54</b>	<b>13,42</b>	<b>14,44</b>	<b>15,07</b>
<b>R<sub>H</sub> (%MS)</b>	<b>40,38</b>	<b>42,10</b>	<b>42,86</b>	<b>42,92</b>	<b>43,85</b>	<b>45,45</b>	<b>41,93</b>	<b>45,11</b>	<b>47,10</b>
<b>R<sub>T</sub> (%MS)</b>	<b>63,34</b>	<b>62,93</b>	<b>62,47</b>	<b>59,34</b>	<b>64,49</b>	<b>65,34</b>	<b>57,74</b>	<b>63,26</b>	<b>65,68</b>

*T<sub>H</sub> est la teneur en huile du filtrat ; T<sub>P</sub> est la teneur en pied du filtrat ; L<sub>P</sub> est la teneur en huile du pied ; H<sub>T</sub> est l'humidité du tourteau ; M<sub>T</sub> est la teneur en matière minérale du tourteau ; L<sub>T</sub> est la teneur en lipide du tourteau ; P<sub>T</sub> est la teneur en protéine du tourteau ; R<sub>G</sub> est le rendement en huile exprimée, calculé par rapport à la graine ; R<sub>H</sub> est le rendement en huile exprimée, calculé par rapport à l'huile ; R<sub>T</sub> est le rendement en huile exprimée, calculé par rapport à l'huile résiduelle du tourteau.*

**Tableau III-1 (Suite)**: Résultats expérimentaux obtenus pour l'expression de l'huile des graines de neem par la presse mono-vis OMEGA 20

	Essai 10	Essai 11	Essai 12	Essai 13	Essai 14	Essai 15	Essai 16	Essai 17	Essai 18
<b>Conditions opératoire</b>									
Diamètre buse (mm)	8	8	8	9	9	9	10	10	10
Distance buse-vis (cm)	1	2	3	1	2	3	1	2	3
Masse graines (g)	500	500	500	500	500	500	500	500	500
Température initiale (°C)	42,2	46,1	52,5	32,39	41,7	42,6	43,1	43,9	43,7
Température finale (°C)	47,2	53,7	59,9	41,8	51,1	53,0	46,0	47,0	50,8
<b>Filtrat</b>									
Masse de filtrat (g)	55,5	77,1	88,1	38,6	66,8	82,9	31,5	54,0	71,1
T <sub>H</sub> (%)	79,35	81,62	83,19	80,83	81,86	83,34	82,8	84,45	85,51
T <sub>P</sub> (%)	20,65	18,38	16,81	19,17	18,14	16,66	17,2	15,55	14,49
L <sub>P</sub> (%MS)	69,76	68,28	72,95	83,14	57,53	79,80	67,51	70,00	71,32
<b>Tourteaux</b>									
Masse tourteaux (g)	438,3	408,0	407,3	474,3	424,9	407,3	460,3	428,9	424,1
H <sub>T</sub> (%)	8,97±0,14	10,25±0,11	9,92±0,18	8,7±0,14	9,05±0,17	8,85±0,24	8,71±0,11	9,25±0,03	9,10±0,03
M <sub>T</sub> (%MS)	4,59±0,12	5,09±0,15	4,93±0,14	4,48±0,31	4,74±0,02	4,93±0,40	4,54±0,19	4,89±0,05	4,88±0,12
L <sub>T</sub> (%MS)	22,52±0,11	17,3±0,37	15,38±0,10	24,12±0,45	20,07±0,54	14,23±0,34	22,68±0,15	21,27±0,32	18,87±0,12
P <sub>T</sub> (%MS)	13,29±0,53	12,19±0,32	12,63±0,66	12,42±0,39	13,55±0,26	13,15±0,34	12,62±0,27	13,25±0,24	13,49±0,62
<b>Rendement en huile</b>									
<b>R<sub>G</sub> (%MS)</b>	<b>9,68</b>	<b>13,83</b>	<b>16,11</b>	<b>6,86</b>	<b>12,02</b>	<b>15,18</b>	<b>5,73</b>	<b>10,02</b>	<b>13,36</b>
<b>R<sub>H</sub> (%MS)</b>	<b>30,25</b>	<b>43,22</b>	<b>50,34</b>	<b>21,43</b>	<b>37,56</b>	<b>47,45</b>	<b>17,91</b>	<b>31,32</b>	<b>41,76</b>
<b>R<sub>T</sub> (%MS)</b>	<b>38,31</b>	<b>55,89</b>	<b>60,85</b>	<b>28,50</b>	<b>46,70</b>	<b>63,78</b>	<b>34,75</b>	<b>42,98</b>	<b>49,98</b>

*T<sub>H</sub> est la teneur en huile du filtrat ; T<sub>P</sub> est la teneur en pied du filtrat ; L<sub>P</sub> est la teneur en huile du pied ; H<sub>T</sub> est l'humidité du tourteau ; M<sub>T</sub> est la teneur en matière minérale du tourteau ; L<sub>T</sub> est la teneur en lipide du tourteau ; P<sub>T</sub> est la teneur en protéine du tourteau ; R<sub>G</sub> est le rendement en huile exprimée, calculé par rapport à la graine ; R<sub>H</sub> est le rendement en huile exprimée, calculé par rapport à l'huile ; R<sub>T</sub> est le rendement en huile exprimée, calculé par rapport à l'huile résiduelle du tourteau.*

### III.1.2.1 Construction d'un plan d'expérience

Le plan d'expériences choisi est construit à partir d'une matrice de Doehlert dans le domaine expérimental rapporté dans le **Tableau III-2**.

**Tableau III-2** : Domaine expérimental pour l'étude de l'influence de la distance tête de vis-buse et du diamètre de buse sur le fractionnement des graines de neem par presse mono-vis OMEGA 20

Facteur	Unité	Centre du domaine $U_1^0$	Pas de variation $\Delta U_1$	Domaine
$U_1$ : Distance buse-vis	cm	2	1	1-3
$U_2$ : Diamètre buse	mm	7,5	2,5	5-10

Les réponses étudiées pour ce plan d'expériences sont le rendement en huile ( $\mathbf{R}_G$ ) exprimé par rapport à la graine introduite, le rendement en huile ( $\mathbf{R}_H$ ) exprimé par rapport à l'huile contenue dans la graine, le rendement en huile exprimée ( $\mathbf{R}_T$ ) calculé à partir de l'huile résiduelle contenue dans les tourteaux, le taux de pied dans le filtrat ( $\mathbf{T}_p$ ), la teneur en huile résiduelle dans le tourteau ( $\mathbf{L}_T$ ) et la teneur en protéines dans le tourteau ( $\mathbf{P}_T$ ). Le **Tableau III-3** rassemble les conditions opératoires et les résultats expérimentaux. Ces résultats permettent de calculer les coefficients d'un modèle polynomial du second degré reliant les réponses étudiées aux deux facteurs (ANNEXE 3).

**Tableau III-3 :** Matrice codée et variables explicites du plan d'expériences pour le fractionnement des graines de neem par presse mono-vis OMEGA 20

N° Essai	Distance buse-vis (cm)		Diamètre buse (mm)		R <sub>G</sub>	R <sub>H</sub>	R <sub>T</sub>	L <sub>T</sub>	P <sub>T</sub>	T <sub>P</sub>
	U <sub>1</sub>	X <sub>1</sub>	U <sub>2</sub>	X <sub>2</sub>	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)
1	1	-1	5	-1	12,92	40,38	62,34	14,34	12,47	32,03
2	2	0	5	-1	13,47	42,1	62,93	14,95	14,03	31,2
3	3	1	5	-1	13,72	42,86	63,47	14,22	12,62	29,88
4	1	-1	6	-0,6	13,74	42,92	59,34	16,22	12,88	29,62
5	2	0	6	-0,6	14,03	43,85	64,49	14,49	12,39	28,74
6	3	1	6	-0,6	14,54	45,45	65,34	15,12	13,35	23,76
7	1	-1	7	-0,2	13,42	41,93	57,74	16,41	12,42	29,75
8	2	0	7	-0,2	14,44	45,11	63,26	14,71	13,84	25,36
9	3	1	7	-0,2	15,07	47,1	65,68	13,73	13,90	23,81
10	1	-1	8	0,2	9,68	30,25	38,31	22,52	13,29	20,65
11	2	0	8	0,2	13,83	43,22	55,89	17,3	12,19	18,38
12	3	1	8	0,2	16,11	50,34	60,85	15,38	12,63	16,81
13	1	-1	9	0,6	6,86	21,43	28,5	24,12	12,42	19,17
14	2	0	9	0,6	12,02	37,56	46,7	20,07	13,55	18,14
15	3	1	9	0,6	15,18	47,45	63,78	14,23	13,15	16,66
16	1	-1	10	1	5,73	17,91	34,75	22,68	12,62	17,2
17	2	0	10	1	10,02	31,32	42,98	21,27	13,25	15,55
18	3	1	10	1	13,36	41,76	49,98	18,87	13,49	14,49

Le calcul des coefficients montre que les modèles peuvent s'écrire (ANNEXE 3).

$$R_G = 14,018 + 2,136X_1 - 1,136X_2 - 1,978X_1^2 - 0,441X_2^2 + 2,196X_1X_2$$

$$R_H = 43,803 + 6,678X_1 - 6,177X_2 - 1,378X_1^2 - 7,024X_2^2 + 6,866X_1X_2$$

$$R_T = 58,000 + 7,343X_1 - 11,604X_2 - 1,868X_1^2 - 4,187X_2^2 + 6,179X_1X_2$$

$$L_T = 16,659 - 2,062X_1 + 3,445X_2 + 0,188X_1^2 - 1,012X_2^2 + 1,760X_1X_2$$

$$P_T = 13,176 + 0,253X_1 + 0,014X_2 - 0,272X_1^2 + 0,062X_2^2 + 0,081X_1X_2$$

$$T_P = 22,4438 - 1,906X_1 - 8,024X_2 - 0,064X_1^2 - 0,969X_2^2 + 0,329X_1X_2$$



### III.1.2.2 Influence du diamètre de la buse et de la distance tête de vis-buse sur les rendements d'expression de l'huile

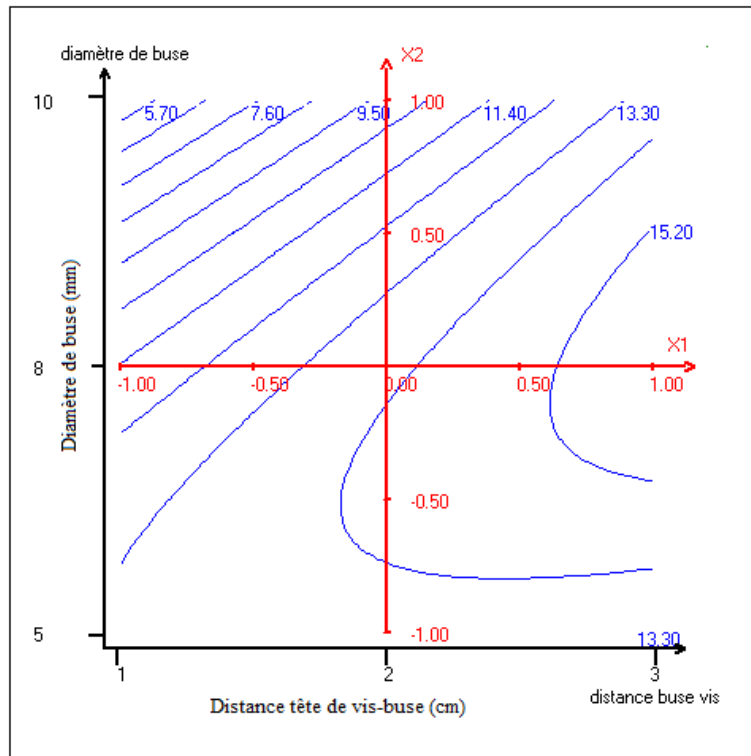
Les courbes d'isoreponse du rendement en huile exprimée et séparée par rapport à la graine ( $R_G$  : **Figure III-5**) et par rapport à l'huile contenue initialement dans la graine ( $R_H$  : **Figure III-6**) mettent en évidence l'influence prépondérante de la distance vis-buse lorsque le diamètre de buse est supérieur à 8 mm. La diminution du diamètre de buse, qui augmente la pression exercée sur la matière est alors favorable au rendement d'expression. Dans ces conditions d'expression, et pour chaque diamètre de buse, l'augmentation de la distance vis-buse se traduit directement par une augmentation du volume de matière comprimée dans la zone de passage  $V_P$  de 4,91 à 14,72 cm<sup>3</sup> (pour une distance de 1 à 3 cm). Sous l'hypothèse raisonnable que le diamètre de la buse définit la pression exercée dans la zone de passage, à débit de graine constant (15 g.min<sup>-1</sup>), le temps de séjour de la matière comprimée peut être estimé par la relation.

$$T_s = \frac{V \times D_T}{Q_T} \quad \text{avec}$$

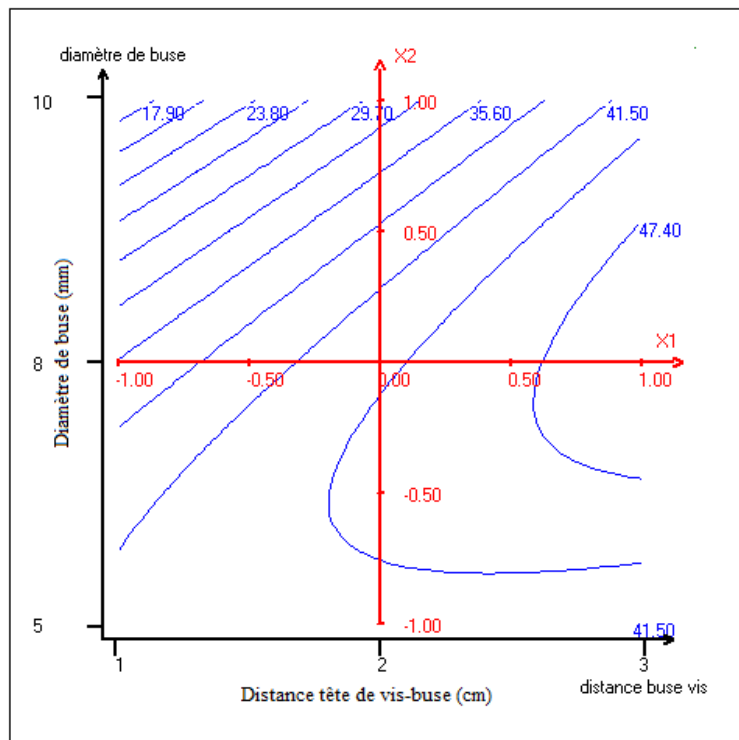
$Q_T$  le débit de tourteau extrudé (g.min<sup>-1</sup>)

$D_T$  sa masse volumique (g.cm<sup>-3</sup>) dans la zone de pression

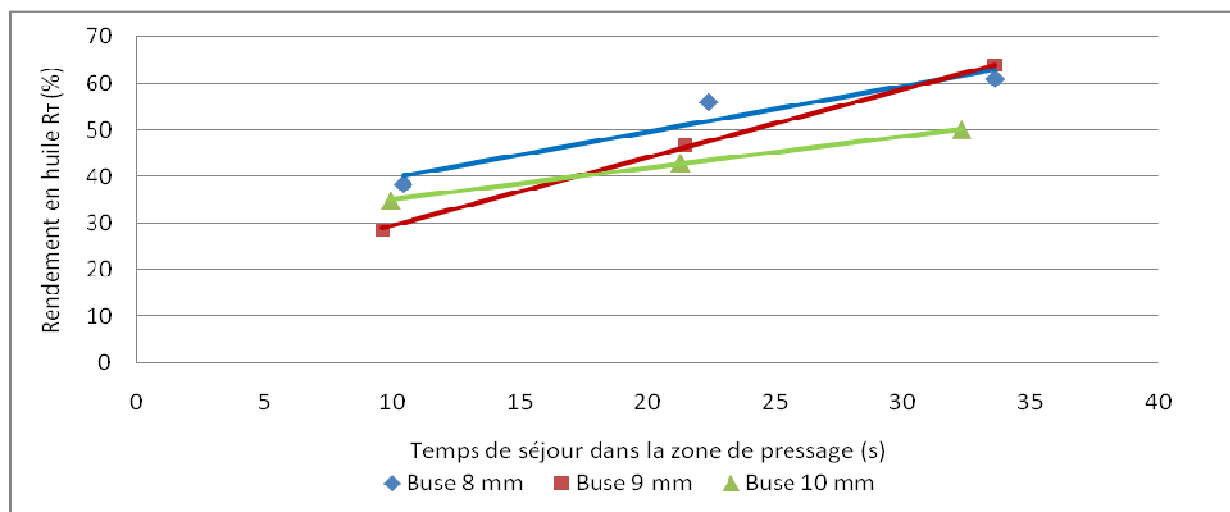
Le rendement en huile exprimée et séparée, pour un diamètre de buse supérieur ou égal à 8 mm apparait alors bien proportionnel au temps de séjour dans la zone de compression (**Figure III-7**).



**Figure III-5 :** Courbes d'isoréponse du rendement  $R_G$  pour l'expression de l'huile de graines de neem en presse mono-vis OMEGA 20



**Figure III-6 :** Courbes d'isoréponse du rendement  $R_H$  pour l'expression de l'huile de graines de neem en presse mono-vis OMEGA 20

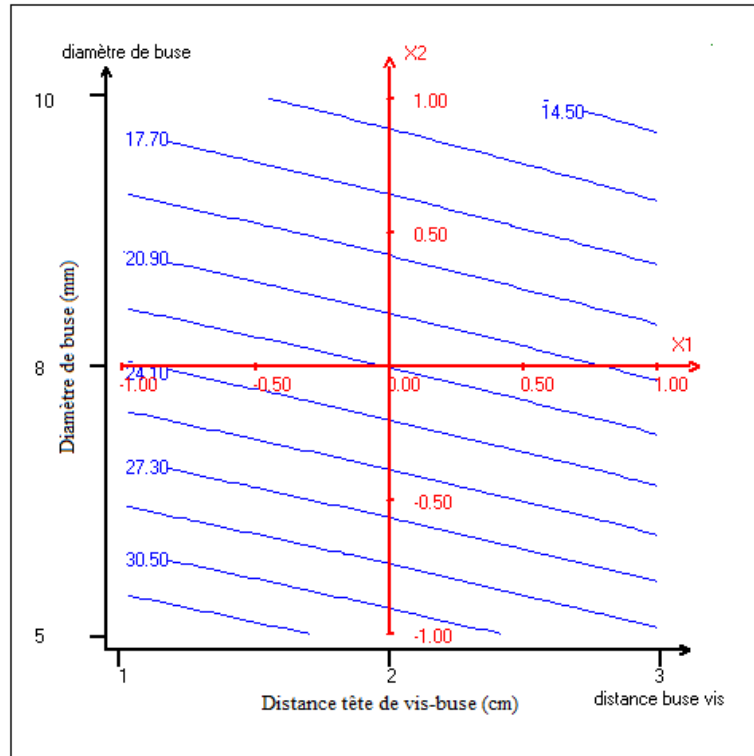


**Figure III-7** : Rendement en huile  $R_T$  en fonction du temps de séjour de la matière dans la zone de pression

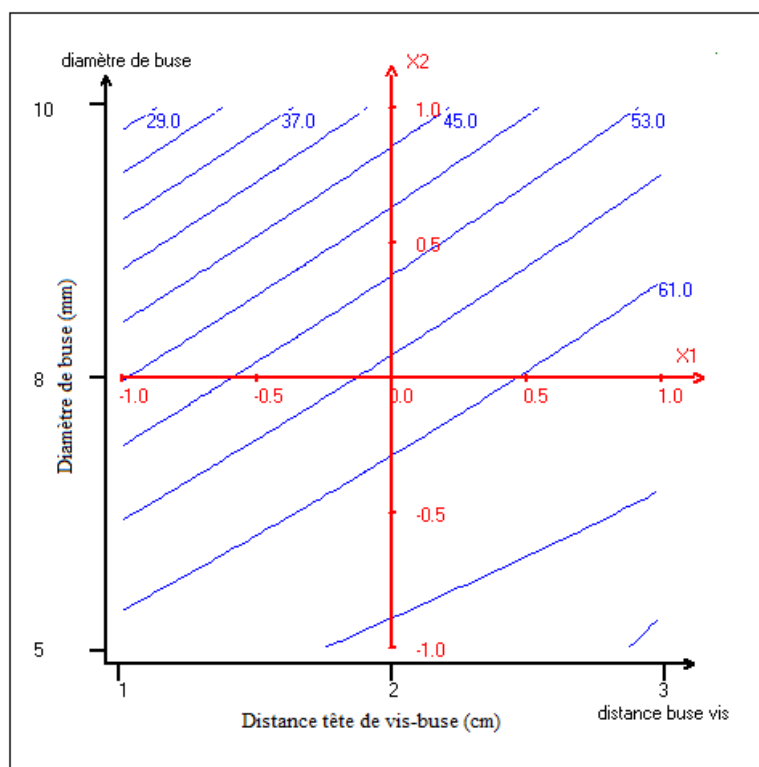
Par contre, le rendement  $R_H$  passe par un maximum, proche de 50%, pour la buse de 8 mm et une distance vis-buse de 3 cm ; et paradoxalement, la diminution du diamètre de buse, qui augmenterait la pression exercée sur les graines, ne se traduit plus par de meilleures valeurs de  $R_G$  et  $R_H$ , même en augmentant la distance vis-buse, et donc le temps de séjour dans la zone de compression. La diminution des rendements en huile séparée après centrifugation du filtrat peut s'expliquer alors par l'augmentation de la teneur en particules solides entraînées à travers le filtre ( $T_p$  : **Figure III-8**) dont la teneur en huile reste élevée (57 à 80%). La diminution du diamètre de buse augmente le cisaillement de la matière et favorise l'apparition de fines particules entraînées avec l'huile. Remarquons cependant que la diffusion de l'huile à travers la matrice de graines comprimées est apparemment plus rapide que celle des particules, puisque systématiquement l'augmentation du temps de séjour dans la zone de compression, par augmentation de la distance vis-buse, diminue le taux de particules entraînées, et augmente bien le rendement en huile. Une solution pour limiter cet entrainement serait alors de diminuer le diamètre des trous de la zone de filtration.

L'analyse des courbes d'isoréponse du rendement en huile exprimée, calculé par rapport à la teneur en huile résiduelle des tourteaux extrudés ( $R_T$  : **Figure III-9**), qui ne tient pas compte de pertes en huile lors de la centrifugation du pied, montre alors que des valeurs supérieures à 65% d'huile exprimée sont atteintes, pour un diamètre de buse de 7 mm et un temps de séjour maximum (distance vis-buse 3 mm). Pour autant, la diminution du diamètre de buse

n'améliore pas ce résultat. L'augmentation de la température, du fait de l'auto-échauffement de la matière par friction et compression, qui est un facteur favorable à l'écoulement de l'huile par diminution de sa viscosité, n'améliore pas le rendement.



**Figure III-8 :** Courbes d'isoréponse du taux de pied dans le filtrat  $T_p$  pour l'expression de l'huile de graines de neem en presse mono-vis OMEGA 20



**Figure III-9 :** Courbes d'isoreponse du rendement  $R_T$  pour l'expression de l'huile de graines de neem en presse mono-vis OMEGA 20

### III.1.2.3 Influence du diamètre de la buse et de la distance tête de vis-buse sur les caractéristiques de l'huile exprimée

L'analyse des compositions en acides gras des huiles exprimées pour l'ensemble des points du plan d'expérience (**Tableau III-4**) montre que la répartition des acides gras majoritaires est très proche de celle déterminée dans les huiles extraites au cyclohexane à partir des graines entières (**Chapitre II Tableau II-5**), et ne varie pas de façon significative en fonction des deux facteurs étudiés pour le pressage (**Tableau III-5**).

**Tableau III-4 :** Composition en acides gras des huiles obtenues par expression des graines de neem en presse mono-vis OMEGA 20 dans les conditions du plan d'expérience

Acides gras (%)	Buse 5 mm			Buse 6 mm			Buse 7 mm		
	Essai 1	Essai 2	Essai 3	Essai 4	Essai 5	Essai 6	Essai 7	Essai 8	Essai 9
Acide myristique	0,08±0,01	0,07±0,01	0,07±0,01	0,05±0,01	0,06±0,01	0,06±0,01	0,06±0,01	0,07±0,01	0,06±0,01
Acide pentadécanoïque	0,17±0,01	0,20±0,00	0,16±0,01	0,13±0,01	0,13±0,02	0,14±0,01	0,16±0,03	0,14±0,03	0,13±0,01
Acide palmitique	16,65±0,02	16,99±0,11	16,65±0,23	16,18±0,14	16,85±0,43	16,57±0,54	16,99±0,02	16,89±0,08	16,57±0,51
Acide palmitoléique	0,14±0,00	0,14±0,00	0,14±0,01	0,02±0,00	0,01±0,00	0,02±0,01	0,02±0,01	0,08±0,08	0,02±0,01
Acide heptadécaloïque	0,15±0,01	0,15±0,01	0,14±0,03	0,18±0,05	0,20±0,06	0,20±0,03	0,23±0,09	0,23±0,04	0,20±0,04
Acide stéarique	17,31±0,74	16,07±0,11	16,80±0,43	16,98±0,23	16,55±0,64	16,95±0,33	16,63±0,10	16,78±0,02	17,03±0,44
Acide élaidique	0,50±0,13	0,18±0,04	0,40±0,05	0,20±0,03	0,17±0,05	0,18±0,03	0,15±0,04	0,21±0,02	0,20±0,02
Acide oléique	43,90±0,23	44,63±0,06	44,10±0,45	43,99±0,65	44,79±0,76	44,40±0,18	44,42±0,26	44,39±0,09	44,38±0,35
Acide pétrosélenique	0,16±0,02	0,17±0,01	0,17±0,01	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00
Acide linoléique	19,19±0,51	19,61±0,28	19,57±0,32	19,46±0,12	19,36±0,11	19,49±0,04	19,44±0,09	19,31±0,21	19,44±0,01
Acide arachidique	1,25±0,03	1,28±0,00	1,27±0,03	1,47±0,06	1,30±0,03	1,39±0,11	1,30±0,02	1,32±0,01	1,39±0,10
Acide linoléinique	0,50±0,04	0,53±0,04	0,53±0,02	0,51±0,03	0,50±0,01	0,52±0,01	0,52±0,01	0,50±0,01	0,50±0,02
Acide gadoléique	0,00±0,00	0,00±0,00	0±0,00	0,08±0,00	0,08±0,00	0,08±0,00	0,09±0,00	0,09±0,01	0,09±0,01

**Tableau III-4 (suite) :** Composition en acides gras des huiles obtenues après expression des graines de neem en presse mono-vis OMEGA 20

Acides gras	Buse 8 mm			Buse 9 mm			Buse 10 mm		
	Essai 10	Essai 11	Essai 12	Essai 13	Essai 14	Essai 15	Essai 16	Essai 17	Essai 18
Acide myristique	0,06±0,01	0,06±0,00	0,06±0,00	0,06±0,01	0,04±0,01	0,06±0,00	0,05±0,01	0,06±0,01	0,05±0,00
Acide pentadécanoïque	0,14±0,01	0,13±0,00	0,14±0,00	0,14±0,01	0,26±0,00	0,24±0,01	0,26±0,01	0,25±0,00	0,24±0,01
Acide palmitique	16,78±0,10	16,84±0,06	16,91±0,04	17,14±0,34	16,95±0,06	17,08±0,08	16,83±0,01	16,92±0,13	16,81±0,01
Acide palmitoléique	0,02±0,01	0,02±0,01	0,02±0,00	0,03±0,01	0,13±0,00	0,14±0,00	0,13±0,01	0,13±0,01	0,14±0,00
Acide heptadécaloïque	0,18±0,04	0,17±0,01	0,17±0,02	0,27±0,05	0,01±0,01	0,01±0,01	0,01±0,00	0,01±0,00	0,02±0,01
Acide stéarique	16,58±0,04	16,47±0,04	16,73±0,07	16,70±0,08	16,70±0,02	16,64±0,09	16,75±0,12	16,68±0,15	16,52±0,16
Acide élaidique	0,16±0,01	0,17±0,01	0,15±0,01	0,13±0,01	0,13±0,00	0,15±0,00	0,11±0,01	0,12±0,02	0,12±0,01
Acide oléique	44,82±0,06	44,81±0,19	44,32±0,04	44,26±0,22	44,22±0,01	44,09±0,12	44,67±0,18	44,46±0,01	44,24±0,25
Acide pétrosélinique	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,42±0,01	0,42±0,01	0,39±0,02	0,42±0,01	0,41±0,02	0,41±0,01
Acide linoléique	19,38±0,04	19,49±0,06	19,65±0,02	19,03±0,00	19,26±0,04	19,33±0,01	19,00±0,24	19,18±0,02	19,55±0,09
Acide arachidique	1,31±0,01	1,31±0,01	1,33±0,01	1,28±0,01	1,30±0,01	1,30±0,01	1,28±0,01	1,29±0,03	1,30±0,02
Acide linoléinique	0,50±0,01	0,52±0,01	0,53±0,01	0,50±0,01	0,50±0,01	0,49±0,00	0,48±0,02	0,49±0,01	0,51±0,01
Acide gadoléique	0,08±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,05±0,05	0,08±0,00	0,08±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,09±0,01

**Tableau III-5 :** Valeur moyenne et écart type de la composition en acides gras majoritaires des huiles d'expression en presse OMEGA 20 pour le plan d'expériences

Acides gras Majoritaires (%)	Valeur moyenne (Huile de pressage)	Valeur moyenne (Huile extraite)
Acide palmitique	16,81±0,22	17,20±0,40
Acide stéarique	16,70±0,26	16,23±0,44
Acide oléique	44,38±0,28	44,11±0,71
Acide linoléique	18,37±4,26	17,93±1,72

Seules les proportions de certains acides gras minoritaires varient en fonction des deux facteurs du pressage et s'écartent des valeurs obtenues pour l'huile d'extraction. Bien que faibles et qu'une corrélation avec le rendement d'expression où la température de l'extraction ne soit pas nette, ces variations pourraient traduire une différence des coefficients de diffusion des triglycérides selon la composition en acides gras. L'huile exprimée obtenue dans les conditions de rendement maximum (Essai 9, 65,68%) présente cependant une composition en acides gras très proche de l'huile d'extraction à l'hexane.

Par contre, à la différence de l'huile extraite au cyclohexane, toutes les huiles d'expression contiennent de l'azadirachtine (**Tableau III-6**). Le rendement en azadirachtine dans l'huile semble corrélé au rendement en huile exprimée  $R_T$  (**Figure III-10**).

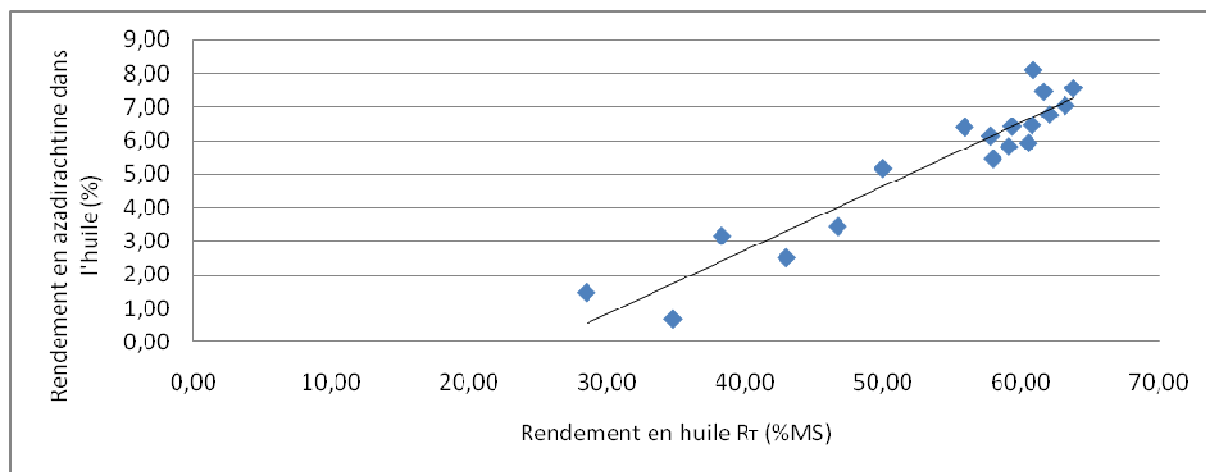
**Tableau III-6 :** Teneur en azadirachtine des huiles obtenues après expression des graines de neem en presse mono-vis OMEGA 20

	Buse 5mm			Buse 6mm			Buse 7mm		
	Essai 1	Essai 2	Essai 3	Essai 4	Essai 5	Essai 6	Essai 7	Essai 8	Essai 9
Azadirachtine (g.kg <sup>-1</sup> )	0,84	0,86	0,86	0,93	0,96	1,02	0,91	0,89	0,93

	Buse 8mm			Buse 9mm			Buse 10mm		
	Essai 10	Essai 11	Essai 12	Essai 13	Essai 14	Essai 15	Essai 16	Essai 17	Essai 18
Azadirachtine (g.kg <sup>-1</sup> )	0,65	0,92	1,00	0,43	0,57	0,99	0,24	0,50	0,77



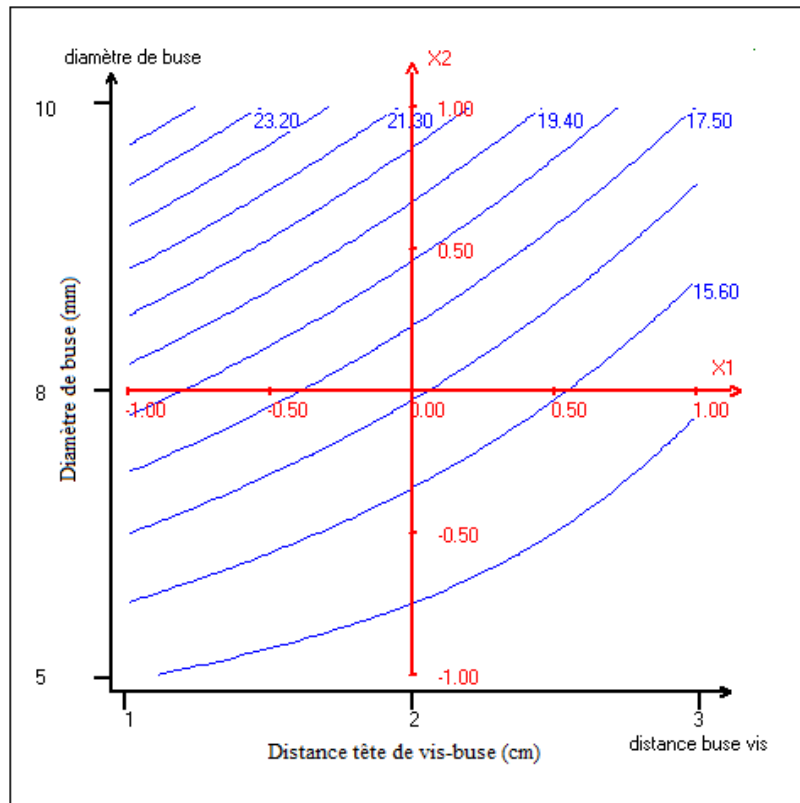


**Figure III-10 :** Rendement en azadirachtine (entraîné dans l’huile) en fonction du rendement en huile exprimée  $R_T$

Ainsi, il apparaît que bien que non soluble dans l’hexane et le cyclohexane, l’azadirachtine serait partiellement soluble dans l’huile et entraîné avec les triglycérides. Remarquons que cet entraînement pourrait aussi être liée à celui des composés non triglycéridiques liposolubles comme les insaponifiables, dont les phospholipides, qui sont connus pour leurs propriétés tensioactives (MECHLING, 2002). Dans les conditions de pressage conduisant aux meilleurs rendements en huile (Essai 9), l’azadirachtine extraite dans l’huile ne correspond qu’à un rendement de 7% par rapport à l’azadirachtine contenu dans la graine.

#### III.1.2.4 Influence du diamètre de la buse et de la distance tête de vis-buse sur les caractéristiques du tourteau

Le rendement en tourteau extrudé varie peu lorsque les diamètres de buse sont inférieurs à 8 mm, valeurs pour lesquelles les rendements d’expression sont élevés (supérieurs à 57%), et diminue pour les diamètres de buse supérieurs à 8 mm avec l’augmentation de la distance tête de vis-buse, l’augmentation du volume de filtrat et donc l’augmentation du rendement en huile exprimée. La teneur en huile du tourteau qui varie entre 13 et 24% suit logiquement ces mêmes tendances (**Figure III-11**).



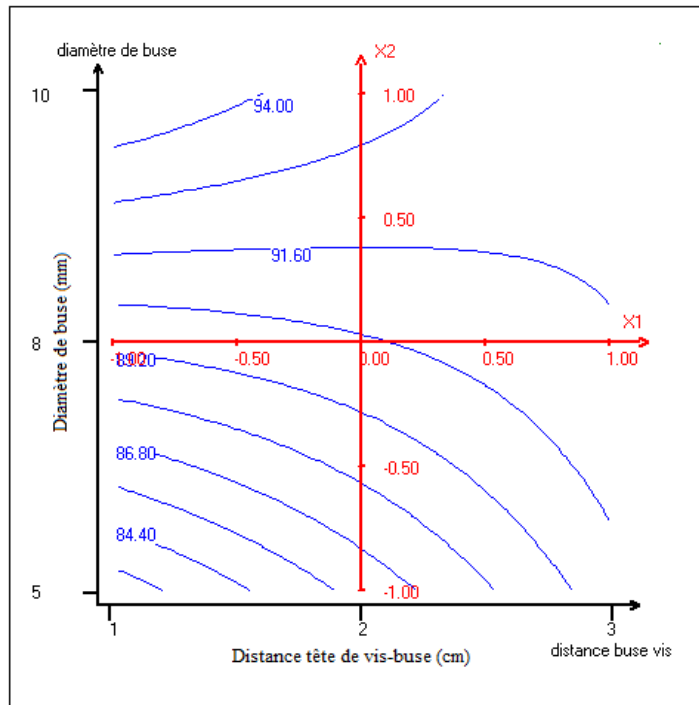
**Figure III-11** : Courbes d'isoréponse de l'huile résiduelle du tourteau  $L_T$  pour l'expression de l'huile de graines de neem en presse mono-vis OMEGA 20

La composition en acides gras de l'huile résiduelle dans le tourteau reste très voisine de celle de l'huile exprimée (**Tableau III-7**).

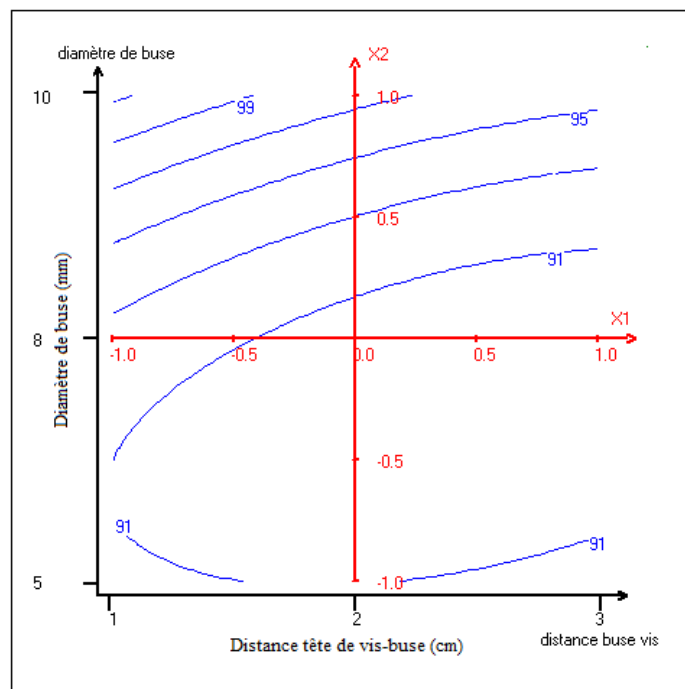
**Tableau III-7 :** Composition en acides gras des huiles résiduelles des tourteaux obtenus après expression des graines de neem en presse mono-vis OMEGA 20 pour quelques échantillons

	Essai 1	Essai 4	Essai 7	Essai 10	Essai 13	Essai 16
Acide pentadécanoïque	0,20±0,01	0,22±0,02	0,21±0,00	0,22±0,00	0,20±0,01	0,20±0,01
Acide palmitique	17,40±0,25	17,49±0,41	17,82±0,37	17,65±0,08	17,45±0,03	17,44±0,06
Acide palmitoléique	0,15±0,00	0,15±0,00	0,17±0,01	0,15±0,01	0,18±0,02	0,16±0,03
Acide heptadécaloïque	0,02±0,00	0,01±0,01	0,02±0,00	0,00±0,00	0,02±0,00	0,02±0,02
Acide stéarique	17,03±0,33	16,93±0,25	17,10±0,01	16,94±0,09	17,03±0,05	17,08±0,34
Acide élaidique	0,20±0,02	0,23±0,04	0,59±0,00	0,26±0,01	0,23±0,00	0,23±0,02
Acide oléique	42,92±0,66	43,01±0,67	42,87±0,21	42,96±0,19	42,87±0,14	42,80±0,54
Acide pétrosélinique	0,43±0,01	0,44±0,01	0,45±0,00	0,45±0,01	0,43±0,01	0,44±0,01
Acide linoléique	19,39±0,11	19,26±0,02	18,56±0,24	19,16±0,10	19,25±0,06	19,32±0,32
Acide arachdique	1,36±0,02	1,36±0,01	1,37±0,02	1,36±0,01	1,37±0,01	1,37±0,01
Acide linoléinique	0,56±0,02	0,54±0,03	0,51±0,01	0,51±0,02	0,61±0,05	0,57±0,02
Acide gadoléique	0,08±0,00	0,08±0,01	0,08±0,01	0,08±0,00	0,08±0,00	0,08±0,01
Acide béhénique	0,27±0,01	0,27±0,01	0,26±0,01	0,26±0,03	0,27±0,01	0,28±0,01

Les rendements en matières minérales ( $R_{MM}$  ; **Figure III-12**) et en protéines ( $R_p$  ; **Figure III-13**) montrent que la quasi-totalité de ces constituants de la graine sont bien récupérés dans le tourteau pour l'ensemble des conditions de pressage. Les pertes observées sont imputables à la quantité de particules solides entraînées avec le filtrat, qui augmentent avec la diminution du diamètre de buse et de sa distance à la vis.



**Figure III-12 :** Courbes d'isoréponse du rendement en matière minérale dans le tourteau  $R_{MM}$  pour l'expression de l'huile de graines de neem en presse mono-vis OMEGA 20



**Figure III-13 :** Courbes d'isoréponse du rendement en protéines dans le tourteau  $R_P$  pour l'expression de l'huile de graines de neem en presse mono-vis OMEGA 20

Dans les conditions conduisant au meilleur rendement en huile exprimée (diamètre de buse 7 mm, distance vis-buse 3 mm), le tourteau obtenu, qui ne contient plus que 14% de lipides, atteint une teneur en protéines proche de 14%, pour près de 5% de matière minérale et une teneur en eau inférieure à 9%.

L'analyse de la teneur en azadirachtine des tourteaux obtenus pour l'ensemble des conditions opératoires (**Tableau III-8**) confirme que plus de 90% de ce composé reste dans le tourteau, les écarts à cette valeur moyenne dépendant du rendement en huile exprimée.

**Tableau III-8 :** Teneur en Azadirachtine des tourteaux obtenus par expression des graines de neem en presse mono-vis OMEGA 20

	Essai 1	Essai 2	Essai 3	Essai 4	Essai 5	Essai 6	Essai 7	Essai 8	Essai 9
Azadirachtine (mg.g <sup>-1</sup> )	2,21	2,06	2,05	2,28	2,11	1,94	2,23	2,21	2,12

	Essai 10	Essai 11	Essai 12	Essai 13	Essai 14	Essai 15	Essai 16	Essai 17	Essai 18
Azadirachtine (mg.g <sup>-1</sup> )	2,8	2,09	2,02	2,02	1,92	1,89	1,99	1,98	1,97

### III.1.3. Conclusion

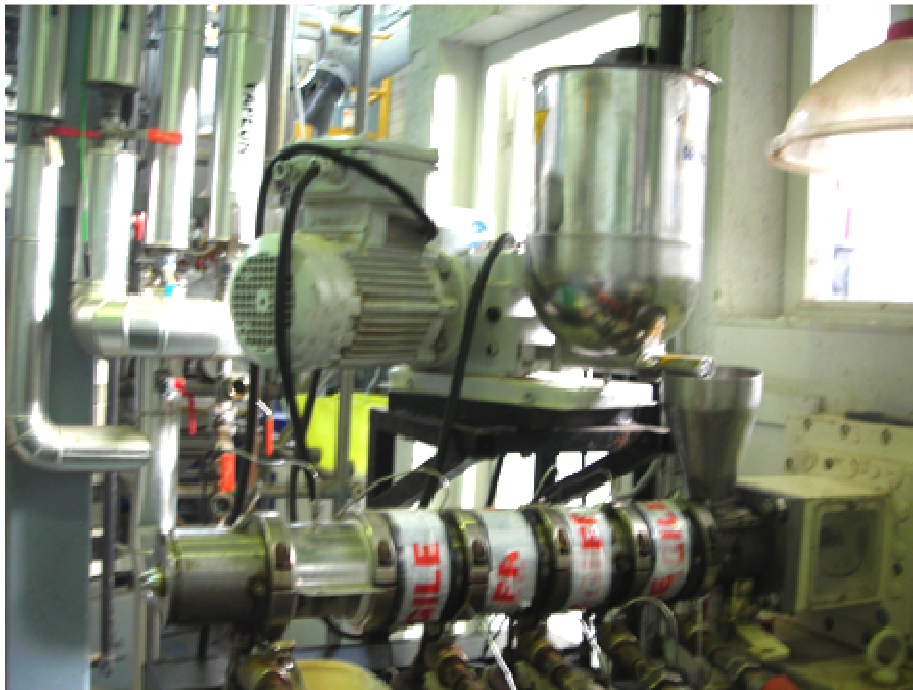
Les résultats obtenus par pressage des graines de neem non décortiquées dans une presse à vis relativement simple d'un point de vue technologique (système mono-vis à diamètre et à pas constant) et facile à mettre en œuvre montrent que cette technologie de fractionnement est efficace pour l'obtention de l'huile. L'augmentation des temps de séjour dans la zone de compression par simple éloignement de la buse par rapport à la tête de vis permet d'améliorer les rendements en huile exprimée qui atteignent 65%. La diminution du diamètre de buse, au delà de 7 à 8 mm ne s'avère pas nécessaire, et la réduction de la taille des orifices du filtre pourrait minimiser l'entraînement des fines particules avec l'huile. D'ores et déjà, ces rendements sont équivalents à ceux obtenus avec les presses industrielles de fortes capacités mises en œuvre comme prépresse, en préparation à l'étape d'extraction à l'hexane de l'huile résiduelle du tourteau (KARLESKIND, 1992). La diminution de la teneur en huile résiduelle dans le tourteau, de 13% dans notre cas, nécessite la mise en œuvre d'une presse à vis d'une technologie nettement plus complexe.

Par contre, en ce qui concerne l'azadirachtine, le fractionnement par pressage mono-vis ne s'avère pas totalement sélectif : près de 7% de l'azadirachtine contenu dans la graine est entraîné avec l'huile. Sa récupération nécessitera donc une double opération d'extraction à partir de l'huile exprimée et du tourteau.

Cependant, une huile de neem contenant 0,24 à 1 g.kg<sup>-1</sup> d'azadirachtine pourrait déjà constituer un semi produit pour la formulation de pesticides naturels. En effet les formulations commerciales de ces pesticides contiennent 0,1 à 1% de produit actif et 20% d'huile sous forme d'émulsion stabilisée. Dans cette perspective, nous nous sommes intéressés à la possibilité d'améliorer le rendement d'expression de l'huile et d'extraction d'azadirachtine grâce à la technologie bi-vis.

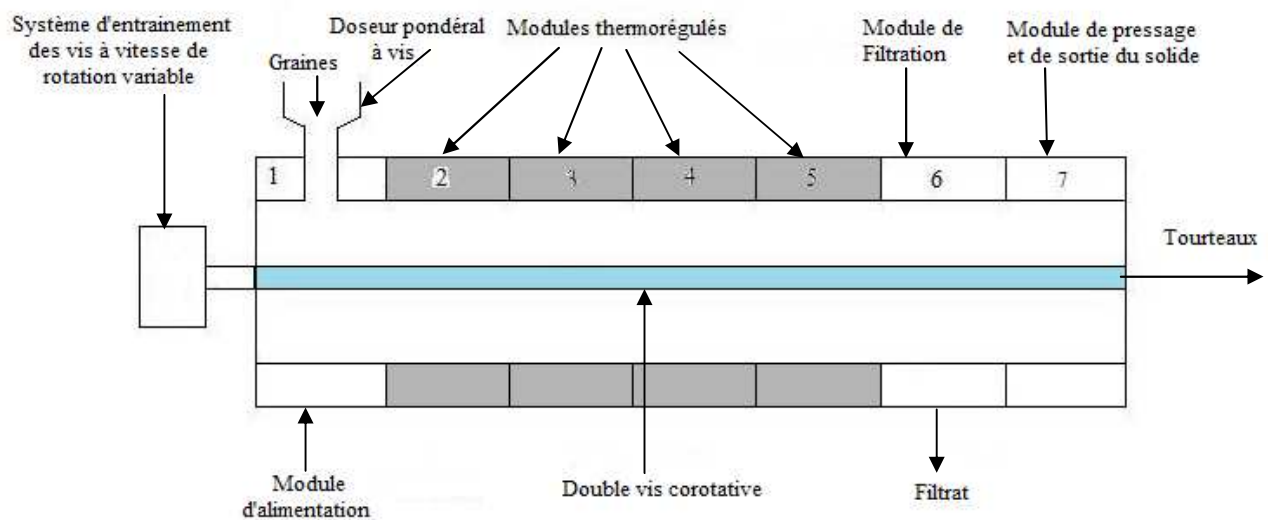
### **III.2. ETUDE DU PRESSAGE DE LA GRAINE DE NEEM EN EXTRUDEUR BI-VIS**

L'étude du pressage des graines de neem en extrudeur bi-vis est réalisée sur une machine de type CLEXTRAL BC 21 (**Partie expérimentale V.3 ; Figure III-14**)



**Figure III-14 : Extrudeur bi-vis type CLEXTRAL BC 21**

Cet extrudeur est équipé de 7 modules de 10 cm de longueur définissant le fourreau dans lequel sont installées les deux vis corrotatives et copénétrantes dont le profil peut être modulé (**Figure III-15**). Les graines entières sont introduites dans le premier module par un doseur pondéral à vis. Les quatre modules suivants (module 2, 3, 4, 5) sont thermo-régulés grâce à un système de circulation d'un fluide caloporteur. Le système de filtration est placé dans le module 6. Les filtres sont constitués de 4 coquilles demi-sphériques percées d'orifices de 1 mm de diamètre d'entrée. Le liquide (extrait) est collecté en sortie des filtres et le solide (raffinat) est recueilli en sortie du septième module, qui est ouvert (pas de convergent ni de filière).



**Figure III-15** : Configuration de l'extrudeur bi-vis CLEXTRAL BC 21 pour le pressage de graines de neem

L'installation d'un profil de vis adapté dans le fourreau permet de définir quatre zones fonctionnelles.

- **Une zone d'alimentation** : l'alimentation en graine est effectuée par gravité, au débit défini par le doseur pondéral à vis, par l'ouverture du module 1. Les premiers éléments de vis choisis sont de type trapézoïdal double-filet, puis conjugué double-filet à pas large, ce qui permet de happer et de transporter rapidement les graines dans le fourreau fermé.
- **Une zone de transport et de préparation des graines** : Le transport, la mise à température et le broyage des graines s'effectuent dans les modules 2 à 5. Ils sont assurés par un assemblage de disques malaxeurs bilobes (MAL 2 ou BB) qui ont un

effet de cisaillement axial important et de mélange, placés entre deux séries d'éléments de vis à pas direct, décroissant, qui assurent le convoyage.

- **Une zone de filtration** : Le filtre est placé au niveau du module 6 en amont de la zone de pressage. Les éléments de vis installés sont à pas direct décroissant permettant d'assurer une mise en pression axiale de la matière solide vers la zone de pressage et son évacuation de la surface de filtration par laquelle s'écoule le liquide.
- **Une zone de pressage** : Le pressage s'effectue dans le dernier module (module 7) dans lequel est placé un contre-filet qui s'oppose au déplacement de la matière vers la sortie du fourreau. Ce contre-filet assure la formation d'un bouchon dynamique contre lequel la matière convoyée en aval vient se compresser et le liquide huileux s'exprimer. La matière est extrudée à travers les fentes du contre-filet, et reprise par des vis à pas direct pour être convoyée vers l'extérieur du fourreau.

Ainsi les conditions du pressage des graines de neem dans l'extrudeur bi-vis sont nettement différentes de celles en extrudeur mono-vis (presse OMEGA 20) :

- La graine est préparée avant pressage par l'action cisailante des malaxeurs, et la température de pressage peut être contrôlée ;
- Lors du pressage, le passage de la matière dans les contre filets impose à la matière un cisaillement intense sous pression qui conduit à sa déstructuration (AMALIA KARTIKA, 2005).

De nombreux facteurs sont alors susceptibles d'influer sur l'efficacité du pressage, tels que la configuration et le profil de vis de l'extrudeur, la température, l'humidité des graines, le débit d'alimentation en graines et la vitesse de rotation des vis. Nous étudierons l'influence du profil de vis, de la vitesse de rotation des vis et du débit d'alimentation en graines pour le pressage des graines de neem en extrudeur bi-vis.



### III.2.1 Choix des conditions de pressage des graines de neem en extrudeur bi-vis

Plusieurs auteurs ont étudié l'influence de la configuration et du profil de vis sur les performances d'extraction de constituants de matières végétales (ISOBE et al., 1992 ; BOUVIER et GUYOMARD 1997). En particulier, le pressage et l'extraction de l'huile de graines de tournesol a fait l'objet d'études approfondies au Laboratoire de Chimie Agro-industrielle (DUFAURE, 1998 ; DUFAURE et al., 1996, 1999a, 1999b ; AMALIA KARTIKA et al., 2004a, 2004b ; AMALIA KARTIKA et al., 2005 ; AMALIA KARTIKA, 2006 ; AMALIA KARTIKA et al., 2006 ; EVON 2008).

Les résultats de ces études nous ont conduits à sélectionner trois profils de vis pour le pressage des graines de neem (**Figure III-16**).

#### Profil N°1

N° Module	1		2		3		4		5		6		7		
Température			60°C		60°C		60°C		60°C				60°C		
Type de vis Pas de vis (mm) ou angle (°)	T2F 50	T2F 50	C2F 33	C2F 33	C2F 25	BB 45	C2F 33	C2F 33	C2F 25	C2F 25	C2F 16	C2F 16	C2F 16	CF2C-25	C2F 33

#### Profil N°2

N° Module	1		2		3		4		5		6		7		
Température			60°C		60°C		60°C		60°C				60°C		
Type de vis Pas de vis (mm) ou angle (°)	T2F 50	T2F 50	C2F 33	C2F 33	C2F 25	BB 45	C2F 33	C2F 33	C2F 25	C2F 25	C2F 16	C2F 16	C2F 16	CF2C-16	baeues C2F 25

### Profil N°3

N° Module	1		2		3		4		5		6		7		
Température			60°C		60°C		60°C		60°C				60°C		
Type de vis	T2F	T2F	C2F	C2F	C2F	BB	C2F	C2F	C2F	C2F	C2F	C2F	CF2C-16	C2F 16	C2F 33
Pas de vis (mm) ou angle	50	50	33	33	25	45	33	33	25	25	16	16			

**Figure III-16 :** Profils de vis testés pour l'expression de l'huile des graines de neem en extrudeur bi-vis de type CLEXTRAL BC 21

- La taille des graines de neem nous a conduit à choisir les vis de convoyage à double filet de type C2F pour assurer un meilleur transport et limiter l'auto-échauffement ;
- La moindre dureté des coques de graines de neem ne nécessite que la mise en place d'un jeu de 10 malaxeurs bilobes MAL 2 (BB) monté avec un angle de +45° pour obtenir un broyage efficace ;
- L'effet très important du pas de vis du contre filet et de sa position par rapport à la zone de filtration mis en évidence par AMALIA KARTIKA (2005) nous a conduit à comparer deux pas de contre-filet (-16 et -25) de même longueur, et deux distances contre-filet - module de filtration.

Le lot de graines de neem utilisé pour ces essais est le lot2008. Les débits de graines Q et la vitesse de rotation N des vis sont choisis dans la gamme de taux de remplissages (proportionnel à Q/N) permettant d'une part la formation d'un bouchon dynamique et l'écoulement stable de l'huile à travers le filtre (limite inférieure de Q/N) et d'autre part évitant l'engorgement du fourreau et la remontée de la matière vers l'alimentation (limite supérieure de Q/N). Pour chaque essai, les mesures et prélèvements sont effectués en régime permanent, au bout de 30 minutes de fonctionnement, après la stabilisation du régime transitoire correspondant au remplissage de l'extrudeur et la formation du bouchon dynamique dans les contre-filets. Les filtrats et tourteaux sont collectés et les débits mesurés.

Les filtrats sont traités comme précédemment, dans le cas du pressage des graines de neem par presse mono-vis OMEGA 20, par centrifugation pour séparer les particules solides qu'ils contiennent.

Les réponses étudiées sont, comme précédemment :

- Le rendement en huile obtenue après centrifugation ( $R_G$ ), calculé par rapport à la masse de graines introduites (% MS).

$$R_G (\%) = 100 \times \frac{Q_F \times T_F}{Q_{G_s}} \text{ Avec}$$

$Q_F$  : Débit de filtrat ( $\text{kg.h}^{-1}$ )

$Q_{G_s}$  : Débit d'alimentation en graines sèches ( $\text{kg.h}^{-1}$ )

$T_F$  : Teneur en huile du filtrat en %

- Le rendement en huile obtenue après centrifugation ( $R_H$ ), calculé par rapport à l'huile contenue dans la graine (% MS).

$$R_H (\%) = 100 \times \frac{Q_F \times T_F}{Q_{G_s} \times T_{G_s}}$$

$T_{G_s}$  Teneur en huile de la graine par rapport à la matière sèche en % MS

- Le rendement en huile exprimée ( $R_T$ ), calculé par rapport à l'huile résiduelle contenue dans les tourteaux (% MS).

$$R_T (\%) = 100 \times \frac{(Q_{G_s} \times T_{G_s}) - (Q_{T_s} \times T_{T_s})}{Q_{G_s} \times T_{G_s}}$$

$Q_{T_s}$  : Débit de tourteau sec ( $\text{kg.h}^{-1}$ )

$T_{T_s}$  : Teneur en huile du tourteau en (% MS)

Le taux de pied du filtrat ( $T_P$ ), la teneur en huile résiduelle ( $L_T$ ) et en protéine ( $P_T$ ) dans le tourteau ainsi que la teneur en azadirachtine sont également déterminés pour chaque essai.

Les résultats obtenus pour chacun des trois profils de vis sont rassemblés dans le **Tableau III-9**.

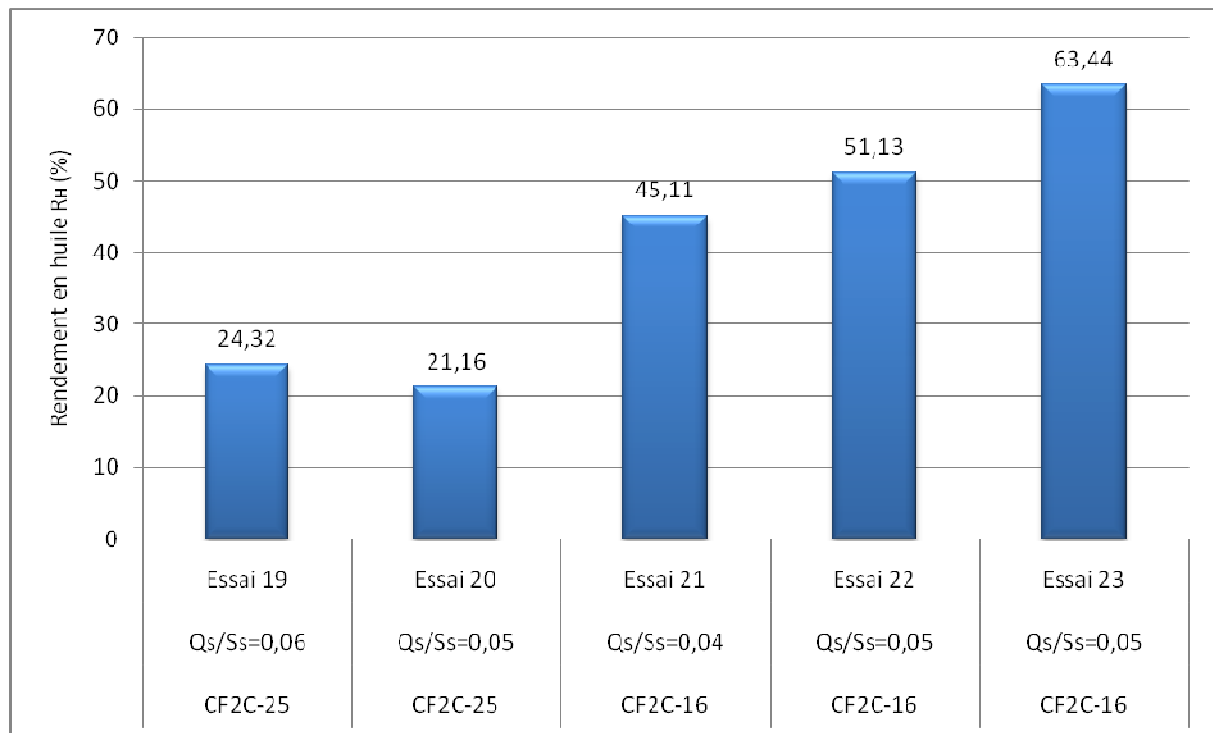
**Tableau III-9 : Résultats expérimentaux obtenus pour l'expression de l'huile des graines de neem en extrudeur bi-vis CLEXTRAL BC 21**

	Essai 19	Essai 20	Essai 21	Essai 22	Essai 23	Essai 24	Essai 25	Essai 26
Conditions opératoires								
Profil de vis	1	1	2	2	2	3	3	3
$S_S$ (rpm)	120	150	200	170	200	150	200	250
$Q_S$ (kg.h <sup>-1</sup> )	7,34	8,06	7,94	8,18	9,92	9,53	9,00	9,19
Température consigne (°C)	60	60	60	60	60	60	60	60
Filtrat								
$Q_F$ (kg.h <sup>-1</sup> )	0,58	0,62	1,31	1,54	2,46	1,6	1,4	1,4
$T_H$ (%)	89,62	80,12	79,61	79,08	74,5	85,65	82,56	79,07
$T_P$ (%)	10,38	19,88	20,39	20,92	25,5	14,35	17,44	20,93
$H_P$ (%)	5,65±0,12	5,22±0,09	5,8±0,23	5,86±0,28	5,88±0,35	8,6±0,25	8,8±0,43	9,8±0,56
$L_P$ (% MS)	79,37	56,5	75,79	58,81	70,94	64,72	53,84	59,04
Tourteau								
$Q_T$ (kg.h <sup>-1</sup> )	6,57	7,19	6,48	6,45	7,19	7,75	7,50	7,70
$H_T$ (% MS)	7,10±0,08	8,01±0,12	8,64±0,17	8,46±0,23	8,60±0,42	8,69±0,52	9,45±0,29	9,50±0,16
$L_T$ (% MS)	18,76±0,24	20,92±0,21	13,24±0,43	13,13±0,21	14,56±0,29	14,39±0,17	15,33±0,01	18,33±0,12
$P_T$ (% MS)	15,00±0,63	13,78±0,18	13,89±0,30	14,14±0,13	13,97±0,23	14,60±0,54	14,95±0,43	15,05±0,23
Rendement en huile								
<b><math>R_G</math> (%)</b>	<b>7,78</b>	<b>6,77</b>	<b>14,43</b>	<b>16,36</b>	<b>20,30</b>	<b>15,80</b>	<b>14,11</b>	<b>13,24</b>
<b><math>R_H</math> (%)</b>	<b>24,32</b>	<b>21,16</b>	<b>45,11</b>	<b>51,13</b>	<b>63,44</b>	<b>49,38</b>	<b>44,10</b>	<b>41,36</b>
<b><math>R_T</math> (%)</b>	<b>47,53</b>	<b>41,68</b>	<b>66,23</b>	<b>67,65</b>	<b>67,02</b>	<b>63,43</b>	<b>60,08</b>	<b>52,01</b>

$S_S$  est la vitesse de rotation des vis ;  $Q_S$  le débit d'alimentation de solide ;  $Q_F$  est le débit du filtrat ;  $T_H$  est la teneur en huile du filtrat ;  $T_P$  est la teneur en pied du filtrat ;  $L_P$  est la teneur en lipides du pied ;  $Q_T$  est le débit du tourteau ;  $H_T$  est l'humidité du tourteau ;  $M_T$  est la teneur en matières minérales du tourteau ;  $L_T$  est la teneur en lipides du tourteau ;  $P_T$  est la teneur en protéine du tourteau ;  $R_G$  est le rendement en huile exprimée, calculé par rapport à la graine ;  $R_H$  est le rendement en huile exprimée, calculé par rapport à l'huile ;  $R_T$  est le rendement en huile exprimée, calculé par rapport à l'huile résiduelle du tourteau.

### III.2.2 Influence des principaux facteurs sur le rendement d'expression de l'huile

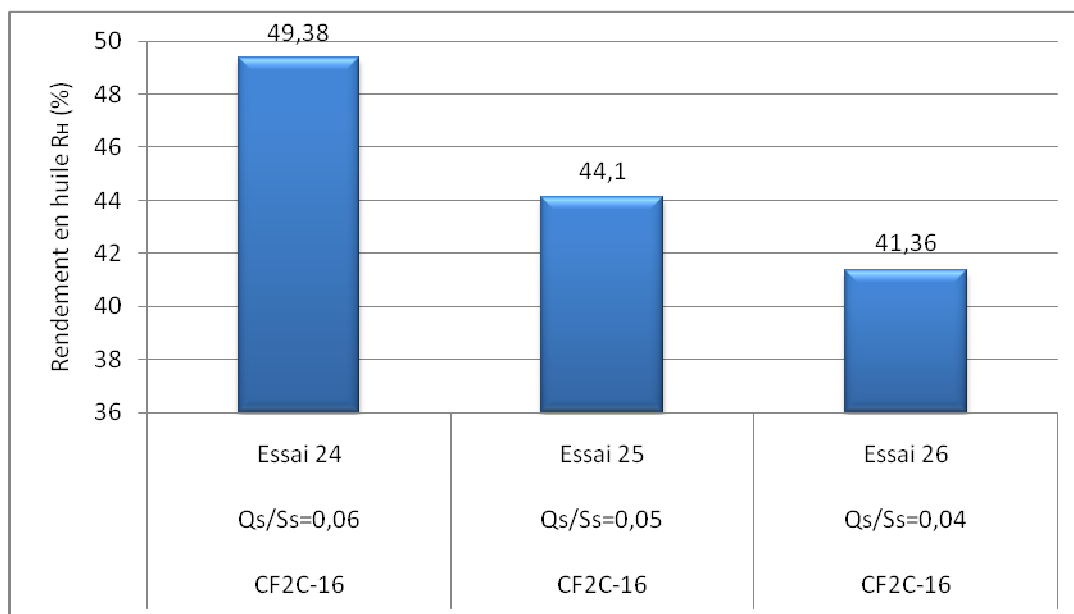
Pour l'ensemble des essais, la température de consigne est maintenue à 60°C, valeur proche de celle atteinte précédemment lors du pressage mono-vis dans la presse OMEGA 20 dans les conditions de forte contrainte, par auto-échauffement de la matière. L'augmentation de la température n'a pas été envisagée pour éviter l'éventuelle dégradation de l'azadirachtine (JARVIS et al., 1998). La comparaison des résultats obtenus pour les profils de vis 1 et 2 montre que la réduction du pas du contre-filet CF2C placé dans la même position par rapport au filtre, de -25 à -16 permet d'améliorer considérablement l'efficacité du pressage : le rendement en huile exprimée  $R_T$  passe de 42-47% à près de 67% ; et la teneur en huile résiduelle du tourteau diminue de 19-21% à 13-15%. Ainsi, à taux de remplissage équivalent, proportionnel à  $\frac{Q_s}{S_s}$ , le rendement en huile  $R_H$  est pratiquement doublé voire triplé (Figure III-17).



**Figure III-17** : Rendement en huile  $R_H$  pour le pressage des graines de neem en extrudeur bi-vis avec les profils 1 (Essais 19 et 20) et 2 (Essais 21 à 23)

Avec le contre-filet CF2C-16, l'augmentation du débit de graines  $Q_s$  à la même vitesse de rotation des vis ( $S_s=200$  rpm ; essais 21 et 23 avec le profil 2), augmente nettement le débit du filtrat 1,31 à 2,46  $\text{kg}\cdot\text{h}^{-1}$  ; et bien que le taux de particules entraînées y soit plus important du fait du remplissage de la machine (Essai 23 :  $T_p=25\%$  à  $Q_s=9,9$   $\text{kg}\cdot\text{h}^{-1}$  et  $S_s=200$  rpm), le rendement en huile séparée après centrifugation atteint 63,5% contre 45,11%. La perte en huile dans les particules entraînées (5 à 6% de l'huile introduite) est alors minimisée par la meilleure efficacité de pressage (14,5% d'huile résiduelle dans le tourteau).

L'éloignement du contre-filet CF2C-16 du filtre (profil 3), couplé à une diminution de la vitesse de rotation des vis (250 à 150 rpm) permet de minimiser le taux de particules entraînées avec le filtrat ; mais bien que l'efficacité du pressage augmente avec la diminution du taux de remplissage et donc l'augmentation du temps de séjour à débit voisin, les rendements en huile exprimée ( $R_T$ ) et séparée ( $R_H$ ) n'atteignent pas les valeurs précédentes (**Figure III-18**).



**Figure III-18** : Rendement en huile  $R_H$  pour le pressage des graines de neem en extrudeur bi-vis avec le profil 3

En conclusion, la mise en œuvre de l'extrudeur bi-vis BC 21 pour le pressage des graines à permis d'améliorer les rendements en huile séparée après centrifugation. Cette amélioration est imputable pour partie à la diminution du diamètre des orifices du système de filtration.

Cependant, du fait du cisaillement plus fort imposé dans le système bi-vis, les taux de pied dans les filtrats restent aussi élevés que dans la presse mono-vis. C'est en fait l'efficacité du pressage, se traduisant directement par des débits d'huile au niveau du filtrat plus élevés dans

la presse bi-vis (1,82 kg.h<sup>-1</sup> d'huile par 9,9 kg.h<sup>-1</sup> de graines traitées) que dans la presse mono-vis (0,12 kg.h<sup>-1</sup> d'huile par 0,9 kg.h<sup>-1</sup> de graines traitées) qui est surtout responsable de cette différence.

### III.2.3 Influence des principaux facteurs sur les caractéristiques des huiles exprimées et sur l'extraction de l'azadirachtine

Comme dans le cas de la presse mono-vis OMEGA, la comparaison de la répartition des acides gras des huiles exprimées en extrudeur bi-vis ne montre que de faibles fluctuations. La répartition des acides gras principaux (**Tableau III-10**) révèle peu de différences par rapport aux acides gras des huiles des graines des lot2007 et lot2008 extraites au solvant.

**Tableau III-10 :** Pourcentage des acides gras principaux des huiles obtenues par centrifugation après expression des graines de neem en extrudeur bi-vis CLEXTRAL BC 21

	Essai 19	Essai 20	Essai 21	Essai 22	Essai 23	Essai 24	Essai 25	Essai 26
Acide palmitique	15,81	16,37	16,32	16,46	16,47	16,96	16,65	16,77
Acide stéarique	15,30	15,88	15,87	15,64	15,51	15,97	16,16	16,32
Acide oléique	40,89	42,50	42,87	44,18	44,38	45,13	45,01	44,79
Acide linoléique	17,21	17,79	17,27	17,35	17,49	18,70	19,01	18,78
Acide arachidique	1,15	1,19	1,22	1,20	1,19	1,27	1,27	1,29

Les particules solides entraînées dans le filtrat sont riches en huile (54 à 80% MS). La comparaison des huiles extraites de ces particules, et résiduelles des tourteaux obtenus pour le profil 3 (essais 24 à 26) montrent que l'effet du cisaillement n'affecte pas la qualité des huiles. Ainsi, les compositions en acides gras de ces huiles sont toujours très proches de celles exprimées (**Tableau III-11**).

**Tableau III-11** : Composition en acides gras des huiles résiduelles dans les tourteaux et dans les pieds pour le profil 3 (essais 24 à 26)

Acides Gras (%)	Résiduelle 24	Résiduelle 25	Résiduelle 26	Pied 24	Pied 25	Pied 26
Acide pentadécanoïque	0,25	0,24	0,24	0,20	0,20	0,19
Acide palmitique	16,99	17,03	16,99	16,72	16,87	15,94
Acide palmitoléique	0,04	0,04	0,04	0,03	0,10	0,03
Acide heptadécanoïque	0,15	0,15	0,14	0,14	0,13	0,13
Acide stéarique	16,51	16,48	16,64	16,63	17,00	15,16
Acide élaidique	0,24	0,23	0,22	0,19	0,24	0,23
Acide oléique	44,40	44,53	43,92	45,06	44,71	46,45
Acide pétrosélinique	0,44	0,45	0,45	0,45	0,45	0,44
Acide linoléique	18,55	18,41	18,92	18,27	18,27	19,26
Acide arachidique	1,33	1,34	1,34	1,33	1,35	1,24
Acide linoléinique	0,53	0,54	0,54	0,49	0,46	0,50
Acide gadoléique	0,08	0,07	0,08	0,25	0,20	0,21
Acide béhénique	0,24	0,26	0,26	0,21	0,21	0,20
Acide érucique	0,23	0,23	0,23	-	-	-

Pour l'azadirachtine, sa teneur dans l'huile exprimée en bi-vis, pour le profil 3 (1,02, 1,03 et 1,31 mg.g<sup>-1</sup> respectivement pour les essais 24, 25 et 26), est plus élevée que dans les huiles exprimées en mono-vis (0,5 à 1 mg.g<sup>-1</sup>). Ce phénomène peut s'expliquer par la déstructuration de la matière liée au taux de cisaillement qui est plus élevé en bi-vis qu'en mono-vis. Cependant, l'azadirachtine entraîné avec l'huile ne représente toujours que 10,4% de l'azadirachtine présent dans les graines.

### III.3. CONCLUSION

Le pressage, que ce soit en mono-vis ou en bi-vis, ne permet pas le déshuilage total du tourteau, bien que l'on puisse espérer pouvoir améliorer les rendements jusqu'à des valeurs de 80% ou plus comme cela a déjà été fait dans le cas du tournesol (LACAZE-DUFAURE, 1998 ; AMALIA KARTIKA, 2005 ; AMALIA KARTIKA et al., 2005).

Pour cela, il conviendrait d'améliorer la préparation de la matière par des assemblages de disques malaxeurs DM-BB-DM. L'introduction d'un deuxième contre-filet et d'une seconde zone de pressage sont également des facteurs qui favorisent l'expression de l'huile.

L'introduction d'un solvant dans l'extrudeur permettrait aussi d'augmenter le rendement en huile en ajoutant une opération supplémentaire d'extraction à l'opération de pressage. Certains solvants ont déjà été testés pour l'extraction de l'huile de graines de tournesol. Ces



solvants peuvent être des alcools (LACAZE-DUFAURE, 1998), des esters méthyliques (AMALIA KARTIKA, 2005) ou de l'eau (EVON, 2008).

Ce dernier procédé à l'eau peut s'avérer très intéressant avec la graine de neem dans la mesure où elle permet une co-extraction de l'huile et de l'azadirachtine en système d'émulsion, directement utilisable comme pesticide ou comme matière première pour la production de pesticides sous forme d'un concentré émulsionné.

# CHAPITRE IV

**CHAPITRE IV : ETUDE DU FRACTIONNEMENT AQUEUX  
DE LA GRAINE DE NEEM POUR LA PRODUCTION DE  
PESTICIDES A BASE D'AZADIRACTINE**



## CHAPITRE IV : ETUDE DU FRACTIONNEMENT AQUEUX DE LA GRAINE DE NEEM POUR LA PRODUCTION DE PESTICIDES A BASE D'AZADIRACHTINE

Les procédés industriels de transformation de la graine de neem pour l'industrie des pesticides visent à la production d'un extrait concentré d'azadirachtine, de pureté maximale, permettant la formulation de la préparation pesticide. Elle existe alors sous deux formes, solide (poudre azadirachtine sur support argile ou talc par exemple) ou liquide.

Cette dernière catégorie peut être divisée en quatre sous-catégories :

- Les **Concentrés Solubles (CS)** : ce sont des solutions de matière active à diluer dans l'eau, additionnée d'agents tensio-actifs.
- Les **Suspensions Concentrés (SC)** : les matières actives solides, insolubles dans l'eau, sont maintenues en suspension concentrée.
- Les **Concentrées Emulsionnables (EC)** : les matières actives sont mises en solution concentrée dans un solvant organique et additionnées d'émulsifiants chargés de stabiliser les émulsions obtenues au moment leur dilution dans l'eau.
- Les **Emulsions Concentrées (EW)** : la matière active est dissoute dans une émulsion concentrée. Cette émulsion eau-huile additionnée d'agents émulsifiants est diluée dans une certaine quantité d'eau avant son utilisation.

Actuellement, plusieurs formulations à base d'azadirachtine sont homologuées et mises sur le marché mondial. C'est le cas de Econeem plus, Neem Azal, Fortune AZA, Azatin EC, Neemix etc. (**Chapitre I Tableau I-9**). Au Sénégal, les principales formulations développées sont le Neemix 1%, le Neemix 0,1% et le Suneem 1%. Ces formulations sont composées d'un ensemble de molécules comprenant :

- Une (ou plusieurs) matière active à laquelle est due tout ou une grande partie de l'effet pesticide (azadirachtine et/ou autres triterpénoïdes).

- Un diluant qui est une matière solide ou liquide incorporée à une préparation et destiné à en abaisser la concentration en matière active. Ce sont le plus souvent des huiles végétales dans le cas des liquides (huile de neem), de l'argile ou du talc dans le cas des solides. Il est dénommé charge dans certains cas.
- Des adjuvants qui sont des substances dépourvues d'activité biologique, mais susceptibles de modifier les qualités du pesticide et d'en faciliter l'utilisation (tensioactifs).

Dans ces formulations pesticides, la matière active que constitue l'azadirachtine est à une concentration de 0,1 à 5% massique. Ainsi le bilan de l'analyse de cycle de vie du pesticide naturel à base d'azadirachtine, qui paraît à priori favorable du fait de sa non accumulation dans la chaîne alimentaire et de son absence de neurotoxicité, risque d'être fortement pondéré par l'impact environnemental du procédé de fabrication qui, de la graine à la mise en œuvre du produit, comprend les étapes suivantes :

- Concentration de la matière active (azadirachtine à  $2,93 \text{ mg.g}^{-1}$  dans la graine) par séparation de l'huile et extraction puis purification par solvants organiques (méthanol, MTBE, ETBE, dichlorométhane) de l'azadirachtine ;
- Dilution de l'extrait actif dans un support liquide, de type émulsion huile-eau, ou solide, pour la mise en œuvre du traitement ;

Dans la perspective d'une amélioration de ce bilan, nous nous sommes intéressés à la mise au point d'un nouveau procédé de fractionnement aqueux de la graine de neem permettant d'obtenir directement une base de formulation du pesticide. Cette approche est guidée par les caractéristiques mêmes de la graine de neem et de ses constituants.

- L'eau est un bon solvant de l'azadirachtine (**Chapitre II Paragraphe II.3.2**)
- Les formulations liquides des pesticides à base d'azadirachtine sont des émulsions huile-eau, et la graine de neem contient en moyenne 32,47% de lipides
- La graine de neem est susceptible de contenir des composés tensioactifs naturels (protéines, phospholipides) qui pourront stabiliser les émulsions huile-eau.

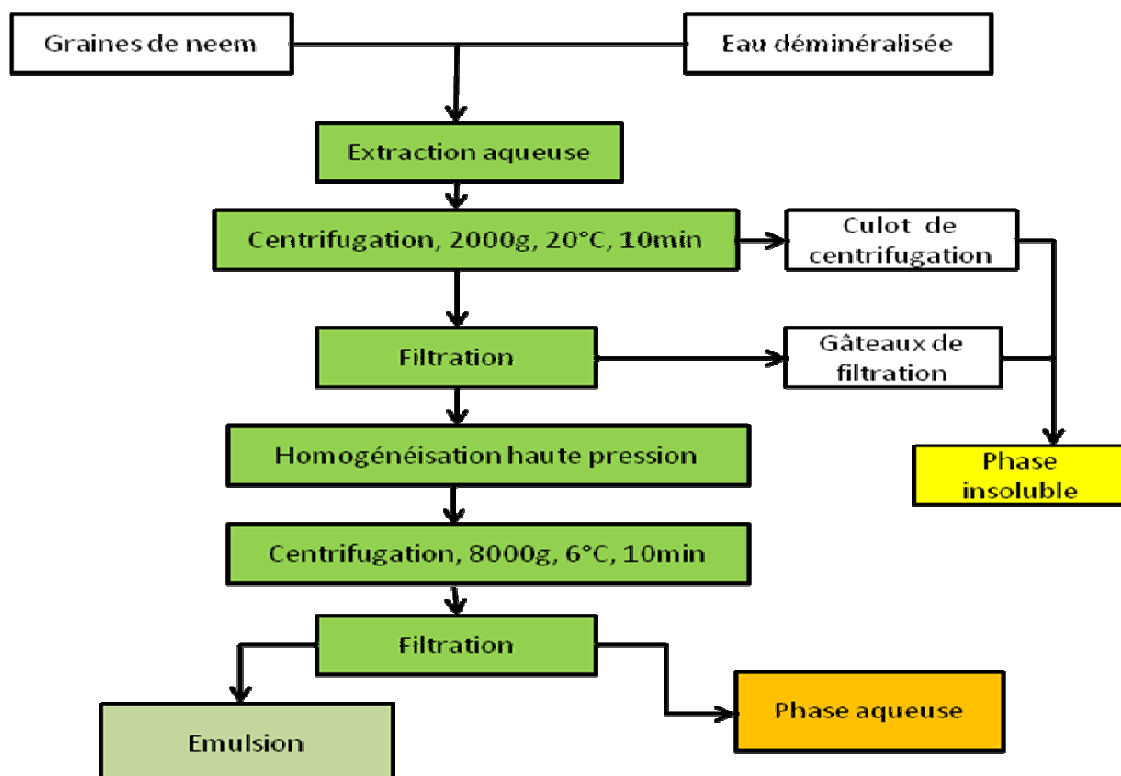
Une telle approche a déjà été étudiée au Laboratoire de Chimie Agro-Industrielle (LCA) pour le fractionnement aqueux de la graine de tournesol ou de la plante entière (EVON, 2008 ; EVON et al., 2007 ; EVON et al., 2009) en vue de l'extraction de son huile et pour l'étude de

l'hydrolyse enzymatique des triglycérides de graines de colza (MECHLING, 2002 ; FABRE et al., 2008).

## IV.1. ETUDE DU FRACTIONNEMENT DES GRAINES DE NEEM PAR EXTRACTION AQUEUSE EN CONTACTEUR AGITE

### IV.1.1 Présentation générale du protocole d'extraction aqueuse

Le schéma général du protocole de fractionnement aqueux des graines de neem est donné dans la **Figure IV-1**. Ce protocole est calqué sur celui utilisé par EVON (EVON, 2008), adapté de MECHLING et de travaux effectués au LCA.



**Figure IV-1** : Schéma du procédé de fractionnement des graines de neem par extraction aqueuse

Les principales étapes de ce protocole d'extraction et de séparation sont les suivantes :

- Après avoir été broyées à l'aide d'un broyeur à couteaux (MF BASIC 10 IKA) équipé d'une grille de maille 2 mm de diamètre, les graines de neem sont mélangées dans un contacteur agité avec de l'eau déminéralisée pendant une durée de 5 minutes.
- Après extraction, le mélange liquide-solide est centrifugé pendant 10 minutes à l'aide d'une centrifugeuse Sigma 6K15, sous une accélération de 3 000 g et une température de 20°C afin d'isoler le culot de centrifugation qui constitue la phase solide. Le surnageant liquide est constitué de deux phases : une émulsion et une phase aqueuse.
- Les particules solides restant en suspension dans la phase liquide sont filtrées sur une toile en nylon de maille carrée de 100 µm de côté. Le gâteau de filtration est mélangé au culot de centrifugation.
- La phase liquide est traitée en homogénéisateur à haute pression de type APV 1000 (**Figure IV-2**) sous une pression de 300 bars et en deux cycles successifs.

Cette homogénéisation contribue à la stabilisation de l'émulsion par réduction de la taille moyenne des gouttelettes d'huile dispersées dans l'eau.



**Figure IV-2** : Homogénéisateur à haute pression APV 1000

- Après homogénéisation, le mélange est centrifugé une nouvelle fois durant 10 minutes sous une accélération de 8 000 g à une température de 6°C.
- Ces deux phases (émulsion et phase aqueuse) sont ensuite séparées par filtration sur une toile en nylon de maille carrée de 50 µm de côté. Le perméat constitue la phase aqueuse alors que la phase émulsion est retenue sur la toile.

Ainsi, l'application de ce protocole de fractionnement des graines de neem par extraction aqueuse permet d'obtenir les trois phases suivantes :

- Une phase émulsion huile/eau
- Une phase aqueuse
- Une phase insoluble solide

Deux contacteurs agités à pales cisailantes ont été comparés pour l'étude de l'extraction aqueuse.

Les graines de neem utilisées pour cette étude sont les graines du lot2008 dont les teneurs en eau et en huile sont respectivement de  $9,10 \pm 0,3\%$  et  $32,74 \pm 0,38\%$  ; celle en azadirachtine est de  $1,99 \pm 0,03 \text{ g.kg}^{-1}$ .

#### **IV.1.2 Etude du fractionnement aqueux des graines de neem au Mixeur Waring Blendor**

Le mixeur waring blendor (**Figure IV-3**) utilisé pour mélanger les graines de neem et l'eau déminéralisée est un contacteur solide/liquide équipé à sa base de quatre pales cisailantes dont la vitesse de rotation peut être réglée à 18 000 ou 22 000 rpm.





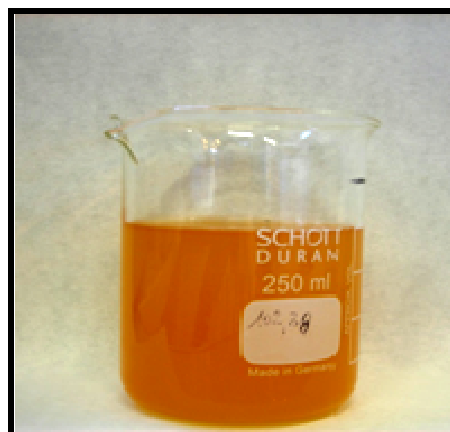
**Figure IV-3** : Mixeur Waring Blendor

L'extraction aqueuse est effectuée sur une masse de 100 g de broyat des graines de neem avec une masse de 400 g d'eau déminéralisée de pH 6,5 , correspondant à une teneur massique en graines dans le mélange de 20% (liquide/solide=4), pendant une durée de 5 minutes. La vitesse des pâles cisailantes est réglée à 22 000 rpm. Ce fort cisaillement entraîne une augmentation de la température du mélange de 25 à 48°C en fin de broyage. Le pH du mélange final est de 6.

Après extraction, l'application du protocole de séparation (**Figure IV-1**) sur ce mélange liquide/solide permet d'obtenir les trois phases. La phase émulsion est sous forme laiteuse de couleur blanche alors que la phase aqueuse est limpide de couleur orange (**Figure IV-4**).



**Photo IV-1 : Phase émulsion**



**Photo IV-2 : Phase aqueuse**

**Figure IV-4 :** Photos des phases émulsion et aqueuse produites par extraction aqueuse des graines de neem au Mixeur Waring Blendor

Le bilan massique du fractionnement des graines de neem par extraction aqueuse (**Tableau IV-1**) montre que la phase émulsion ne représente que 9% du mélange alors que les proportions des phases aqueuse et insoluble sont respectivement 50 et 41% du mélange total. Ces résultats sont comparables à ceux obtenus pour le fractionnement des graines de tournesol (EVON, 2008).

**Tableau IV-1 :** Bilan matière du fractionnement par extraction aqueuse des graines de neem : répartition des trois fractions massiques

	Essai 27	Essai 28
Température finale du broyage (°C)	47,5	48,0
pH final du broyage	6,01	5,97
Phase émulsion (g)	44,13	43,20
Phase aqueuse (g)	243,75	250,79
Phase solide (g)	205,54	205,47
<i>Culot de centrifugation (g)</i>	202,52	202,14
<i>Gâteau de filtration (g)</i>	3,02	2,33

L'analyse de la composition chimique des trois phases (**Tableau IV-2, Tableau IV-3, Tableau IV-4**) révèle que :

- La phase aqueuse contient en moyenne 2,5 % de matière sèche, correspondant à 6,8% de la matière sèche de la graine. Près de 20% des minéraux de la graine sont extraits dans cette phase aqueuse qui contient par ailleurs 21% des protéines de la graine.
- La phase insoluble, de nature essentiellement fibreuse (65% de fibres insolubles, estimé par différence) ne contient plus que 57% des lipides et près de 60% des protéines de la graine en moyenne.
- Sur les 43% d'huile extraite, près de 90% se retrouve dans la phase émulsion, en compagnie de 19% des protéines de la graine.

Enfin, le dosage de l'azadirachtine contenu dans les trois phases confirme que l'eau est un bon solvant de ce composé, près de 74% en moyenne de l'azadirachtine présent initialement dans la graine de neem sont extraits. Il se retrouve sous une forme concentrée dans la phase émulsion (1,7 g.kg<sup>-1</sup> d'émulsion, soit 2,4 g.kg<sup>-1</sup> d'eau de l'émulsion si elle y est entièrement dissoute) ; ce qui correspondrait à un rendement d'extraction de l'azadirachtine dans la phase émulsion de 48%, pour 26% restant dans la phase solide et 26% dans la phase aqueuse.

**Tableau IV-2** : Composition chimique de la phase émulsion obtenue après extraction aqueuse des graines de neem au mixeur Waring Blendor

	Essai 27	Essai 28
Humidité (%)	71,71	69,06
Cendres minérales (%MS)	2,54	1,41
Lipides (%MS)	83,22	83,45
Protéines (%MS)	13,00	13,24
Azadirachtine (g.kg <sup>-1</sup> MS)	5,82	5,73

**Tableau IV-3 :** Composition chimique de la phase aqueuse obtenue après extraction aqueuse des graines de neem au mixeur Waring Blendor

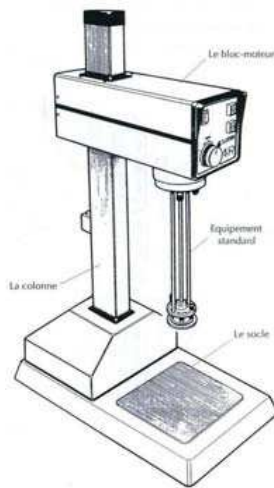
	Essai 27	Essai 28
Humidité (%)	97,41	97,62
Cendres minérales (% MS)	12,73	13,57
Lipides (% MS)	26,54	23,50
Protéines (%)	0,77	0,78
Azadirachtine (g.kg <sup>-1</sup> )	0,18	0,14

**Tableau IV-4 :** Composition chimique de la phase insoluble obtenue après extraction aqueuse des graines de neem au mixeur Waring Blendor

	Essai 27	Essai 28
Humidité (%)	65,74	65,56
Cendres minérales (%MS)	3,74	3,81
Lipides (%MS)	22,41	23,64
Protéines (%MS)	7,81	7,60
Azadirachtine (g.kg <sup>-1</sup> MS)	0,64	0,51

### IV.1.3 Etude du fractionnement aqueux des graines de neem à l'émulsificateur Silverson L4RT

L'émulsificateur Silverson L4RT (**Figure IV-5**) est un dispositif qui permet, lorsqu'il est équipé de la configuration duplex, d'imposer des forces intenses de friction et de cisaillement à la matière dans le système rotor-stator (**Figure IV-6**). Ce dispositif, déjà étudié pour le fractionnement de la graine de tounesol (EVON, 2008) est mis en œuvre pour la graine de neem.

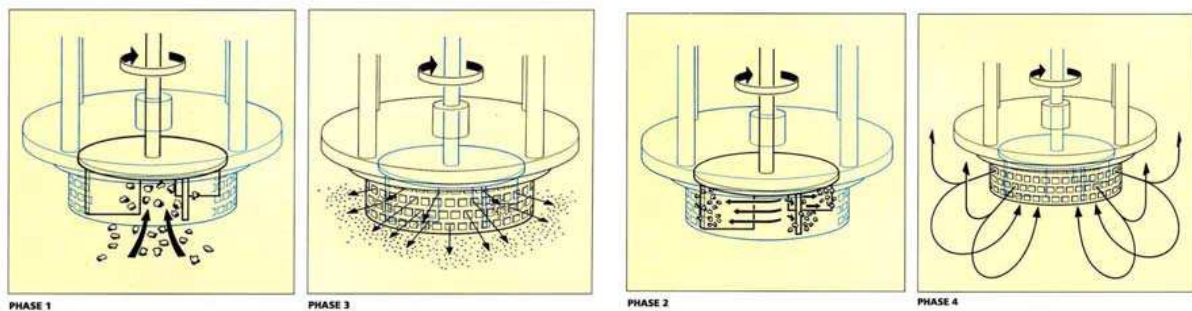


Vue générale



Vue détaillée de l'équipement duplex

**Figure IV-5 :** Emulsificateur Silverson L4RT utilisé pour l'extraction aqueuse simultanée de l'azadirachtine et l'huile



**Figure IV-6 :** Schéma de principe de l'action rotor/stator de l'émulsificateur Silverson L4RT utilisé pour l'extraction aqueuse simultanée de l'azadirachtine et l'huile

Les conditions opératoires sont les suivantes.

- 75 grammes du lot2008 préalablement passées au broyeur MF BASIC 10 IKA (grille 2 mm) sont mélangés à 425 g d'eau déminéralisée (Liquide/Solide = 5,66) et soumis à l'action du système Silverson L4RT pendant 5 minutes à une vitesse de rotation du rotor fixée à 4 000 rpm.
- Après extraction, le même protocole que précédemment (**Figure IV-1**) est appliqué pour la séparation des trois phases.

Le bilan massique du fractionnement des graines de neem par extraction aqueuse à l'Emulsificateur Silverson L4RT (**Tableau IV-5**) montre une répartition de : 61% pour la

phase aqueuse, 31% pour la phase insoluble et 8% pour la phase émulsion. Cette répartition est légèrement différente de celle obtenue avec le Mixeur Waring Blendor du fait du rapport liquide/solide plus élevé pour l'Emulsificateur (5,66) que pour le mixeur (4).

**Tableau IV-5** : Bilan matière du fractionnement par extraction aqueuse des graines de neem à l'Emulsificateur Silverson L4RT : répartition des trois fractions massiques

	Essai 29	Essai 30
Température finale du broyage (°C)	46	48
pH final du broyage	5,98	5,91
Phase émulsion (g)	38,76	39,46
Phase aqueuse (g)	299,01	301,90
Phase solide (g)	153,57	149,29
<i>Culot de centrifugation (g)</i>	151,25	202,14
<i>Gâteau de filtration (g)</i>	2,32	2,98

L'analyse des compositions chimiques des trois phases obtenues (**Tableau IV-6, 7 et 8**) permet de dresser le bilan des rendements d'extraction de chacun des principaux constituants (**Tableau IV-9**)

**Tableau IV-6** : Composition chimique de la phase émulsion obtenue après extraction aqueuse des graines de neem à l'Emulsificateur Silverson L4RT

	Essai 29	Essai 30
Humidité (%)	64,92	61,50
Cendres minérales (% MS)	6,16	1,79
Lipides (% MS)	80,51	77,07
Protéines (% MS)	13,55	14,03
Azadirachtine (g.kg <sup>-1</sup> MS)	5,64	5,73

**Tableau IV-7** : Composition chimique de la phase aqueuse obtenue après extraction aqueuse des graines de neem à l'Emulsificateur Silverson L4RT

	Essai 29	Essai 30
Humidité (%)	98,04	97,80
Cendres minérales (%MS)	8,81	7,02
Lipides (%)	0,27	0,36

Protéines (%)	0,55	0,64
Azadirachtine (g.kg <sup>-1</sup> )	0,14	0,13

**Tableau IV-8 : Composition chimique de la phase insoluble obtenue après extraction aqueuse des graines de neem à l'Emulsificateur Silverson L4RT**

	Essai 29	Essai 30
Humidité (%)	68,46	67,98
Cendres minérales (%MS)	8,96	3,12
Lipides (%MS)	23,63	22,64
Protéines (%MS)	7,78	8,81
Azadirachtine (g.kg <sup>-1</sup> MS)	0,55	0,58

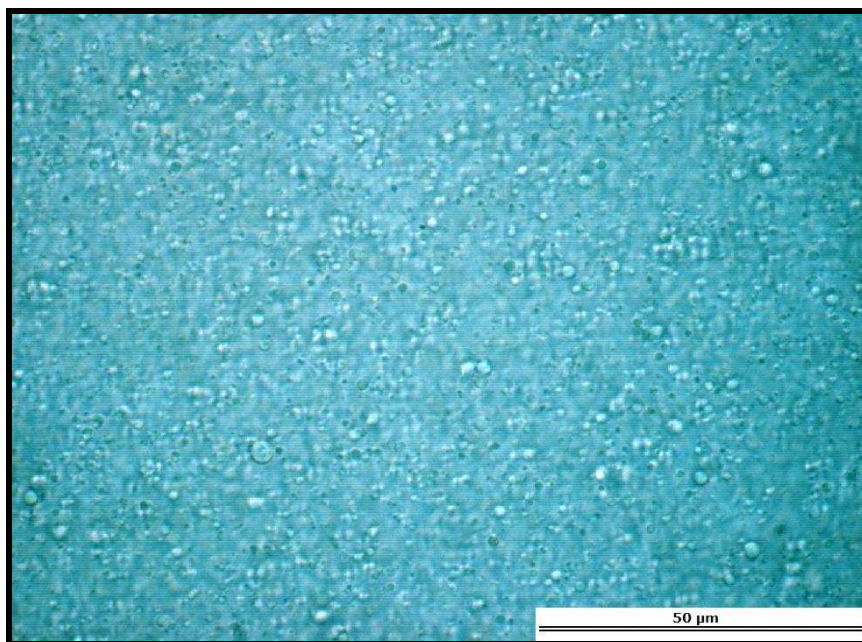
Il apparaît que comme dans le cas de la mise en œuvre du Mixeur Waring Blendor, la majeure partie des lipides (54%) et de l'azadirachtine (80%) de la graine est extrait dans les deux phases (émulsion et aqueuse), en compagnie d'une partie des protéines (48%). La phase aqueuse un peu plus diluée du fait du rapport liquide/solide plus élevé (2% de matière sèche contre 2,5% précédemment) contient quasiment les mêmes proportions de constituants extraits, avec 9% de la matière minérale, 8% des lipides, 23% des protéines et 28% de l'azadirachtine de la graine. La phase solide, essentiellement de nature fibreuse (62% de fibres par différence) contient encore 51% des protéines et 46% des lipides de la graine, mais plus que 20% de l'azadirachtine initiale de la graine.

Ces résultats montrent bien l'efficacité du fractionnement aqueux des graines de neem pour l'extraction des lipides et de l'azadirachtine dès lors que la mise en contact du solide et de l'eau est assurée par un système fortement cisailant et très efficace sur le plan du mélange, que ce soit avec le système Mixeur Waring Blendor ou le système Emulsificateur Silverson L4RT, 38 à 46% des lipides et 48 à 54% de l'azadirachtine sont extraits sous forme d'une émulsion huile-eau, qui représente 0,48 à 0,57 g d'émulsion par gramme de graines traitées, et dont les caractéristiques s'avèrent particulièrement intéressantes.

#### **IV.1.4 Caractérisation des émulsions obtenues par fractionnement aqueux de la graine de neem**

L'observation au microscope optique de la phase émulsion obtenue par fractionnement aqueux des graines de neem selon le protocole précédemment décrit (**Figure IV-1**) montre

qu'il s'agit bien d'une émulsion de gouttelettes d'huile dans l'eau (25% d'huile et 70% d'eau (**Figure IV-7**)).



**Figure IV-7 :** Vue microscopique de la phase émulsion issue du fractionnement des graines de neem ( $\times 1\ 000$ , objectif à immersion dans l'huile)

Cette émulsion, qui contient  $6\text{ g.kg}^{-1}$  d'azadirachtine, est particulièrement stable : aucune démixtion n'a pu être observée au bout de 4 mois de stockage à  $4^{\circ}\text{C}$ . Cette remarquable stabilité peut être attribuée à l'action tensioactive des protéines coextraites de la graine de neem (24% de protéines). En effet, ces protéines sont des albumines (extraction à l'eau à pH 6,5), et classées selon OSBORNE (OSBORNE, 1984) dans la catégorie hydrosoluble et connues pour leur propriétés tensioactives. Cette hypothèse, qui a été validée dans le cas du tournesol (EVON, 2008), devra être confirmée dans le cas du neem par leur isolement et leur remise en œuvre dans une émulsion huile-eau.

Cependant, d'ores et déjà, l'émulsion stable de neem, limpide, ne contenant pas d'impuretés insolubles et est riche en azadirachtine, peut être considérée directement comme une matière première intermédiaire pour la formulation finale du pesticide. Cette formulation, qui ne devra contenir que 40 ppm d'azadirachtine pourrait être obtenue par dilution avec une émulsion stabilisée formée à partir d'huile, en particulier de neem, et de la phase aqueuse séparée par le procédé de fractionnement aqueux.

Une alternative pour l'obtention d'un extrait d'azadirachtine plus concentré serait :



- D'éliminer l'eau de l'émulsion par séchage. Les essais de lyophilisation menés sur les phases émulsions extraites ont permis d'obtenir des concentrats gras secs contenant 6 mg.g<sup>-1</sup> d'azadirachtine. Ce faible taux d'humidité permet d'éviter le développement bactérien. Ainsi, le lyophilisat est facilement stockable et relativement manipulable pour une remise en œuvre du pesticide en formulation.
- De séparer et d'isoler l'azadirachtine selon le procédé d'extraction liquide/liquide par solvant, après démixtion au méthanol de l'émulsion.

Une partie de l'huile peut aussi être récupérée par démixtion. En effet, l'ajout d'éthanol permet de précipiter les protéines. L'huile obtenue par extraction de l'émulsion présente alors pratiquement les mêmes caractéristiques de composition en acides gras que l'huile obtenue par pressage de la graine (**Tableau IV-9**).

**Tableau IV-9** : Composition en acides gras des huiles contenues dans les phases émulsions obtenues après extraction aqueuse au Mixeur Waring Blendor ou à l'Emulsificateur Silverson L4RT

Acide Gras	Mixeur Waring Blendor		Emulsificateur Silverson L4RT	
	Essai 27	Essai 28	Essai 29	Essai 30
Acide pentadécanoïque	0,21	0,21	0,03	0,03
Acide palmitique	17,65	18,01	17,04	17,01
Acide palmitoléique	0,16	0,18	0,12	0,11
Acide heptadécanoïque	0,02	0,02	0,01	0,01
Acide stéarique	17,21	17,02	17,61	17,55
Acide élaidique	0,59	0,58	0,50	0,51
Acide oléique	42,97	42,83	44,17	44,30
Acide pétrosélinique	0,44	0,46	0,45	0,46
Acide linoléique	18,49	18,65	19,27	19,31
Acide arachidique	1,40	1,35	0,55	0,56
Acide linoléinique	0,50	0,52	0,04	0,03
Acide béhénique	0,27	0,25	0,22	0,11
Acide érucique	0,08	0,07	0,00	0,00

Les pourcentages en acide oléique sont un plus faibles pour les huiles des émulsions obtenues avec le Mixeur Waring Blendor, et logiquement plus dans les huiles résiduelles des tourteaux obtenus par extraction au soxhlet avec du cyclohexane (**Tableau IV-10**).

**Tableau IV-10 :** Composition en acides gras des huiles contenues dans les phases insolubles obtenues après extraction aqueuse au Mixeur Waring Blendor et à l'Emulsificateur Silverson L4RT

Acide Gras	Mixeur Waring Blendor		Emulsificateur Silverson L4RT	
	Essai 27	Essai 28	Essai 29	Essai 30
Acide pentadécanoïque	0,12	0,04	0,15	0,15
Acide palmitique	0,02	0,02	0,02	0,02
Acide palmitoléique	17,06	17,05	17,56	17,05
Acide peptadécanoïque	0,18	0,11	0,16	0,14
Acide stéarique	16,99	17,19	17,06	17,36
Acide elaidique	0,00	0,00	0,00	0,00
Acide oléique	46,19	45,98	45,34	46,12
Acide pétrosélinique	0,24	0,50	0,49	0,50
Acide linoléique	18,43	18,38	18,43	17,84
Acide arachidique	0,58	0,52	0,57	0,57
Acide linoléinique	0,05	0,05	0,08	0,10
Acide béhénique	0,14	0,15	0,14	0,15
Acide erucique	0,00	0,00	0,00	0,00

#### IV.1.5 Conclusion

En conclusion, le fractionnement aqueux de la graine de neem dans un dispositif d'extraction permettant d'exercer un fort cisaillement de la matière permet pour des durées de contact très faibles (5 min) d'extraire jusqu'à 46% de l'huile et 54% de l'azadirachtine de la graine sous forme concentrée dans une émulsion stable huile-eau. L'étude d'une extraction en plusieurs étages, avec recirculation de la phase aqueuse, menée dans le cas des graines de tournesol (EVON, 2008) a montré que le rendement en huile extraite sous forme d'émulsion peut atteindre plus de 90%, laissant une phase solide épuisée à moins de 7,5% de lipides.

Cette voie, qui devrait donner des résultats intéressants pour l'optimisation de l'extraction de l'azadirachtine, n'a pas été retenue dans le cadre de cette étude, au profit de l'étude de la mise en œuvre de l'extrudeur bi-vis pour le fractionnement aqueux direct de la graine de neem. L'extrudeur a l'avantage de fonctionner en continu et possède un plus fort taux de cisaillement, contrairement aux contacteurs mis en œuvre (Mixeur Waring Blendor, Emulsificateur Silverson L4RT) qui ont de faibles capacités de broyage pour les graines

entières. Un broyage préalable à sec des graines est en effet nécessaire avant le mélange aqueux. De plus, les appareillages mis en œuvre fonctionnent en batch et ne sont capables de traiter que de faibles quantités de graines.

## **IV.2 ETUDE DU FRACTIONNEMENT AQUEUX DES GRAINES DE NEEM EN EXTRUDEUR BI-VIS DE TYPE CLEXTRAL BC 21**

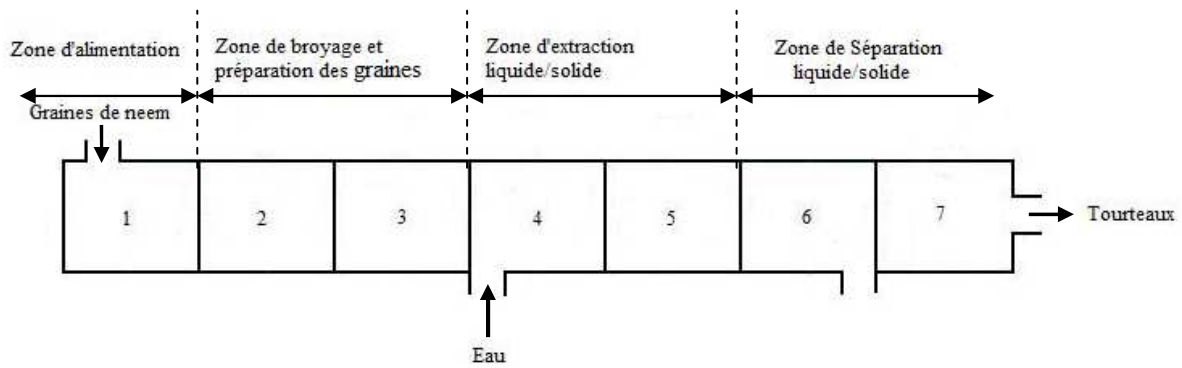
Outre sa mise en œuvre pour le pressage de graines oléagineuses (**Chapitre III paragraphe III.2**), l'extrudeur bi-vis a été largement étudié comme extracteur solide/liquide pour le fractionnement de nombreuses matières végétales et l'obtention de multiples extraits et raffinats solides (**Chapitre I Tableau I-16, Tableau I-17**). En particulier, le fractionnement aqueux des graines de tournesol et de la plante entière en extrudeur bi-vis a été développé au Laboratoire de Chimie Agro-industrielle (EVON, 2008). L'objectif principal de cette étude était alors de mettre au point un nouveau procédé d'extraction aqueuse de l'huile de tournesol, obtenue sous forme d'émulsion d'huile dans l'eau au niveau du filtrat, et d'obtenir une base d'agromatériau au niveau du raffinat solide (**Chapitre I Tableau I-18**).

Les résultats de cette étude sur le tournesol, associés à l'efficacité de l'extraction de l'azadirachtine et de l'huile de graines de neem broyées par l'eau en réacteur agité équipé d'un système à pâles cisailantes (**Paragraphe IV-1**) nous ont conduits à étudier le fractionnement aqueux de la graine de neem entière directement dans l'extrudeur bi-vis.

L'extraction aqueuse est réalisée à partir des graines de neem du lot2008 dans l'extrudeur bi-vis de type CLEXTRAL BC 21 déjà mis en œuvre pour l'étude de l'expression de l'huile des graines de neem (**Chapitre III paragraphe III-2**).

### **IV.2.1 Configuration et profil de vis de l'extrudeur bi-vis BC 21 et protocole opératoire pour l'extraction aqueuse des graines de neem**

Comme dans le cas de l'expression de l'huile des graines de neem, la configuration de l'extrudeur bi-vis BC 21 mis en œuvre pour l'extraction aqueuse simultanée de l'azadirachtine et de l'huile des graines de neem peut être divisée en 4 zones (**Figure IV-8**): une zone d'alimentation, une zone de broyage, une zone d'extraction liquide/solide et une zone de séparation liquide/solide.

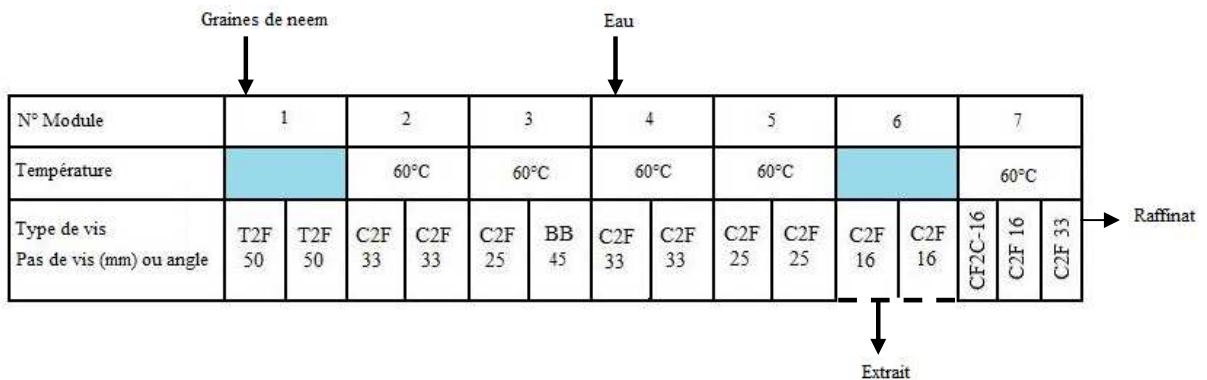


**Figure IV-8 :** Schéma simplifié de la configuration de l'extrudeur utilisé pour l'extraction aqueuse des graines de neem

- **Zone d'alimentation :** L'alimentation est effectuée grâce à un doseur pondéral à vis de type K2 ML D5 S60 dans le module 1.
- **Zone de broyage et de préparation des graines :** Le transport et la préparation des graines par broyage s'effectuent dans les modules 2 et 3. Ils sont assurés par un assemblage de vis à pas direct décroissant et de disques bilobes (MAL 2 ou BB).
- **Zone d'extraction liquide/solide :** L'eau est introduite dans l'extrudeur par l'intermédiaire d'une pompe volumétrique de type DMK K20-2 KAMP 112/16 au début du module 4. Des disques malaxeurs BB sont installés en amont de l'alimentation en eau, afin d'éviter la remontée de liquide vers l'alimentation en solide. L'extraction aqueuse a lieu dans les modules 4 et 5, dans les vis à pas direct qui assurent le transport du mélange vers la zone suivante.
- **Zone de séparation liquide/solide :** Le module de filtration constitué d'un filtre de 4 coquilles demi-sphériques percées d'orifices de 1 mm de diamètre est placé au niveau du module 6. Les éléments de vis dans ce module sont à pas direct décroissant, ce qui permet d'assurer une mise en pression de la matière contre le bouchon dynamique formé dans le contre-filet placé au niveau du module 7. Le filtrat ainsi séparé est récupéré à travers le filtre et la matière extrudée à travers les fentes du contre-filet est reprise par des vis à pas direct pour être convoyée vers l'extérieur du fourreau.

Le profil de vis choisi pour l'extraction aqueuse de l'azadirachtine et l'huile de graines de neem (**Figure IV-9**) est le même que celui utilisé pour l'expression d'huile des graines de

neem en extrudeur bi-vis de type CLEXTRAL BC 21, qui nous a permis d'atteindre de bon rendements d'expression d'huile.



**Figure IV-9 :** Profil de vis utilisé pour l'extraction aqueuse des graines de neem en extrudeur bi-vis de type CLEXTRAL BC 21

Comme précédemment pour le pressage des graines de neem :

- La température de consigne du fourreau est fixée à 60°C dans les modules 2, 3, 4, 5 et 7.
- Le débit d'alimentation en graine ( $Q_G$ ) est fixé à 8 kg.h<sup>-1</sup>.
- Le débit d'alimentation en eau ( $Q_F$ ) est choisi dans les limites de fonctionnement assurant une séparation liquide/solide : 8 à 17 kg.h<sup>-1</sup> d'eau pour 8 kg de graines correspondant à un ratio liquide/solide compris entre 1 et 2,125.
- La vitesse de rotation des vis ( $S_S$ ) est aussi choisie en fonction des conditions limites de fonctionnement : seuil minimal d'engorgement de l'extrudeur, seuil maximal au-delà duquel le bouchon dynamique se forme mal et la séparation liquide/solide est mauvaise. Elle varie entre 200 et 300 rpm pour 8 kg.h<sup>-1</sup> de graine et 8 à 17 kg.h<sup>-1</sup> d'eau.

Pour chacune des conditions opératoires, les extraits et raffinats sont recueillis au bout d'une durée de fonctionnement stable de 20 à 25 minutes.

Le filtrat et le raffinat sont alors collectés pendant 15 minutes, pesés et leurs débits sont calculés. Les filtrats récupérés sont traités selon le même protocole que précédemment décrit (**Figure IV-1**) afin de séparer les phases émulsion, aqueuse et solide. Les rendements d'extraction en huile sous forme d'émulsion et en azadirachtine sont alors déterminés après dosage des constituants dans les trois phases et le tourteau (extrudat) :

- Le rendement en huile extraite sous forme émulsion ( $R_G$ ), calculé par rapport à la quantité de graines introduites (%) :

$$R_G = 100 \times \frac{Q_F \times T_{EM} \times L_{EM}}{Q_G}$$

- Le rendement en huile extraite sous forme d'émulsion ( $R_H$ ), calculé par rapport à l'huile que la graine contient (%) :

$$R_H = 100 \times \frac{Q_F \times T_{EM} \times L_{EM}}{Q_G \times L_G}$$

- Le rendement en huile extraite ( $R_T$ ), calculé à partir de l'huile résiduelle restant dans le tourteau (%) :

$$R_T = 100 \times \frac{(Q_G \times L_G) - (Q_T \times L_T)}{Q_G \times L_G}$$

- Le rendement en azadirachtine extrait dans la phase émulsion ( $R_{AE}$ ), calculé par rapport à l'azadirachtine contenu dans la graine (%) :

$$R_{AE} = 100 \times \frac{Q_F \times T_{EM} \times A_{EM}}{Q_G \times A_G}$$

- Le rendement en azadirachtine cumulé extrait dans la phase émulsion et la phase aqueuse ( $R_{AC}$ ), calculé par rapport à l'azadirachtine que contient la graine (en %) :

$$R_{AC} = 100 \times \frac{Q_F \times (T_E \times A_E + T_{EM} \times A_{EM})}{Q_G \times A_G}$$

- Le rendement en azadirachtine extrait ( $R_{AT}$ ), calculé à partir de l'azadirachtine que contiennent les tourteaux (en %) :

$$R_{AT} = 100 \times \frac{Q_G \times A_G - Q_T \times A_T}{Q_G \times A_G}$$

$Q_F$  : Débit massique du filtrat ( $\text{kg.h}^{-1}$ )

$Q_G$  : Débit massique d'alimentation en graines ( $\text{kg.h}^{-1}$ )

$Q_T$  : Débit massique de tourteau en ( $\text{kg.h}^{-1}$ )

$T_{EM}$  : Teneur en émulsion du filtrat (%)

$T_E$  : Teneur en phase aqueuse du filtrat (%)

$A_{EM}$  : Teneur en azadirachtine de l'émulsion ( $\text{g.kg}^{-1}$ )

$A_E$  : Teneur en azadirachtine de la phase aqueuse ( $\text{g.kg}^{-1}$ )

$A_G$  : Teneur en azadirachtine de la graine ( $\text{g.kg}^{-1}$ )

$A_T$  : Teneur en azadirachtine du tourteau ( $\text{g.kg}^{-1}$ )

$L_G$  : Teneur en huile de la graine par rapport à la matière sèche (%)

$L_T$  : Teneur en huile du tourteau (%)

$L_{EM}$  : Teneur en huile de l'émulsion (%)

### **III.2.2. Influence des principaux facteurs sur l'extraction aqueuse simultanée de l'azadirachtine et de l'huile des graines de neem en extrudeur bi-vis BC 21**

L'analyse de la composition des trois phases ainsi que les rendements en azadirachtine et en huile obtenus pour les 6 essais réalisés à différentes vitesses de vis (200, 250, et 300 rpm) et débits d'eau (8, 11, 13 et 17  $\text{kg.h}^{-1}$ ) sont rassemblés dans le **Tableau IV-11**.

**Tableau IV-11 :** Résultats expérimentaux obtenus pour l'extraction aqueuse des graines de neem en extrudeur bi-vis de type CLEXTRAL BC 21

		Essai 31	Essai 32	Essai 33	Essai 34	Essai 35	Essai 36
Bilan	Ss (rpm)	250	250	250	250	300	200
	Température (°C)	60	60	60	60	60	60
	Q <sub>G</sub> (kg/h)	8	8	8	8	8	8
	Q <sub>E</sub> (kg/h)	8	11	13	17	13	13
	Q <sub>F</sub> (kg/h)	9,00	12,20	13,50	16,9	13,48	13,4
	Q <sub>T</sub> (kg/h)	7,85	8,64	8,16	8,20	8,60	8,80
Culot	T <sub>C1</sub> (%)	28,46	27,89	24,69	19,75	25,64	24,59
	T <sub>C2</sub> (%)	1,47	1,38	1,01	0,77	1,25	1,00
	T <sub>C1</sub> +T <sub>C2</sub> (%)	29,93	29,27	25,7	20,52	26,89	25,59
	H <sub>C1</sub> (%)	64,25	66,09	65,46	65,52	65,56	65,48
	L <sub>C1</sub> (% MS)	32,20	31,88	29,24	31,34	32,18	31,78
Emulsion	T <sub>EM</sub> (%)	23,73	22,73	17,66	13,30	18,08	16,52
	H <sub>EM</sub> (%)	37,63	45,66	37,23	35,42	34,39	35,91
	L <sub>EM</sub> (% MS)	87,52	89,39	92,93	92,08	92,11	92,93
	A <sub>EM</sub> (g.kg <sup>-1</sup> MS)	4,48	4,84	5,40	6,27	5,32	5,58
Phase aqueuse	T <sub>E</sub> (%)	46,34	50,00	58,64	66,45	58,03	58,89
	H <sub>E</sub> (%)	95,56	95,87	95,89	95,24	95,12	95,66
	P <sub>E</sub> (% MS)	1,51	1,33	1,04	0,73	0,96	0,95
	A <sub>E</sub> (g.kg <sup>-1</sup> )	0,51	0,33	0,35	0,23	0,36	0,45
Tourteaux	H <sub>T</sub> (%)	29,71	29,99	29,44	30,35	30,39	30,37
	L <sub>T</sub> (% MS)	20,89	18,15	17,79	17,43	17,56	17,89
	P <sub>T</sub> (% MS)	8,17	8,18	7,94	7,99	7,83	8,88
	A <sub>T</sub> (g.kg <sup>-1</sup> MS)	0,79	0,68	0,70	0,59	0,67	0,72
Rendement	<b>R<sub>G</sub> (%)</b>	<b>14,57</b>	<b>15,36</b>	<b>15,42</b>	<b>16,37</b>	<b>15,36</b>	<b>15,48</b>
	<b>R<sub>H</sub> (%)</b>	<b>44,50</b>	<b>46,89</b>	<b>47,07</b>	<b>49,98</b>	<b>46,89</b>	<b>47,28</b>
	<b>R<sub>T</sub> (%)</b>	<b>51,67</b>	<b>53,90</b>	<b>57,36</b>	<b>58,26</b>	<b>55,92</b>	<b>54,55</b>
	<b>R<sub>AE</sub> (%)</b>	<b>40,83</b>	<b>41,78</b>	<b>45,01</b>	<b>56,01</b>	<b>44,57</b>	<b>46,72</b>
	<b>R<sub>AC</sub> (%)</b>	<b>54,19</b>	<b>54,43</b>	<b>62,42</b>	<b>72,23</b>	<b>62,26</b>	<b>69,02</b>
	<b>R<sub>AT</sub> (%)</b>	<b>69,91</b>	<b>71,57</b>	<b>72,38</b>	<b>76,74</b>	<b>72,31</b>	<b>69,55</b>

*S<sub>S</sub> est la vitesse de rotation des vis ; Q<sub>G</sub> le débit d'alimentation en graines ; Q<sub>E</sub> le débit d'alimentation en eau ; Q<sub>F</sub> est le débit du filtrat ; Q<sub>T</sub> est le débit du tourteau ; T<sub>E</sub> est la teneur en émulsion du filtrat ; T<sub>C1</sub> est la teneur en pied du filtrat après la première centrifugation ; T<sub>C2</sub> est la teneur en culot du filtrat après la deuxième centrifugation ; L<sub>C</sub> est la teneur en lipide du culot (culot et pied) ; P<sub>C</sub> est la teneur en protéines du culot ; H<sub>EM</sub> est l'humidité de la phase émulsion ; P<sub>EM</sub> est la teneur en protéines de la phase émulsion ; A<sub>EM</sub> est la teneur en azadirachtine de la phase émulsion ; H<sub>E</sub> est l'humidité de la phase eau ; P<sub>E</sub> est la teneur en protéines de la phase eau ; A<sub>E</sub> est la teneur en azadirachtine de la phase eau ; H<sub>T</sub> est l'humidité du tourteau ; M<sub>T</sub> est la teneur en matières minérales du tourteau ; L<sub>T</sub> est la teneur en lipide du tourteau ; P<sub>T</sub> est la teneur en protéines du tourteau ; A<sub>E</sub> est la teneur en*



*azadirachtine du tourteau ;  $R_G$  est le rendement en huile extraite dans l'émulsion, calculé par rapport à la graine ;  $R_H$  est le rendement en huile extraite dans l'émulsion, calculé par rapport à l'huile totale;  $R_T$  est le rendement en huile extraite, calculé par rapport à l'huile résiduelle du tourteau ;  $R_{AE}$  est le rendement en azadirachtine extrait dans l'émulsion, calculé par rapport à l'azadirachtine de la graine ;  $R_{AC}$  est le rendement cumulé en azadirachtine extrait dans la phase émulsion et la phase eau, calculé par rapport à l'azadirachtine contenu dans la graine ;  $R_{AT}$  est le rendement en azadirachtine extrait, calculé par rapport à l'azadirachtine contenu dans le tourteau*

Pour tous les essais, à la différence du cas du fractionnement aqueux de la graine de tournesol (EVON, 2008), l'extraction de l'huile et de l'azadirachtine de la graine de neem ne requiert pas l'ajout de fibres supplémentaires pour obtenir une séparation liquide/solide efficace dans l'extrudeur bi-vis. Les fibres de l'enveloppe de la graine de neem sont suffisantes pour assurer la texturation du mélange graine-eau et la formation d'un bouchon dynamique dans les contre-filets apte à permettre son pressage. Les rendements massiques de séparation liquide/solide ( $Q_F/Q_G + Q_E$ ) sont de 56 à 67% selon les conditions opératoires. La matière sèche du tourteau extrudé, qui traduit aussi l'efficacité du pressage, reste voisine de 70% ; et les rendements en matière sèche du tourteau, hors particules solides entraînées, sont de 62 à 70% par rapport à la graine introduite.

Comme dans le cas des essais d'extraction à l'eau menés en extracteurs batch, le filtrat est constitué de trois phases, mais avec une répartition massique différente puisqu'une grande partie du solide est déjà séparée sous forme de tourteau extrudé. La phase solide récupérée après centrifugation et filtration du filtrat d'extrusion (Culot 1 et 2), ne représente plus que 13 à 17% de la masse de solide sèche introduite. La proportion de phase aqueuse est directement proportionnelle au rapport liquide/solide mis en œuvre pour l'extraction aqueuse en extrudeur bi-vis, nettement inférieure (1 à 2,125) à celle des extractions menées en contacteurs agités (4 à 5,66). Malgré ces conditions de haute teneur en graines dans l'eau, l'efficacité de l'extrudeur bi-vis comme extracteur sous contrainte de cisaillement se traduit par des rendements en phase émulsion séparée de 28 à 35%.

Les phases émulsions obtenues après traitement des filtrats sont semblables à celles obtenues en extracteurs batch agités, mais avec un rapport huile/eau plus important. Ainsi, la répartition massique donne 35 à 46% d'eau et 48 à 60% d'huile ; ce qui constitue une émulsion d'eau dans de l'huile. Les huiles ainsi extraites dans les émulsions ont des compositions en acides gras (**Tableau IV-12**) très voisines des huiles de la graine et des tourteaux extrudés (**Tableau IV-13**).

**Tableau IV-12 :** Composition en acides gras des huiles contenues dans les phases émulsions obtenues après extraction aqueuse des graines de neem en extrudeur bi-vis de type CLEXTRAL BC 21

Acide Gras (%)	Essai 31	Essai 32	Essai 33	Essai 34	Essai 35	Essai 36
Acide pentadécanoïque	0,19	0,19	0,19	0,18	0,19	0,19
Acide palmitique	17,00	16,79	16,68	16,86	16,56	16,59
Acide palmitoléique	0,04	0,03	0,04	0,03	0,03	0,03
Acide heptadécanoïque	0,14	0,13	0,14	0,13	0,13	0,13
Acide stéarique	17,43	17,34	17,26	17,48	17,20	17,31
Acide élaidique	0,36	0,24	0,31	0,28	0,22	0,21
Acide oléique	44,54	44,63	44,83	44,80	45,07	45,29
Acide pétrosélinique	0,55	0,46	0,47	0,52	0,45	0,46
Acide linoléique	17,49	18,00	17,87	17,55	17,94	17,60
Acide arachidique	1,43	1,40	1,31	1,45	1,42	1,43
Acide linoléinique	0,44	0,44	0,48	0,41	0,45	0,44
Acide béhénique	0,26	0,25	0,25	0,22	0,25	0,24
Acide gadoléique	0,12	0,09	0,16	0,09	0,08	0,07

**Tableau IV-13 :** Composition en acides gras des huiles obtenues après extraction au soxhlet des tourteaux issus de l'extraction aqueuse des graines de neem en extrudeur bi-vis de type CLEXTRAL BC 21

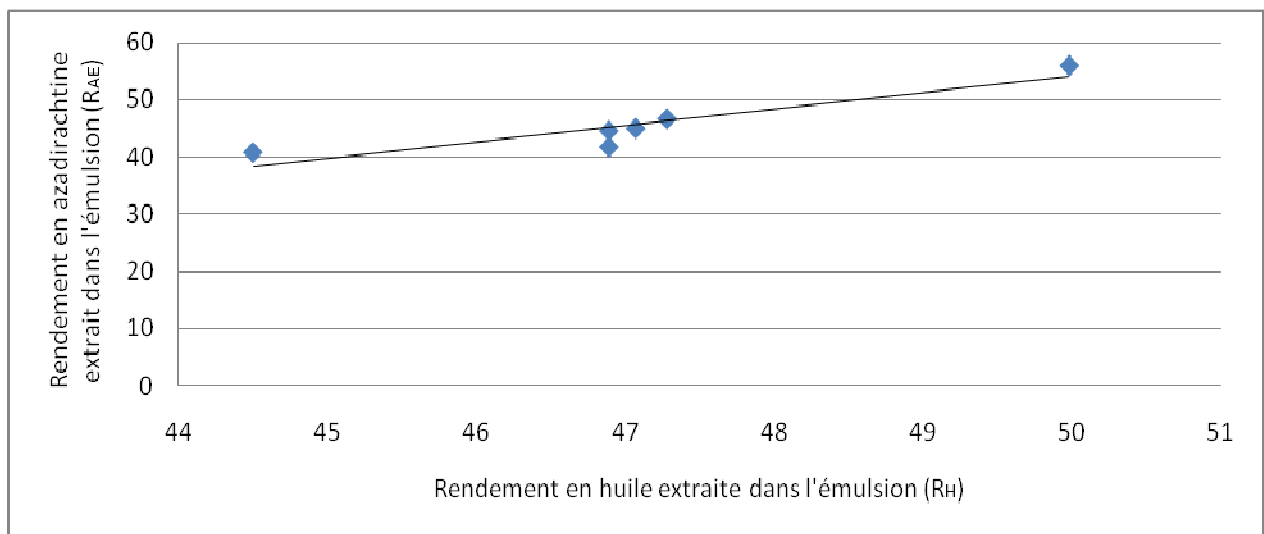
Acide Gras (%)	Essai 31	Essai 32	Essai 33	Essai 34	Essai 35	Essai 36
Acide pentadécanoïque	0,08	0,08	0,06	0,05	0,13	0,07
Acide palmitique	15,12	14,71	14,42	15,18	16,13	15,86
Acide palmitoléique	0,09	0,18	0,12	0,08	0,08	0,06
Acide heptadécanoïque	0,17	0,19	0,22	0,20	0,18	0,21
Acide stéarique	17,11	16,42	17,47	18,53	15,86	15,61
Acide élaidique	0,32	0,32	0,35	0,27	0,32	0,40
Acide oléique	44,09	44,29	43,79	43,33	43,46	44,68
Acide pétrosélinique	0,01	0,50	0,48	0,46	0,50	0,51
Acide linoléique	20,28	20,59	20,25	19,01	20,81	20,10
Acide arachidique	1,63	1,61	1,73	1,78	1,44	1,47
Acide linoléinique	0,59	0,57	0,52	0,54	0,63	0,55
Acide béhénique	0,12	0,12	0,12	0,13	0,11	0,14
Acide gadoléique	0,38	0,41	0,46	0,43	0,33	0,33

Ces émulsions sont aussi remarquablement stables (3 mois de stockage à 4°C sans démixtion), et contiennent de 22 à 35% des protéines de la graine. Le reste des protéines se répartissant pour 9 à 20% dans les phases aqueuses et de 56 à 68% dans les phases solides (culot+tourteau).

Enfin, ces émulsions contiennent 41 à 56% de l'azadirachtine de la graine ; 13 à 22% se retrouvant dans les phases aqueuses et 23 à 30% restant dans les phases solides.

Ces résultats montrent clairement l'efficacité du contacteur-séparateur que constitue l'extrudeur bi-vis pour le fractionnement aqueux de la graine de neem, qui permet d'atteindre en continu, en une seule étape et à partir de la graine entière de neem des rendements d'extraction d'huile de 45 à 50% et d'azadirachtine de 41 à 56% sous forme d'une émulsion concentrée et stable (2,6 à 4 g d'azadirachtine dans 1 kg d'émulsion), qui représente 0,25 à 0,32 kg d'émulsion par kg de graine traitée.

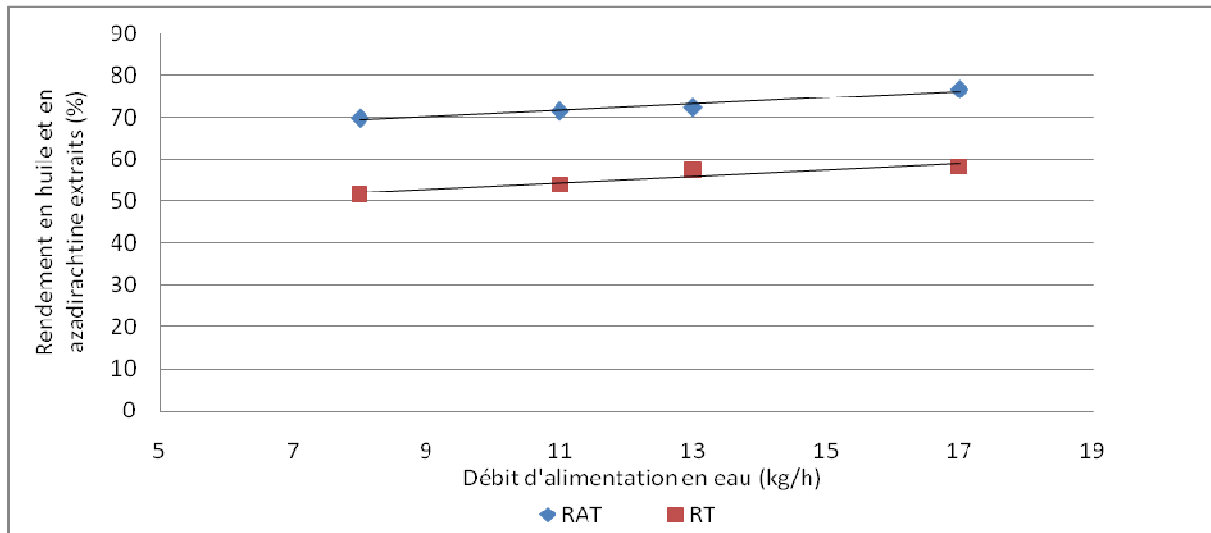
Il est d'ailleurs remarquable de constater que le rendement en azadirachtine extrait est directement lié au rendement en huile extraite (**Figure IV-10**).



**Figure IV-10 :** Rendement en azadirachtine extraite dans l'émulsion en fonction du rendement en huile extraite dans l'émulsion

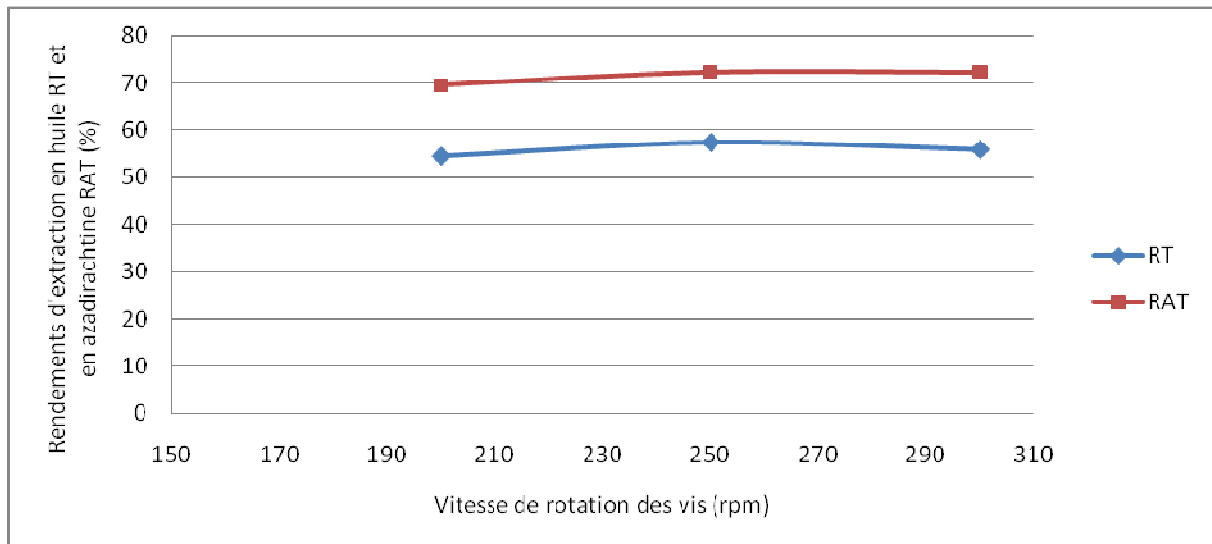
En conclusion, il apparaît donc que l'efficacité de l'extraction de l'azadirachtine par fractionnement aqueux de la graine de neem en extrudeur bi-vis est directement liée à sa capacité à entraîner l'huile sous forme d'émulsion stabilisée par une fraction hydrosoluble et tensioactive des protéines de la graine. Dans l'extrudeur bi-vis, plusieurs facteurs sont

susceptibles d'agir sur cet entraînement. Ainsi, l'augmentation du débit d'eau à débit de graines ( $8 \text{ kg.h}^{-1}$ ) et à vitesse de rotation des vis (250 rpm) constants, favorise le rendement d'extraction de l'huile et de l'azadirachtine (**Figure IV-11**)



**Figure IV-11 :** Evolution du rendement en huile et en azadirachtine extraits en fonction du débit d'alimentation en eau

Cette tendance, qui paraît en première approche cohérente avec l'effet classique du facteur dilution (taux de solvant croissant) sur l'efficacité d'extraction doit cependant être pondérée dans le cas particulier de la mise en œuvre en extrudeur bi-vis. En effet, le rendement dépend aussi du temps de contact entre solide et le liquide dans la zone d'extraction de l'extrudeur, sur lequel agissent les débits, et bien sûr la vitesse de rotation des vis. Or contrairement à ce que l'on pourrait attendre, à débit de graine et d'eau constants (respectivement  $8$  et  $13 \text{ kg.h}^{-1}$ ) la diminution de la vitesse de rotation des vis, qui devrait augmenter les temps de contact entre le liquide et solide, ne favorise pas l'extraction de l'huile et de l'azadirachtine (**Figure IV-12**).



**Figure IV-12 :** Evolution du rendement en huile et en azadirachtine extraits en fonction de la vitesse de rotation des vis

Comme l'ont étudié N'DIAYE (N'DIAYE, 1996 ; N'DIAYE et RIGAL, 2000) et PRAT (PRAT, 1999 ; PRAT et al., 2002) dans le cas de l'extraction d'hémicelluloses de matières lignocellulosiques, et EVON (2008) dans le cas de l'extraction aqueuse de l'huile de tournesol, l'optimisation du fractionnement avec l'extrudeur bi-vis mis en œuvre pour l'extraction nécessite d'étudier la répartition de la matière dans les différentes zones fonctionnelles du fourreau et la distribution des temps de séjour du solide et du liquide dans ces zones.

### **IV.3 OPTIMISATION DU FRACTIONNEMENT AQUEUX DE LA GRAINE DE NEEM EN EXTRUDEUR BI-VIS**

La configuration et le profil de vis installé dans l'extrudeur bi-vis mis en œuvre pour l'extraction et la séparation liquide/solide permettent de définir trois zones fonctionnelles où s'exercent successivement les opérations élémentaires suivantes, de l'introduction des graines à la sortie du tourteau :

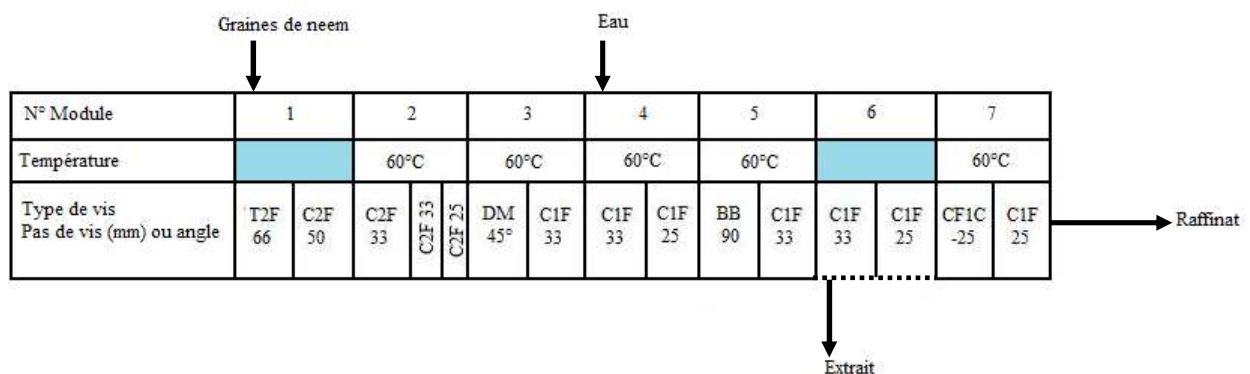
- Préparation des graines par broyage
- Extraction liquide/solide par injection d'eau et mise en contact sous cisaillement
- Séparation liquide/solide par pressage et filtration du liquide

Les temps de séjour du liquide et du solide dans chacune de ces zones successives dépendent d'une part du profil de vis et en particulier des éléments respectifs installés dans chaque zone, dans lesquelles la matière, transportée par les vis à pas direct, s'accumule, et d'autre part des variables opératoires de débit de solide et liquide et de vitesse de rotation des vis.

L'influence de ces différents facteurs sur les rendements d'extraction à l'eau de l'huile et de l'azadirachtine est étudiée dans un extrudeur bi-vis de type CLEXTRAL BC 45 (**Partie expérimentale V.4**), de plus grande taille, permettant d'atteindre des débits de graine plus élevés.

### IV.3.1 Choix de la configuration et du profil de vis de l'extrudeur bi-vis BC 45 pour le fractionnement aqueux des graines de neem

Les résultats des études comparatives des configurations et profils de vis pour le pressage des graines de tournesol (AMALIA KARTIKA, 2005 ; AMALIA KARTIKA et al., 2004a ; AMALIA KARTIKA et al., 2004b) et de neem (**Chapitre III. Paragraphe III.2**), et le fractionnement aqueux de la graine et plante entière de tournesol (EVON, 2008 ; EVON et al., 2007), ainsi que de la graine de neem (**paragraphe IV.2**) nous ont conduits à choisir la configuration et le profil de vis suivant pour l'extrudeur BC 45 (**Figure IV-13**)



**Figure IV-13** : Configuration et profil de vis pour le fractionnement aqueux des graines de neem en extrudeur bi-vis CLEXTRAL BC 45

Les éléments de vis installés dans les trois zones de broyage, d'extraction liquide/solide et de séparation par filtration sont les suivants.

- Les graines de neem sont introduites dans le premier module ouvert du fourreau par l'intermédiaire d'un doseur à vis volumétrique préalablement étalonné. Les premières

vis installées sont du type trapézoïdal à double filet et de pas élevé (T2F66). Elles sont destinées à favoriser l'avalancement des graines qui sont ensuite convoyées dans la zone de préparation par une séquence de vis conjuguées double filet, à pas direct (C2F) et décroissant (50 puis 33 puis 25). Cette séquence de vis autonettoyante assure un transport efficace des graines et une première mise en contrainte de la matière dans le premier élément restrictif installé dans cette zone, constitué de malaxeurs. Ces derniers sont choisis de type monolobe (MAL 0 ou DM) montés avec un angle de 45° pour assurer un effet de fort cisaillement sous contrainte de compression radiale destinée à intensifier le broyage des graines par comparaison avec les malaxeurs bilobes.

- Les graines broyées sont reprises par une séquence de vis simple filet conjugué (C1F) à pas direct et décroissant (33 puis 25) qui assurent le transport de la matière dans la zone d'extraction liquide/solide, dans laquelle l'eau est injectée (début du module 4) par l'intermédiaire d'une pompe volumétrique à piston DMK K20.2.P32. Le choix des vis C1F pour le convoyage du mélange s'appuie sur le fait que ce type de vis assure une meilleure poussée et un effet de cisaillement plus important que les C2F : les temps de séjour du mélange liquide/solide y sont plus importants avec un autoéchauffement plus élevé et la pression exercée sur la matière dans les éléments restrictifs, particulièrement les contre-filets, est plus forte. Dans cette zone d'extraction liquide/solide, 10 disques malaxeurs bilobes (MAL 2 ou BB) montés avec un angle de 90° (pas d'effet de convoyage) sont installés. Ces éléments restrictifs, supplémentaires par comparaison aux profils de vis adoptés pour les essais en extrudeur bi-vis BC 21, sont destinés à intensifier l'effet de mélange sous cisaillement de l'eau et des graines.
- Dans la zone de séparation liquide/solide, l'élément restrictif est un contre-filet CF1C, simple filet à pas inverse de -25, dans lequel se forme le bouchon dynamique de matière, assurant le passage du mélange et l'expression du liquide. Il est placé au début du module 7, en aval du module de filtration (module 6) constitué par 6 coquilles sphériques percées d'orifices coniques de 1 mm de diamètre d'entrée et 2 mm de diamètre de sortie. Cette configuration mise en œuvre pour le fractionnement aqueux de la graine de neem en extrudeur bi-vis BC 21 avait permis d'obtenir une bonne efficacité de séparation liquide/solide. Le choix d'un pas de vis de -25 se

justifie par le souhait de limiter le cisaillement exercé sur la matière et la génération de fines particules entraînées au niveau filtrat.

Les caractéristiques dimensionnelles des fourreaux et des différents éléments de vis permettent de calculer le volume libre dans chacun d'entre eux (**Tableau IV-14**).

**Tableau IV-14 :** Caractéristiques dimensionnelles des différents éléments de vis de l'extrudeur bi-vis CLEXTRAL BC 45

	Notation	Pas (mm)	Longueur (cm)	V <sub>Fourreau</sub> (cm <sup>3</sup> )	V <sub>vis</sub> (cm <sup>3</sup> )	V <sub>libre</sub> (cm <sup>3</sup> )
Vis de convoyage à double filet	T2F66	66	10	460,6	132,8	195,0
	C2F50	50	10	460,6	150,5	159,6
	C2F33	33	10	460,6	146,5	167,6
	C2F33	33	5	230,3	78,9	72,5
	C2F25	25	5	230,3	79,1	72,1
Vis de convoyage à simple filet	C1F33	33	10	460,6	161,1	138,4
	C1F25	25	10	460,6	158,1	144,4
	C1F25	25	5	230,3	88,0	54,3
Eléments restrictifs	MAL 0 ou DM	-	1	46,1	16,6	12,9
	MAL 2 ou BB	-	1	46,1	15,9	14,3
Contre-filet	CF1C-25	-25	10	460,6	260,0	200,6

### IV.3.2 Etude de la répartition de la matière et de la distribution des temps de séjour dans l'extrudeur bi-vis BC 45

La répartition de la matière le long du fourreau de l'extrudeur bi-vis est déterminée par pesée des matières solides recueillies dans chaque élément de vis après arrêt brutal de l'extrudeur en fonctionnement stable et ouverture du fourreau. Les matières sèches des mélanges solides recueillis sont déterminées.

La Distribution des Temps de Séjour (DTS) dans l'extrudeur bi-vis est déterminée par la méthode du traçage par colorant. Le colorant choisi est l'érythrosine (sel disodique de la tétraiodofluorescine) qui a donné de bons résultats lors d'études antérieures (N'DIAYE, 1996 ; AMALIA KARTIKA, 2006 ; EVON, 2008). Un échantillon de graines broyées (250 g) est mis en contact avec 500 mL d'une solution d'érythrosine de concentration 1% (m/v) dans l'eau pendant 24 heures. Une masse de 15 g de ce traceur coloré est introduite en un coup



dans l'entrée du solide de l'extrudeur. L'introduction de ce traceur est assimilée à une impulsion de Dirac. A partir du temps d'introduction du traceur, le solide extrudé est prélevé à la sortie du fourreau toutes les 10 secondes, sur une durée de 10 minutes. Le solide recueilli est séché et broyé finement pour être dosé par spectrophotométrie (**Partie expérimentale V.4.5.4**).

Par ailleurs, le transfert du colorant de la graine broyée vers l'eau étant quasiment instantané, la détermination de la distribution des temps de séjour de la phase liquide se fait aussi par prélèvement du filtrat toutes les 10 secondes pendant 10 minutes à partir de l'introduction du solide coloré. Les DTS obtenues pour la phase liquide sont donc la résultante du transport du liquide libre (eau injectée dans le module 4) mais aussi du liquide transporté par le solide, de l'introduction des graines à la fin du module 3, et extrait dans les modules suivants. Les prélèvements de filtrats sont analysés par spectrophotométrie (**Partie expérimentale V.4.5.4**).

Deux séries d'essais de fractionnement aqueux de la graine de neem en extrudeur bi-vis BC 45 sont réalisés à 60°C de température de consigne, à faible et à fort débits de graines (7 et 20 kg.h<sup>-1</sup>) pour des vitesses de rotation de vis de 50 et 100 rpm, et des ratios liquide/solide compris entre 1 et 2. Dans chaque cas, les filtrats et extrudats recueillis en régime de fonctionnement de l'extrudeur stable sont traités et analysés comme précédemment, et les rendements d'extraction en huile et en azadirachtine calculés. De plus, les bilans d'énergie mécanique et thermique consommés sont établis (**Partie expérimentale V.4.4.4**).

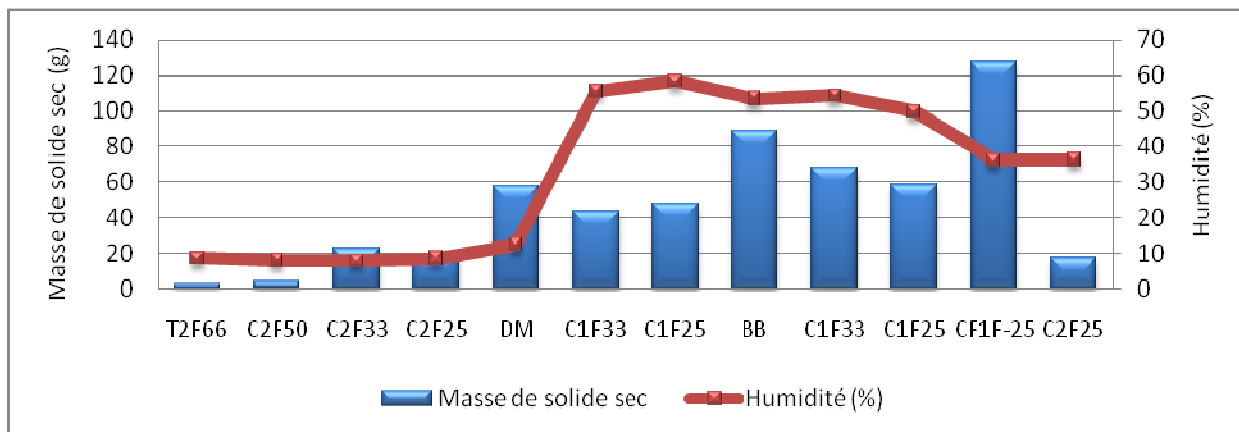
Le **Tableau IV-15** rassemble les résultats obtenus et les figures : **Figure IV-14** à **IV-29** décrivent la répartition des matières le long du fourreau et les distributions des temps de séjour des phases liquide et solide correspondants.

**Tableau IV-15** : Résultats expérimentaux obtenus pour l'extraction aqueuse des graines de neem en extrudeur bi-vis de type CLEXTRAL BC 45

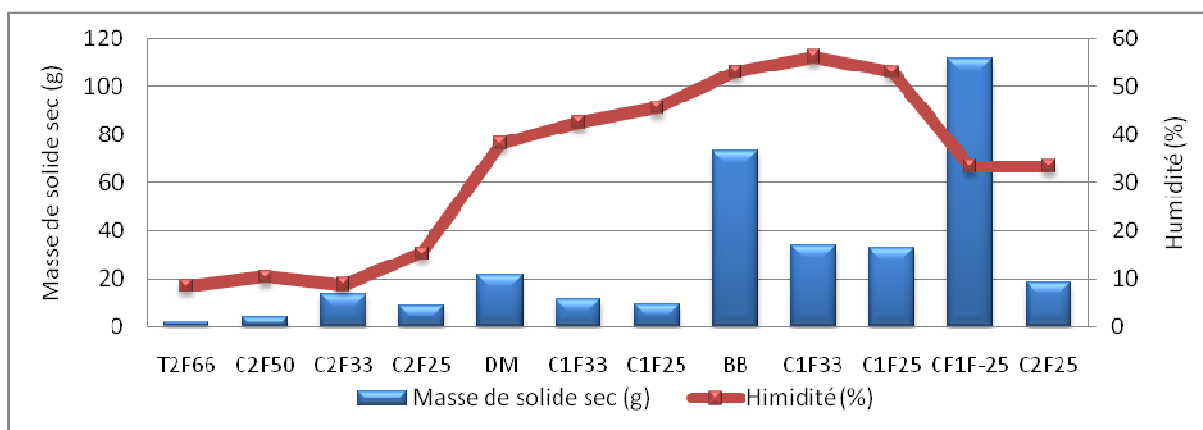
		Essai 37	Essai 38	Essai 39	Essai 40
Bilan	Ss (rpm)	50	100	100	100
	Température (°C)	60	60	60	60
	Q <sub>G</sub> (kg.h <sup>-1</sup> )	20	20	20	20
	Q <sub>E</sub> (kg.h <sup>-1</sup> )	20	20	40	30
	Q <sub>F</sub> (kg.h <sup>-1</sup> )	21,77	20,16	36,65	27,09
	Q <sub>T</sub> (kg.h <sup>-1</sup> )	15,93	17,73	16,35	15,98
Culot	T <sub>C1</sub> (%)	25,05	23,89	13,97	14,47
	T <sub>C2</sub> (%)	2,28	1,30	1,29	1,12
	T <sub>C1</sub> +T <sub>C2</sub> (%)	27,33	25,19	15,26	17,59
	H <sub>C1</sub> (%)	66,56	54,22	65,99	64,76
Emulsion	T <sub>EM</sub> (%)	22,27	21,32	16,52	19,28
	H <sub>EM</sub> (%)	31,43	33,12	31,94	37,87
	L <sub>EM</sub> (% MS)	87,34	88,85	95,41	93,20
	A <sub>EM</sub> (g.kg <sup>-1</sup> MS)	4,98	5,32	4,64	5,04
Phase Eau	T <sub>E</sub> (%)	50,40	53,49	68,22	62,43
	H <sub>E</sub> (%)	95,66	92,78	95,91	93,22
	A <sub>E</sub> (%)	0,51	0,42	0,31	0,38
Tourteaux	H <sub>T</sub> (%)	34,47	33,39	35,20	34,17
	M <sub>T</sub> (% MS)	3,66	2,77	3,09	5,30
	A <sub>T</sub> (g.kg <sup>-1</sup> MS)	0,69	0,67	0,63	0,61
	L <sub>T</sub> (% MS)	17,89	18,14	17,12	17,69
Rendements	<b>R<sub>G</sub> (% MS)</b>	<b>14,52</b>	<b>13,20</b>	<b>17,60</b>	<b>16,93</b>
	<b>R<sub>H</sub> (% MS)</b>	<b>45,37</b>	<b>41,56</b>	<b>54,99</b>	<b>52,91</b>
	<b>R<sub>T</sub> (% MS)</b>	<b>63,79</b>	<b>62,84</b>	<b>71,66</b>	<b>67,36</b>
	<b>R<sub>AE</sub> (% MS)</b>	<b>41,60</b>	<b>40,32</b>	<b>48,04</b>	<b>47,84</b>
	<b>R<sub>AC</sub> (% MS)</b>	<b>55,66</b>	<b>51,70</b>	<b>67,52</b>	<b>63,99</b>
	<b>R<sub>AT</sub> (% MS)</b>	<b>80,77</b>	<b>80,12</b>	<b>83,23</b>	<b>82,70</b>
Energie	I(A)	27	14	14	13
	EMS (W.h.kg <sup>-1</sup> )	49,16	50,98	50,98	47,34
	Pc (kW)	0,45	0,67	1,25	0,94
	ETS (W.h.kg <sup>-1</sup> )	22,50	33,50	31,25	31,33
	Et (W.h.kg <sup>-1</sup> )	71,66	84,48	82,23	78,68

**Tableau IV-15 (suite) :** Résultats expérimentaux obtenus pour l'extraction aqueuse des graines de neem en extrudeur bi-vis de type CLEXTRAL BC 45

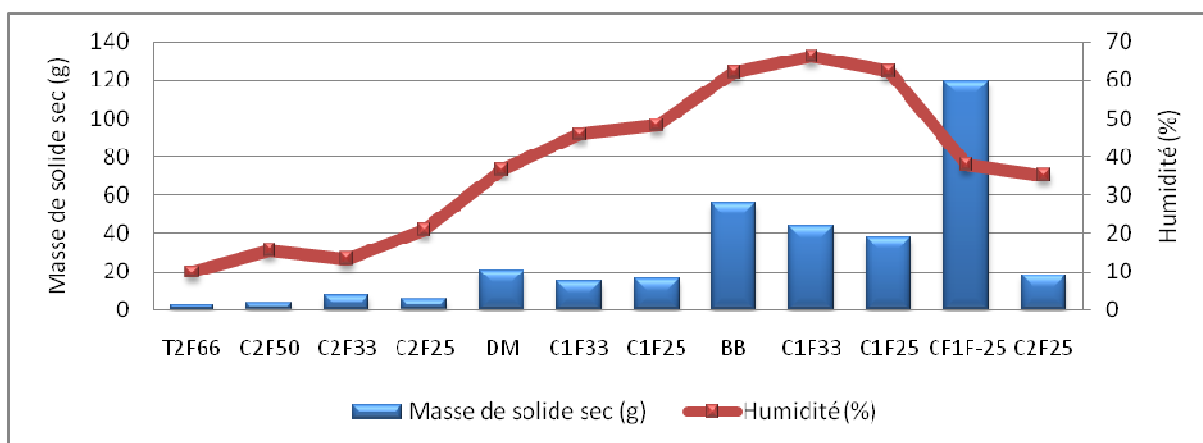
		Essai 41	Essai 42	Essai 43	Essai 44
Bilan	Ss (rpm)	100	50	100	50
	Température (°C)	60	60	60	60
	Q <sub>G</sub> (kg.h <sup>-1</sup> )	7	7	7	7
	Q <sub>E</sub> (kg.h <sup>-1</sup> )	10,0	10,0	12,5	12,5
	Q <sub>F</sub> (kg.h <sup>-1</sup> )	9,00	9,75	11,58	10,20
	Q <sub>T</sub> (kg.h <sup>-1</sup> )	6,74	6,65	6,75	6,44
Culot	T <sub>C1</sub> (%)	20,78	20,93	17,22	18,64
	T <sub>C2</sub> (%)	1,41	0,85	1,03	1,02
	T <sub>C1</sub> +T <sub>C2</sub> (%)	22,19	21,78	18,25	19,66
	H <sub>C</sub> (%)	66,03	61,39	62,19	61,12
Emulsion	T <sub>EM</sub> (%)	17,25	17,10	16,27	17,08
	H <sub>EM</sub> (%)	31,16	34,13	32,10	31,43
	L <sub>EM</sub> (% MS)	89,70	91,69	85,65	91,32
	A <sub>EM</sub> (mg.g <sup>-1</sup> MS)	5,34	5,43	5,02	5,34
Phase Eau	T <sub>E</sub> (%)	60,56	61,12	65,48	63,26
	H <sub>E</sub> (%)	95,45	93,08	94,85	95,65
	A <sub>E</sub> (%)	0,50	0,43	0,35	0,33
Tourteaux	H <sub>T</sub> (%)	36,88	36,56	38,84	37,17
	M <sub>T</sub> (% MS)	2,63	2,86	3,44	2,34
	L <sub>T</sub> (% MS)	19,91	19,06	18,60	18,73
	A <sub>T</sub> (mg.g <sup>-1</sup> MS)	0,56	0,55	0,65	0,68
Rendements	<b>R<sub>G</sub> (% MS)</b>	<b>13,70</b>	<b>14,39</b>	<b>15,65</b>	<b>15,58</b>
	<b>R<sub>H</sub> (% MS)</b>	<b>42,80</b>	<b>44,95</b>	<b>48,92</b>	<b>48,70</b>
	<b>R<sub>T</sub> (% MS)</b>	<b>62,19</b>	<b>64,10</b>	<b>65,72</b>	<b>66,17</b>
	<b>R<sub>AE</sub> (% MS)</b>	<b>40,97</b>	<b>42,81</b>	<b>46,10</b>	<b>45,79</b>
	<b>R<sub>AC</sub> (% MS)</b>	<b>60,53</b>	<b>61,20</b>	<b>65,15</b>	<b>61,08</b>
	<b>R<sub>AT</sub> (% MS)</b>	<b>82,90</b>	<b>83,34</b>	<b>80,74</b>	<b>80,25</b>
Energie	I(A)	9,00	11,00	10,00	12,00
	EMS (W.h.kg <sup>-1</sup> )	93,64	57,23	104,05	62,43
	Pc (kW)	0,52	0,64	0,77	0,83
	ETS (W.h.kg <sup>-1</sup> )	52,00	64,00	61,60	66,40
	Et (W.h.kg <sup>-1</sup> )	145,64	121,23	165,65	128,83



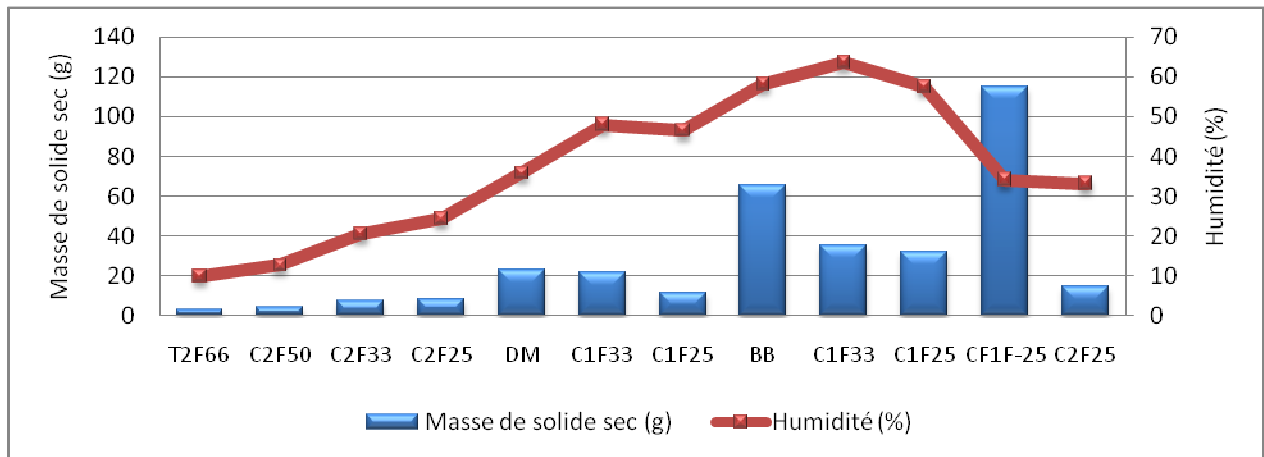
**Figure IV-14 :** Evolution de l'humidité et de la masse de solide sec prélevée le long du réacteur pour l'Essai 37 ( $Q_G = 20 \text{ kg.h}^{-1}$  ;  $Q_E = 20 \text{ kg.h}^{-1}$  ;  $S_s = 50 \text{ rpm}$ )



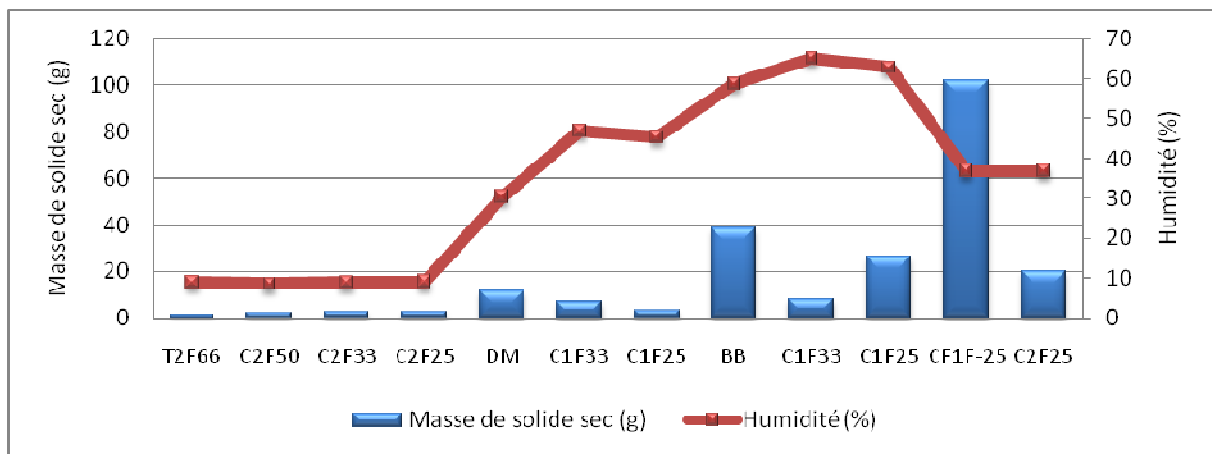
**Figure IV-15 :** Evolution de l'humidité et de la masse de solide sec prélevée le long du réacteur pour l'Essai 38 ( $Q_G = 20 \text{ kg.h}^{-1}$  ;  $Q_E = 20 \text{ kg.h}^{-1}$  ;  $S_s = 100 \text{ rpm}$ )



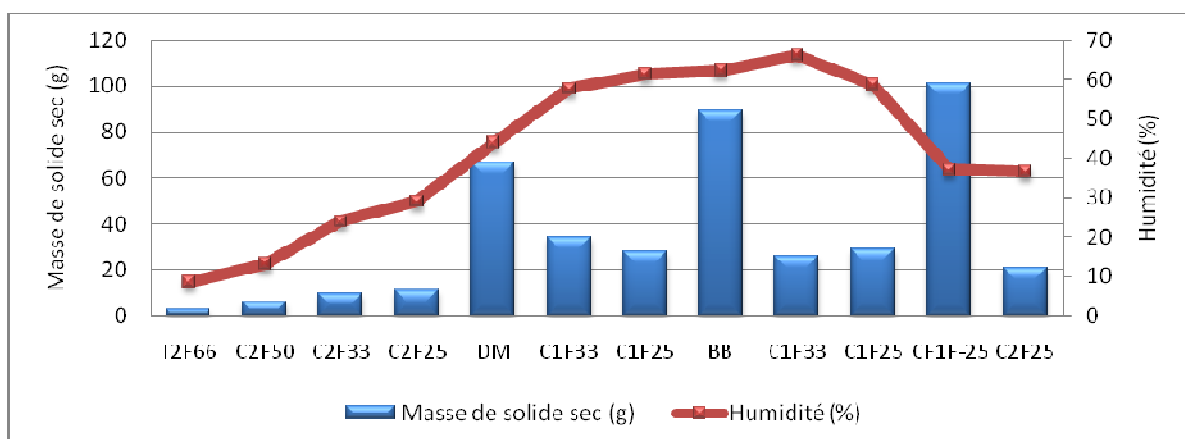
**Figure IV-16 :** Evolution de l'humidité et de la masse de solide sec prélevée le long du réacteur pour l'Essai 39 ( $Q_G = 20 \text{ kg.h}^{-1}$  ;  $Q_E = 40 \text{ kg.h}^{-1}$  ;  $S_s = 100 \text{ rpm}$ )



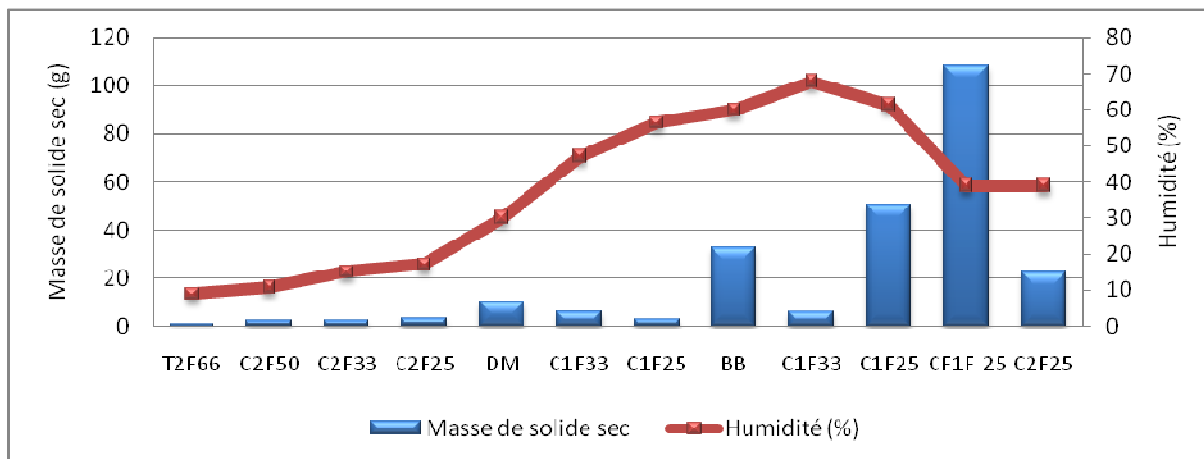
**Figure IV-17 :** Evolution de l'humidité et de la masse de solide sec prélevée le long du réacteur pour l'Essai 40 ( $Q_G=20 \text{ kg.h}^{-1}$  ;  $Q_E=30 \text{ kg.h}^{-1}$  ;  $S_s=100 \text{ rpm}$ )



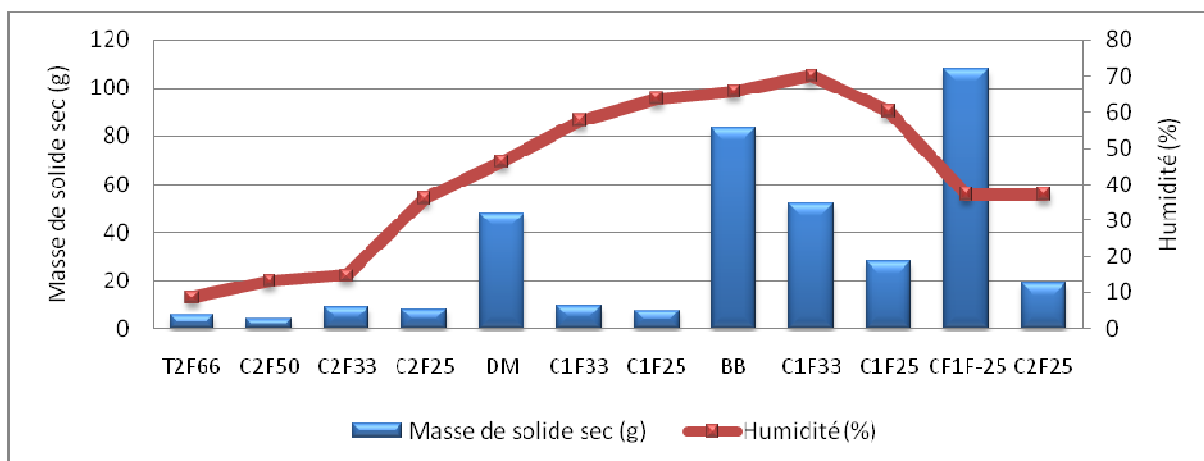
**Figure IV-18 :** Evolution de l'humidité et de la masse de solide sec prélevée le long du réacteur pour l'Essai 41 ( $Q_G=7 \text{ kg.h}^{-1}$  ;  $Q_E=10 \text{ kg.h}^{-1}$  ;  $S_s=100 \text{ rpm}$ )



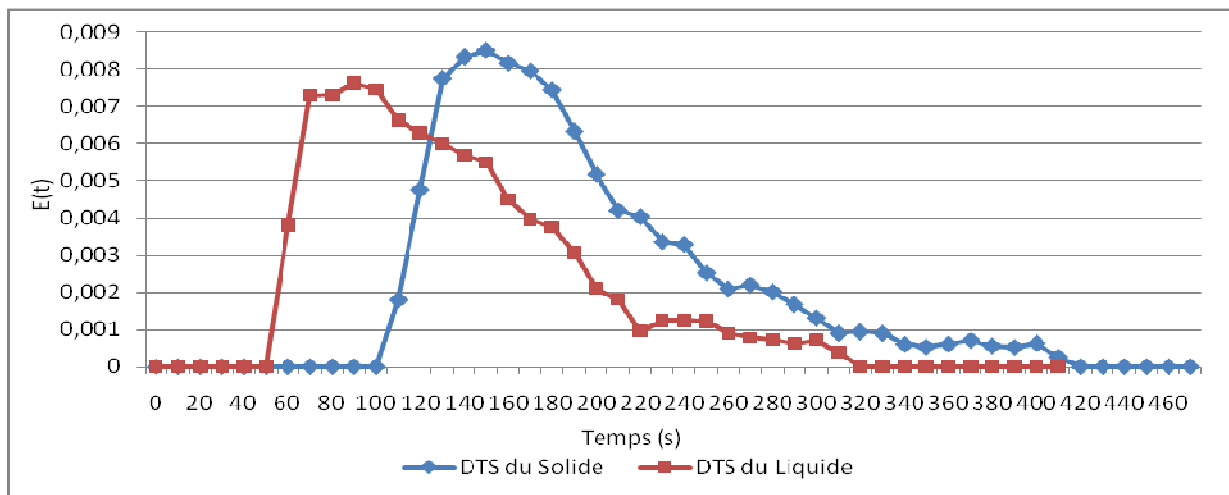
**Figure IV-19 :** Evolution de l'humidité et de la masse de solide sec prélevée le long du réacteur pour l'Essai 42 ( $Q_G=7 \text{ kg.h}^{-1}$  ;  $Q_E=10 \text{ kg.h}^{-1}$  ;  $S_s=50 \text{ rpm}$ )



**Figure IV-20 :** Evolution de l'humidité et de la masse de solide sec prélevée le long du réacteur pour l'Essai 43 ( $Q_G = 7 \text{ kg.h}^{-1}$  ;  $Q_E = 12,5 \text{ kg.h}^{-1}$  ;  $S_s = 100 \text{ rpm}$ )

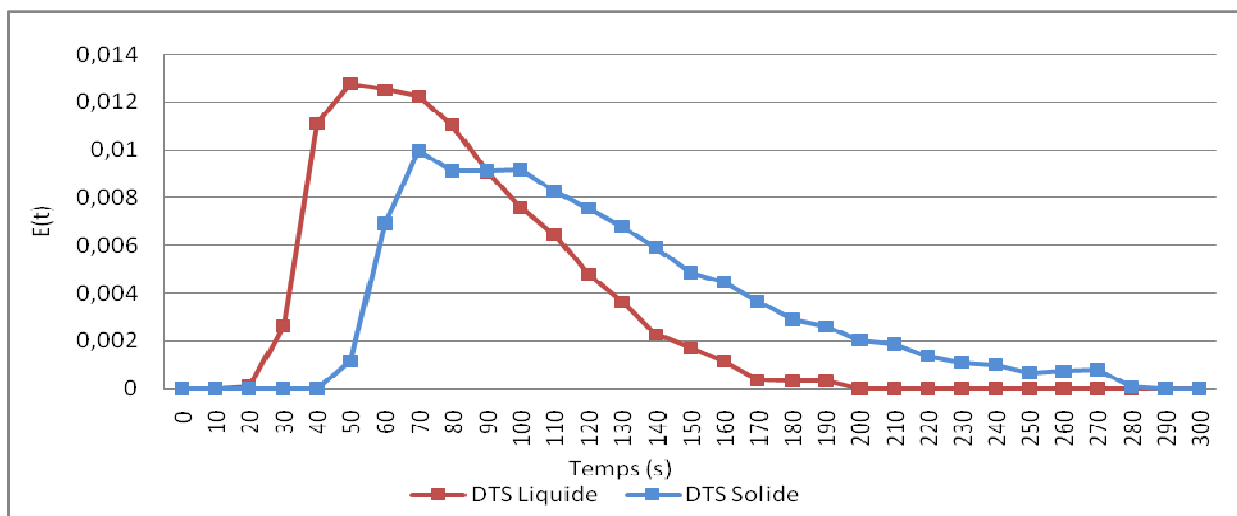


**Figure IV-21 :** Evolution de l'humidité et de la masse de solide sec prélevée le long du réacteur pour l'Essai 44 ( $Q_G = 7 \text{ kg.h}^{-1}$  ;  $Q_E = 12,5 \text{ kg.h}^{-1}$  ;  $S_s = 50 \text{ rpm}$ )



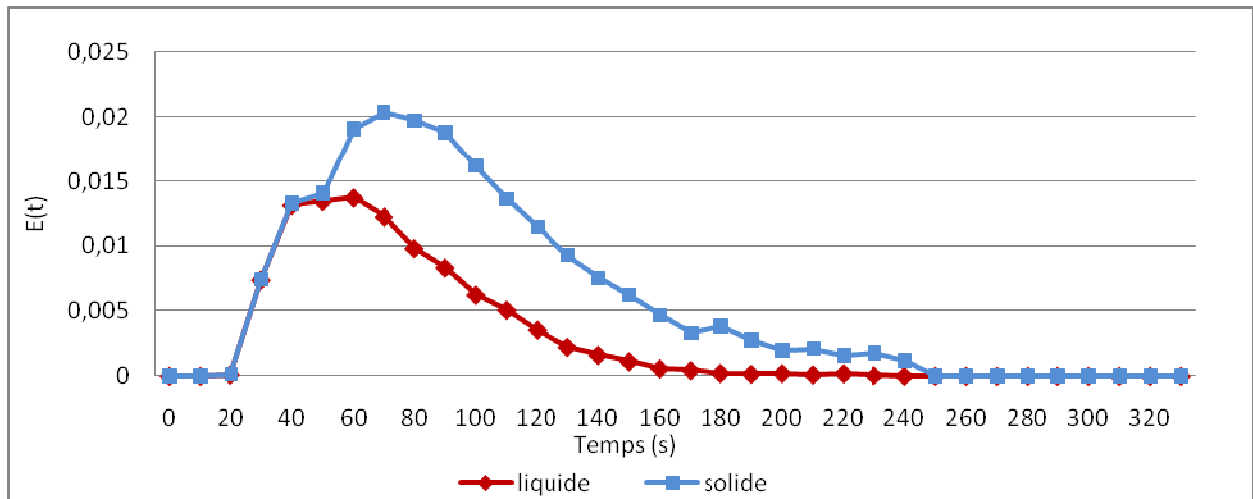
TSM du liquide=136 s ; TSM du solide=194 s

**Figure IV-22 :** Distribution des DTS du solide et du liquide le long du réacteur pour l'Essai 37 ( $Q_G = 20 \text{ kg.h}^{-1}$  ;  $Q_E = 20 \text{ kg.h}^{-1}$  ;  $S_s = 50 \text{ rpm}$ )



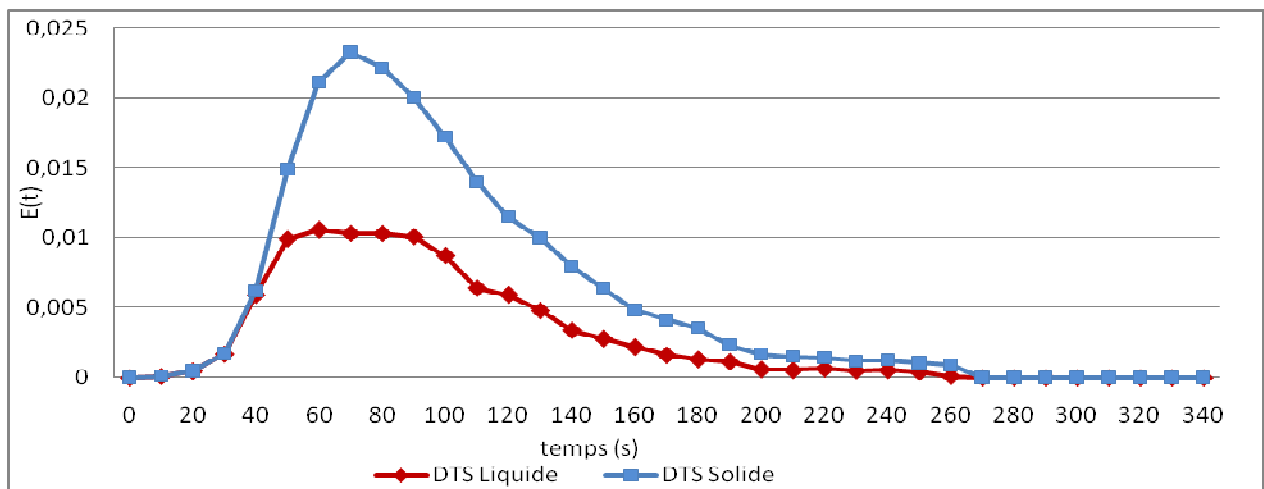
TSM du liquide=79 s ; TSM du solide=121 s

**Figure IV-23 :** Distribution des DTS du solide et du liquide le long du réacteur pour l'Essai 38 ( $Q_G = 20 \text{ kg.h}^{-1}$  ;  $Q_E = 20 \text{ kg.h}^{-1}$  ;  $S_s = 100 \text{ rpm}$ )



TSM du liquide=72 s ; TSM du solide=106 s

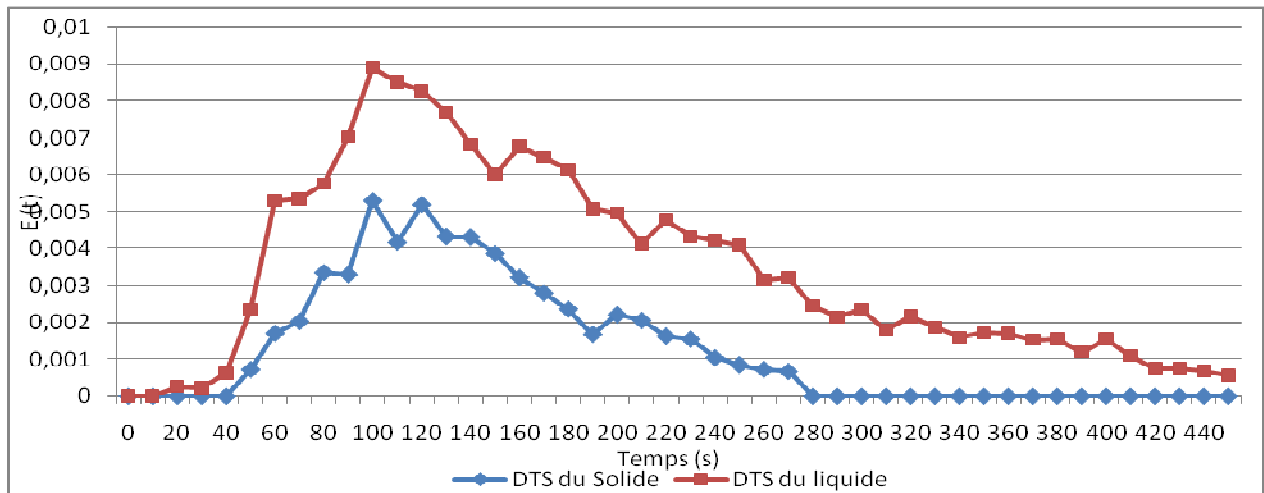
**Figure IV-24 :** Distribution des DTS du solide et du liquide le long du réacteur pour l'Essai 39 ( $Q_G=20 \text{ kg.h}^{-1}$  ;  $Q_E=40 \text{ kg.h}^{-1}$  ;  $S_s=100 \text{ rpm}$ )



TSM du liquide=73 s ; TSM du solide=120 s

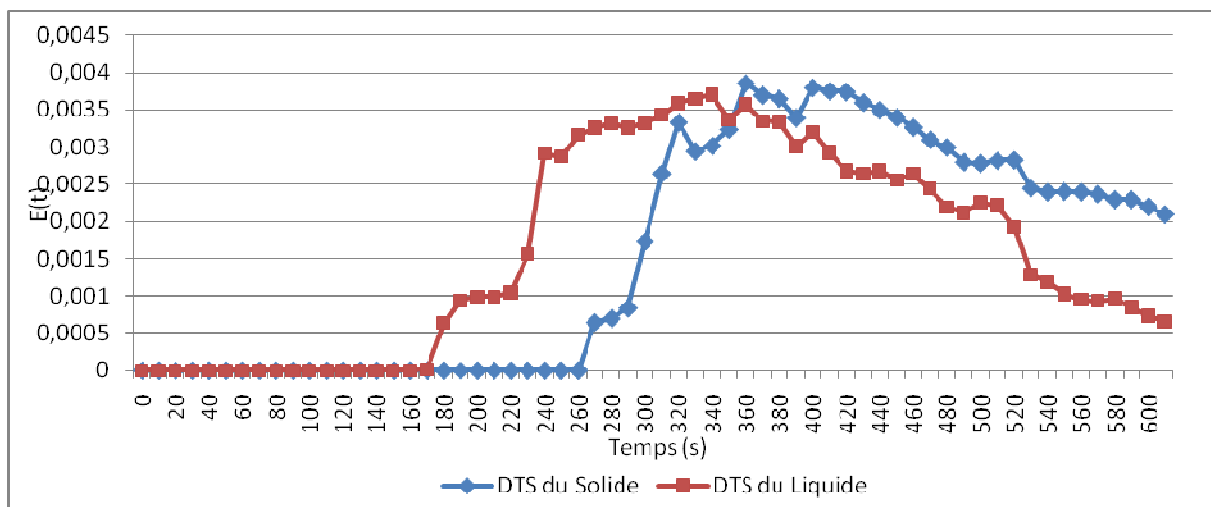
**Figure IV-25 :** Distribution des DTS du solide et du liquide le long du réacteur pour l'Essai 40 ( $Q_G=20 \text{ kg.h}^{-1}$  ;  $Q_E=30 \text{ kg.h}^{-1}$  ;  $S_s=100 \text{ rpm}$ )





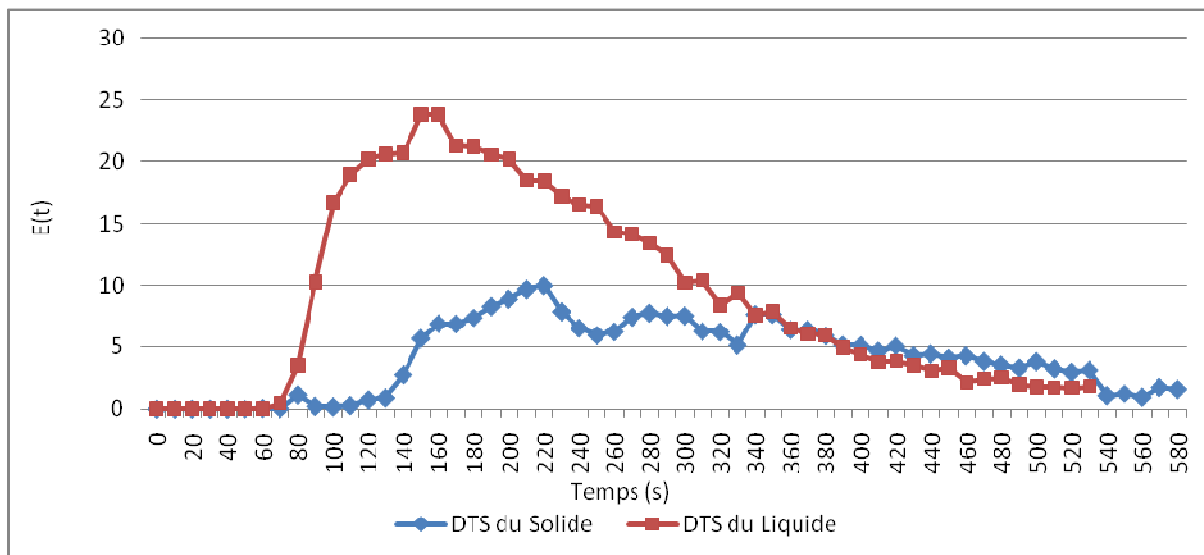
TSM du liquide=132 s ; TSM du solide=236 s

**Figure IV-26 :** Distribution des DTS du solide et du liquide le long du réacteur pour l'Essai 41 ( $Q_G=7 \text{ kg.h}^{-1}$  ;  $Q_E=10 \text{ kg.h}^{-1}$  ;  $S_s=100 \text{ rpm}$ )



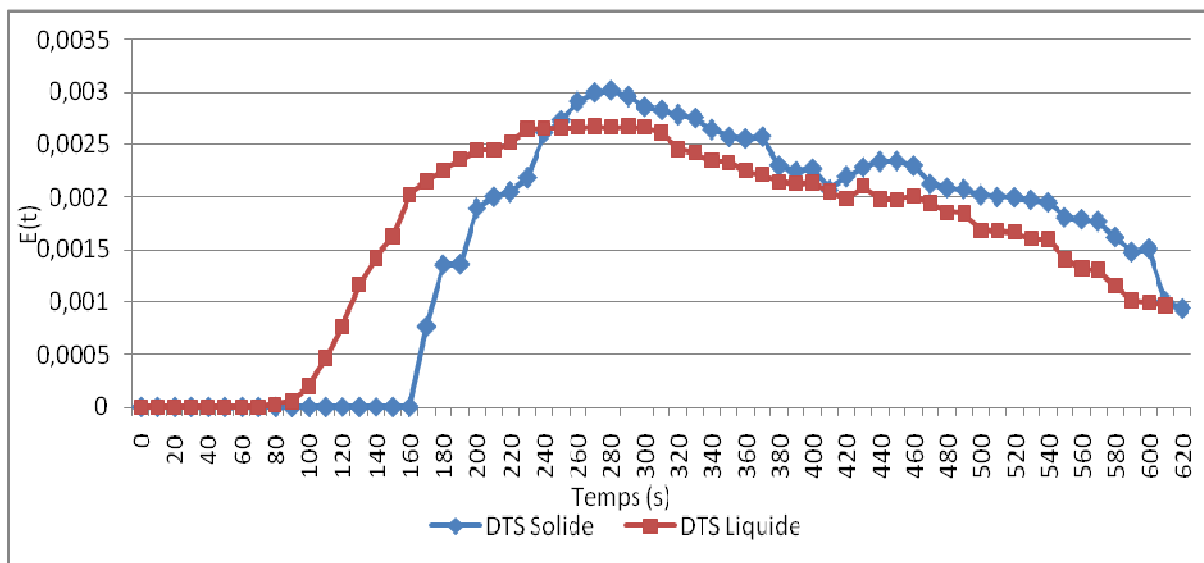
TSM du liquide=375 s ; TSM du solide=444 s

**Figure IV-27 :** Distribution des DTS du solide et du liquide le long du réacteur pour l'Essai 42 ( $Q_G=7 \text{ kg.h}^{-1}$  ;  $Q_E=10 \text{ kg.h}^{-1}$  ;  $S_s=50 \text{ rpm}$ )



TSM du liquide=162 s ; TSM du solide=348 s

**Figure IV-28 :** Distribution des DTS du solide et du liquide le long du réacteur pour l'Essai 44 ( $Q_G=7 \text{ kg.h}^{-1}$  ;  $Q_E=12,5 \text{ kg.h}^{-1}$  ;  $S_s=100 \text{ rpm}$ )



TSM du liquide=343 s ; TSM du solide=379 s

**Figure IV-29 :** Distribution des DTS du solide et du liquide le long du réacteur pour l'Essai 44 ( $Q_G=7 \text{ kg.h}^{-1}$  ;  $Q_E=12,5 \text{ kg.h}^{-1}$  ;  $S_s=50 \text{ rpm}$ )

En première approche, plusieurs points peuvent être soulignés.

- Pour l'ensemble des essais (**Tableau IV-14**), le pressage du mélange dans le contre filet, qui est l'élément restrictif le plus rempli, est efficace : la matière sèche du solide formant le bouchon dynamique est voisine de 65% et le tourteau extrudé ne contient plus que 33,4 à 39% d'eau. Globalement, les rendements d'extraction en huile ( $R_T=63$  à 72%) et en azadirachtine ( $R_{AT}=80$  à 83%) sont élevés. Le rendement en huile et en azadirachtine extrait dans la phase émulsion s'avère surtout sensible à l'augmentation du ratio liquide/solide et atteint des valeurs de 55% pour l'huile et 48% pour l'azadirachtine pour un ratio de 2, à fort débit de graines ( $20 \text{ kg.h}^{-1}$ ) et pour une vitesse de vis de 100 rpm.
- A faible débit de graines ( $7 \text{ kg.h}^{-1}$ ), la dispersion axiale du liquide et du solide dans l'extrudeur apparaît très importante, comme en témoignent l'étalement très important des courbes de distributions des temps de séjour (**Figure IV-26 ; Figure IV-27 ; Figure IV-28 et Figure IV-29**). Ce résultat peut être imputé au faible taux de remplissage en solide de l'extrudeur, en particulier à forte vitesse de rotation des vis ( $\left(\frac{Q_G}{S_s} = 0,07\right)$  à  $7 \text{ kg.h}^{-1}$  de graines et 100 rpm, se traduisant sur la distribution de la matière sèche le long du fourreau par un remplissage très faible des disques malaxeurs DM dans la zone de broyage, et relativement faible des malaxeurs bilobes BB dans la zone d'extraction (**Figure IV-18 ; Figure IV-20**). La diminution de la vitesse de rotation des vis (50 rpm) contribue au remplissage de ces éléments en solide (**Figure IV-19 ; Figure IV-21**), et augmente très significativement les temps de séjour moyens pour les liquides et les solides (**Figure IV-27 ; Figure IV-29**).
- A fort débit de graines ( $20 \text{ kg.h}^{-1}$ ), les courbes de distribution des temps de séjour sont plus régulières et moins étalées (**Figure IV-22 ; Figure IV-23 ; Figure IV-24 ; Figure IV-25**) et les temps de séjour moyen du liquide et du solide, tout comme le remplissage en solide des différents éléments de vis (**Figure IV-14 ; Figure IV-15 ; Figure IV-16 ; Figure IV-17**) sont sensibles à la vitesse de rotation des vis et au débit d'eau injectée (**Tableau IV-16**).

**Tableau IV-16 :** Temps de séjour moyen du solide et du liquide en sortie d’extrudeur bi-vis BC 45 pour un débit de graines de 20 kg.h<sup>-1</sup>

	Essai 37	Essai 38	Essai 39	Essai 40
S <sub>S</sub> (rpm)	50	100	100	100
Q <sub>E</sub> (kg.h <sup>-1</sup> )	20	20	40	30
Liquide/solide	1	1	2	1,5
TSM du liquide (s)	136	79	72	73
TSM du solide (s)	194	121	106	120

A taux de remplissage en solide identique ( $Q_G / S_S = 0,2$  à  $Q_G = 20 \text{ kg.h}^{-1}$  et  $S_S = 100 \text{ rpm}$ ), les meilleurs rendements d’extraction d’huile ( $R_H = 55\%$ ,  $R_T = 71,66\%$ ) et d’azadirachtine ( $R_{AE} = 48\%$ ,  $R_{AC} = 65,5\%$ ,  $R_{AT} = 83,23\%$ ) dans le filtrat sont obtenus pour les temps de séjour moyen du liquide et du solide les plus faibles, mais pour le ratio liquide/solide le plus élevé (L/S=2 : essai 39). L’effet du temps de séjour du liquide et du solide doit donc être analysé plus finement à travers les contributions de chaque élément de vis au temps de séjour moyen.

### **IV.3.2 Etude de l’influence des facteurs vitesse de rotation des vis, débits de graine et d’eau sur la distribution des temps de séjour du solide et du liquide dans les différentes zones de l’extrudeur bi-vis BC 45**

A partir de l’étude des conditions d’extraction d’hémicelluloses de bois de peuplier par la soude en extrudeur bi-vis (N’DIAYE, 1996), PRAT a développé un modèle permettant de représenter les phénomènes de transfert d’un mélange diphasique liquide/solide dans le fourreau, à travers la distribution des temps de séjour du liquide et du solide dans les différents éléments de vis (PRAT, 1998 ; PRAT et al., 2002). EVON a exploité ce modèle pour la description du fonctionnement de l’extrudeur bi-vis pour le fractionnement aqueux de la plante entière de tournesol (EVON, 2008).

#### **IV.3.2.1 Calcul des temps de séjour dans les éléments de vis de l’extrudeur**

Dans ce modèle, le transport de la matière est décrit en terme de temps de séjours moyen, sous forme unidimensionnelle suivant l’axe de l’extrudeur. Tous les éléments de vis de l’extrudeur sont considérés comme indépendants les uns des autres. Les éléments de vis sont classés en éléments non remplis, en éléments partiellement remplis et en éléments pleins par

comparaison des masses de solides recueillies dans chaque élément de vis multipliées par la densité apparente, au volume libre dans l'élément de vis (**Tableau IV-14**). Les temps de séjour des phases liquide et solide s'expriment par la somme des contributions de chaque élément.

#### **IV.3.2.1.1 Les éléments non remplis**

Les éléments non remplis sont les vis de convoyage, exception faite à la fin de la vis C1F25 située en amont du contre-filet sur une longueur de 5 cm.

Le temps de séjour du solide ( $\tau_s$ ) dans ces éléments non remplis est calculé à partir de l'équation suivante :

$$\tau_s = \frac{L}{S_s \times P \times (1 - \alpha)}$$

Avec :

**L** : Longueur de la vis de convoyage (cm)

**P** : Pas de la vis de convoyage

**$\alpha$**  : Coefficient de glissement de la matière végétale sur les vis (coefficient ajustable du modèle)

Le coefficient  $\alpha$  traduit les frottements entre la matière et les vis d'une part et entre la matière et le fourreau d'autre part. Ce paramètre peut aussi prendre en compte les phénomènes qui interviennent dans la zone de pénétration entre les deux vis. Il s'agit bien sûr d'une représentation très simplifiée de ces phénomènes.

#### **IV.3.2.1.2 Les éléments partiellement remplis**

Les éléments partiellement remplis dans le cas du profil de vis mis en œuvre sont les disques malaxeurs monolobes.

Le temps de séjour du solide ( $\tau_s$ ) dans ces disques malaxeurs est calculé à partir de l'équation suivante :

$$\tau_s = \rho_{APP} \frac{V_{libre} \times (1 - \beta)}{Q_G}$$

Avec :

**$V_{libre}$**  : Volume libre de l'élément de vis

**$Q_G$**  : Débit d'alimentation en graine

**$\beta$**  : Taux de vide de la matière végétale dans cet élément (coefficient ajustable du modèle)

$\rho_{APP}$  : Masse volumique apparente de la graine dans l'élément de vis

La masse volumique apparente est reliée à la masse volumique nette et à la porosité ( $\epsilon$ ) selon l'équation suivante.

$$\rho_{APP} = \rho_{NET} \times (1 - \epsilon)$$

#### IV.3.2.1.3 Les éléments pleins

Les éléments totalement remplis sont le contre-filet et les disques malaxeurs bilobes.

Dans le contre-filet, seule la phase solide imprégnée de liquide est présente. Le temps de séjour du solide ( $\tau_s$ ) dans cette zone est calculé à partir de l'équation suivante :

$$\tau_s = \rho_{APP} \times (1 - \alpha) \times \frac{V_{libre}}{Q_T \times MS_T}$$

Avec :

$\epsilon$  : Porosité locale du solide dans la zone de pressage ( $\epsilon < \epsilon_{PE}$ ) ; c'est un coefficient ajustable du modèle)

$MS_T$  : Teneur en matière sèche du tourteau

$Q_T$  : Débit de tourteau

Dans les disques malaxeurs bilobes la phase solide et la phase liquide sont présentes. Le temps de séjour du solide ( $\tau_s$ ) dans cette zone est calculé à partir de l'équation suivante :

$$\tau_s = \frac{\gamma}{\frac{\gamma}{\rho_{NET}} + \frac{1}{\rho_{EAU}}} \times \frac{V_{libre}}{Q_S}$$

$$\tau_L = \delta \times \tau_s$$

Avec :

$\gamma$  : Coefficient qui s'exprime de façon simplifiée par la relation suivante :

$$\gamma = \frac{m_S}{m_L} \approx \frac{Q_S}{Q_L} = \frac{Q_S}{Q_G + Q_E - Q_S}$$

$m_S$  : Masse de solide dans l'élément de vis

$m_L$  : Masse de liquide dans l'élément de vis

$Q_S$  : Débit massique du solide

$Q_L$  : Débit massique du liquide

### IV.3.2.2 Calcul des masses de solides secs dans les éléments de vis de l'extrudeur

La masse de solide sec dans les différents éléments de vis dépend du temps de séjour moyen dans ces éléments, des débits d'alimentation en solide et en liquide. Elle dépend aussi de la présence simultanée des phases solide et liquide dans les éléments de vis (**Tableau IV-17**).

**Tableau IV-17** : Equations donnant la masse de solide sec dans les différents éléments de vis en fonction du temps de séjour moyen

Eléments de vis	Masse de solide sec
Eléments non remplis avec la phase solide avec ou sans phase liquide avant le module de filtration	$m_{\text{sec}} = \tau_s \times Q_G \times MS_G$
Eléments non remplis avec la phase solide avec sans phase liquide au-dessus et après les grilles de filtration	$m_{\text{sec}} = \tau_s \times Q_T \times MS_T$
Eléments partiellement remplis (disques malaxeurs monolobes)	$m_{\text{sec}} = \tau_s \times Q_G \times MS_G$
Elément rempli (contre-filet)	$m_{\text{sec}} = \tau_s \times Q_T \times MS_T$
Eléments remplis (disques malaxeurs bilobes)	$m_{\text{sec}} = [\tau_s \times Q_S] + [\tau_L \times \langle (Q_G \times MS_G) - Q_S \rangle]$

### IV.3.2.3 Déterminations des coefficients ajustables du modèle

Le modèle proposé nécessite la connaissance des valeurs suivantes :

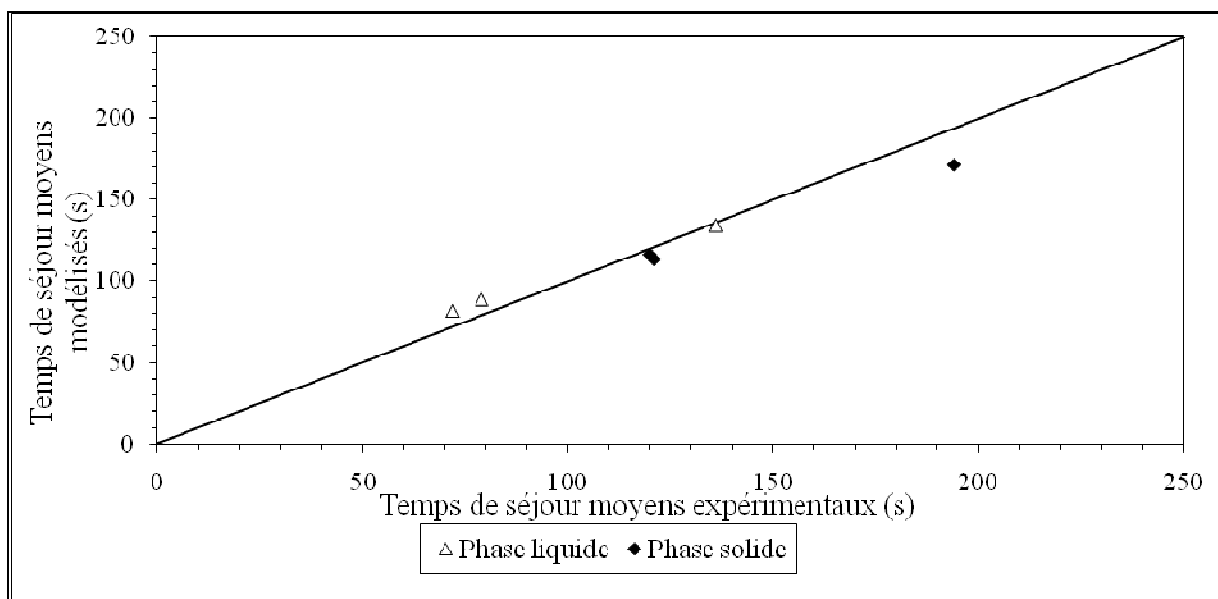
- Les valeurs des paramètres géométriques des éléments de vis (longueur L, pas p) ;
- Les valeurs des paramètres opératoires ( $S_S$ ,  $Q_G$  et  $Q_E$ ) ;
- Une des réponses indirectes du système ( $MS_T$ ) ;
- Les propriétés physico-chimiques de la matière (masse volumique, porosité) ;

Les quatre coefficients ajustables du modèle ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\varepsilon$ ,  $\delta$ ) sont déterminés à partir des résultats des Essais 37, 38 et 40 par minimisation du critère  $\eta$  pour le liquide et pour le solide à l'aide du logiciel Excel.  $\eta$  est déterminé à partir de l'équation suivante :

$$\eta = \frac{1}{3} \times \sum_1^3 \frac{2 \times |\tau_{\text{IEXP}} - \tau_{\text{IMOD}}|}{\tau_{\text{IEXP}} - \tau_{\text{IMOD}}}$$

La minimisation des valeurs  $\eta_s$  (pour le solide) et  $\eta_L$  (pour le liquide) qui permettent la comparaison des temps de séjour expérimentaux ( $\tau_{iEXP}$ ) et calculés par le modèle ( $\tau_{iMOD}$ ) pour la phase solide et la phase liquide donne les valeurs suivantes pour les coefficients ajustables du modèle :  $\alpha = 0,63$ ,  $\beta = 0,26$ ,  $\varepsilon = 0,34$  et  $\delta = 3,00$  pour  $\eta_s = 0,054$  et  $\eta_L = 0,083$ .

La comparaison des temps de séjour moyens expérimentaux et calculés (**Figure IV-30**) montre que l'identification des coefficients ajustables du modèle est satisfaisante pour la phase liquide, et correcte pour la phase solide.



**Figure IV-30** : Comparaison des temps de séjour moyens expérimentaux et calculés de la phase solide et de la phase liquide, pour les essais 37, 38 et 40

#### IV.3.2.4 Validation expérimentale du modèle par le calcul des temps de séjour moyens du solide et du liquide et par le calcul du remplissage de l'extrudeur bi-vis

La répartition des temps de séjour moyens de la phase solide et de la phase liquide dans les différents éléments de l'extrudeur déterminés à partir du modèle établie avec les essais 37, 38 et 40 permet de calculer le temps de séjour moyen du solide et du liquide dans l'extrudeur pour l'essai 39 (**Tableau IV-18**). Ainsi, les faibles écarts entre les temps de séjour moyens du solide ( $\tau_s = 113,2$  s) et du liquide ( $\tau_L = 76,5$  s) ainsi calculés et les temps de séjour moyens du solide ( $\tau_s = 121$  s) et du liquide ( $\tau_L = 73$  s) mesurés expérimentalement montrent que la

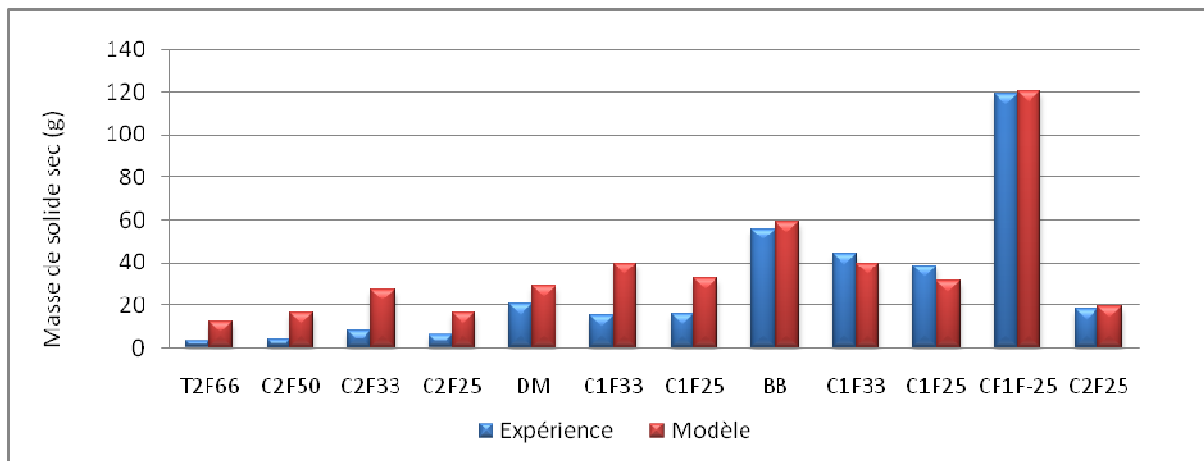


prédiction du modèle est satisfaisante (moins de 7% d'écart sur le solide et de 4% pour le liquide).

**Tableau IV-18 :** Prédiction des temps de séjour moyens du solide et du liquide dans chacun des éléments de vis, pour l'essai 39 (exprimés en s)

Vis	Longueur (cm)	Essai 37		Essai 38		Essai 40		Essai 39	
		$\tau_s$	$\tau_L$	$\tau_s$	$\tau_L$	$\tau_s$	$\tau_L$	$\tau_s$	$\tau_L$
T2F60	10	4,9	4,9	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5
C2F50	10	6,5	6,5	3,2	3,2	3,2	3,2	3,2	3,2
C2F33	10	9,8	9,8	4,9	4,9	4,9	4,9	4,9	4,9
C2F33	5	4,9	4,9	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5
C2F25	5	6,5	6,5	3,2	3,2	3,2	3,2	3,2	3,2
DM (45°)	10	5,8	5,8	5,8	5,8	5,8	5,8	5,8	5,8
C1F33	10	9,8	9,8	4,9	4,9	4,9	4,9	4,9	4,9
C1F33	10	9,8	9,8	4,9	4,9	4,9	4,9	4,9	4,9
C1F25	10	13,0	13,0	6,5	6,5	6,5	6,5	6,5	6,5
BB (90°)	10	12,4	37,2	12,4	37,1	10,0	29,9	8,4	25,1
C1F33	10	9,8	9,8	4,9	4,9	4,9	4,9	4,9	4,9
C1F33	10	9,8	9,8	4,9	4,9	4,9	4,9	4,9	4,9
C1F25	5	6,5	6,5	3,2	3,2	3,2	3,2	3,2	3,2
C1F25	5	0,0	7,5	6,6	0,0	7,4	0,0	7,2	0,0
CF1C-25	10	0,0	41,5	36,7	0,0	41,1	0,0	39,7	0,0
C1F25	10	0,0	13,0	6,5	0,0	6,5	0,0	6,5	0,0
Totale		171,5	134,4	113,6	88,6	116,5	81,4	113,2	76,5

La connaissance des temps de séjour moyens dans les différents éléments de vis de l'extrudeur permet aussi de prévoir le remplissage dans l'extrudeur. La comparaison des masses de solides sec prélevées dans les différents éléments de vis après arrêt brusque et ouverture de l'extrudeur et celles calculées (**Figure IV-31**) montre que la prédiction est satisfaisante dans le cas où les deux phases (solide et liquide) sont présentes et est surestimée dans la zone où seule la phase solide est présente.



**Figure IV-31 :** Comparaison des masses de solides secs prélevées dans les différents éléments de vis avec celle calculées par le modèle, pour l’essai 39

Calculé grâce au modèle dans le cas de l’essai 39, **Figure IV-31** fait apparaître une surestimation systématique dans les éléments de vis en amont des disques malaxeurs bilobes. Cet écart entre la prévision du modèle et la réalité expérimentale peut s’expliquer par le fait que dans les éléments de vis à pas direct non remplis, le débit de solide sec est considéré comme étant le débit de matière sèche de graine ( $Q_G \times MS_G$ ). En réalité, l’analyse des courbes d’évaluation de l’humidité du solide dans le fourreau (**Figure IV-14 à IV-17**) révèle que une partie de l’eau injectée dans les éléments de vis à pas direct C2F33 en amont des malaxeurs bilobes (BB), remonte à contre courant du transport du solide (qui s’hydrate) d’autant plus loin vers l’alimentation en solide que les malaxeurs monolobes (DM) sont peu remplis et donc ne bloquent pas l’eau, en particulier à forte vitesse de rotation des vis.

#### **IV.3.2.5 Orientations pour une optimisation de l’extraction aqueuse de l’huile et de l’azadirachtine en extrudeur bi-vis**

Le modèle de transport des phases solide (graines) et liquide (eau) que nous venons de décrire et de valider pour la description du fractionnement aqueux des graines de neem permet donc de calculer les temps de séjour des deux phases dans les différentes zones de l’extrudeur bi-vis définies comme la succession :

- D’une zone de broyage et de préparation de la matière, qui s’étend du module d’alimentation jusqu’à la fin du module 3 ; cette zone est assimilée à un long broyeur.

- D'une zone d'extraction liquide/solide qui s'étend de l'alimentation en eau (début du module 4) jusqu'au module de filtration ; cette zone est assimilée à un contacteur liquide/solide ou extracteur.
- D'une zone de séparation liquide/solide qui s'étend de la moitié de la vis C1F25 en amont du contre filet à la sortie du tourteau ; cette zone est assimilée à un séparateur liquide/solide.

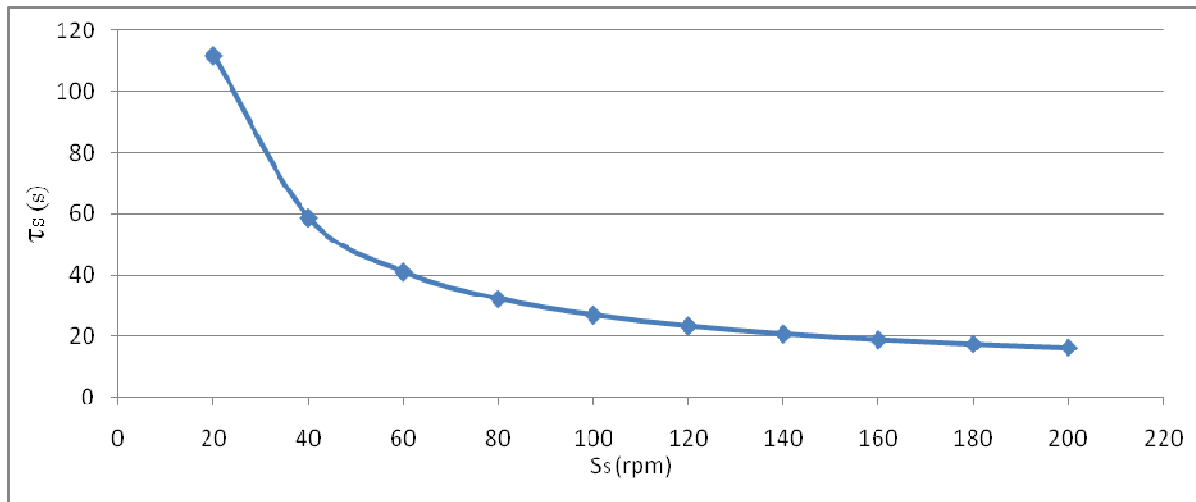
Les temps de séjours calculés dans ces trois zones de l'extrudeur montrent que le solide passe plus de temps dans la zone de séparation liquide/solide de l'extrudeur (**Tableau IV-19**).

**Tableau IV-19** : Temps de séjour moyen de la phase solide et de la phase liquide dans les trois zones de l'extrudeur (secondes)

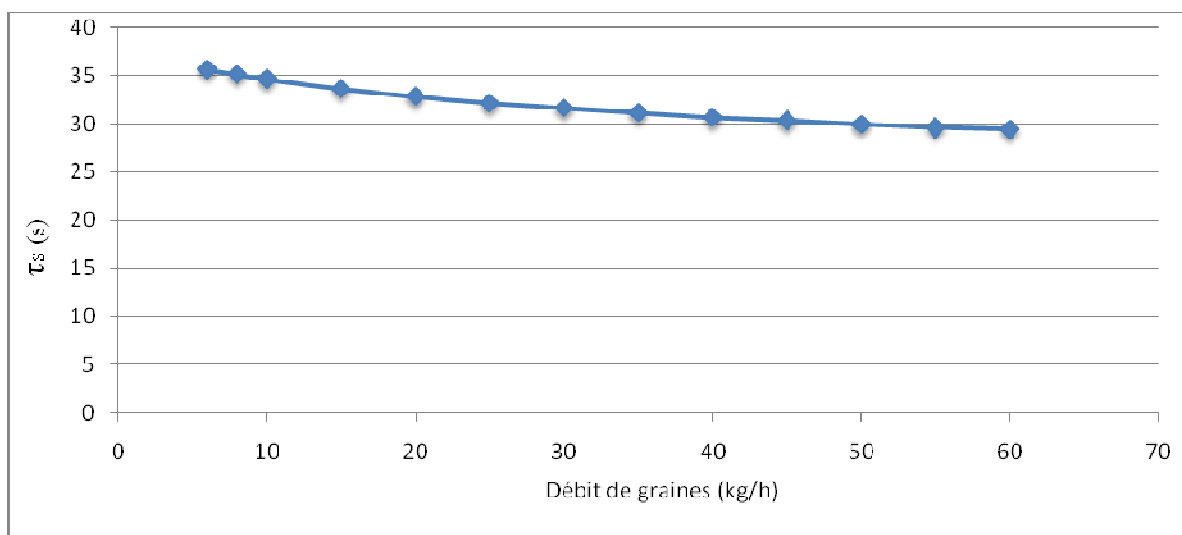
	Essai 37		Essai 38		Essai 40		Essai 39	
	$\tau_s$	$\tau_L$	$\tau_s$	$\tau_L$	$\tau_s$	$\tau_L$	$\tau_s$	$\tau_L$
Broyeur	48,3	48,3	27,0	27,0	27,0	27,0	27,0	27,0
Extracteur	61,3	86,1	36,8	61,6	34,4	54,4	32,8	49,5
Séparateur	61,9	0,0	49,7	0,0	55,0	0,0	53,4	0,0

L'évolution des temps de séjour des phases solide et liquide dans chacune de ces zones peut donc être étudiée en fonction des trois variables opératoires : le débit de graine, le débit d'eau et la vitesse de rotation des vis :

- ❖ Le temps de séjour du solide dans la zone de broyage n'est sensible qu'à la vitesse de rotation des vis et varie peu à partir de 100 rpm (**Figure IV-32**), même chose pour des débits de graine croissants (**Figure IV-33**). Dans ces conditions, il est raisonnable de supposer qu'à partir de  $S_s=100$  rpm, la matière solide est préparée de la même manière à l'entrée de la zone d'extraction, pour des débits de graines croissants ( $>20 \text{ kg.h}^{-1}$ ) et jusqu'au limites d'avalement des graines à l'entrée du fourreau.



**Figure IV-32 :** Prédiction de l'évolution du temps de séjour de la phase solide dans la zone de broyage de l'extrudeur bi-vis avec la vitesse de rotation des vis (représentation faite pour  $Q_G=20 \text{ kg.h}^{-1}$ ,  $Q_E=20 \text{ kg.h}^{-1}$ )

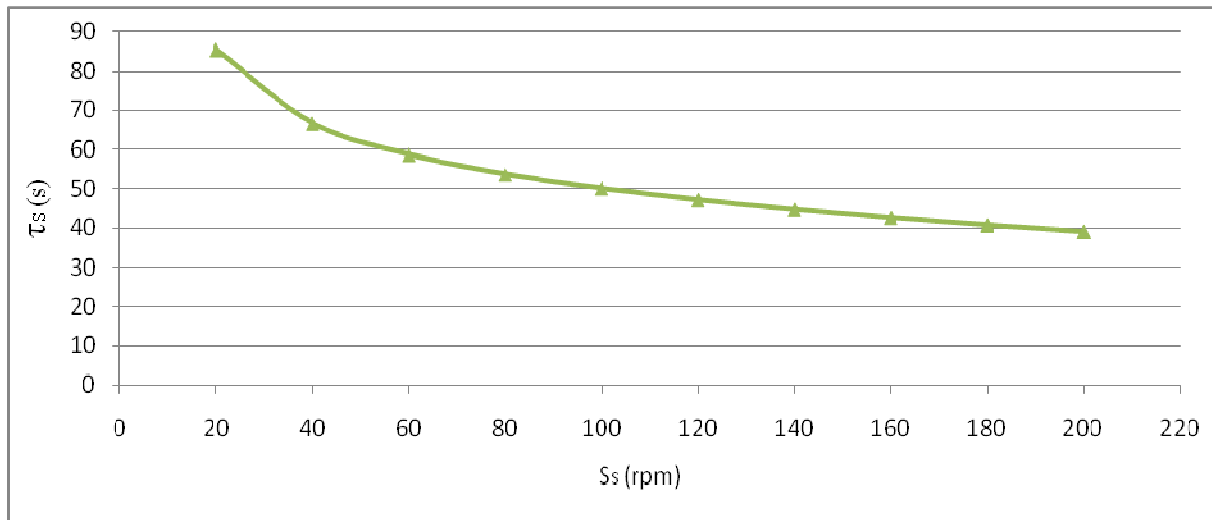


**Figure IV-33 :** Prédiction de l'évolution du temps de séjour de la phase solide dans la zone de broyage de l'extrudeur bi-vis avec le débit de graines (représentation faite pour  $Q_E=40 \text{ kg.h}^{-1}$ ,  $S_S=100 \text{ rpm}$ )

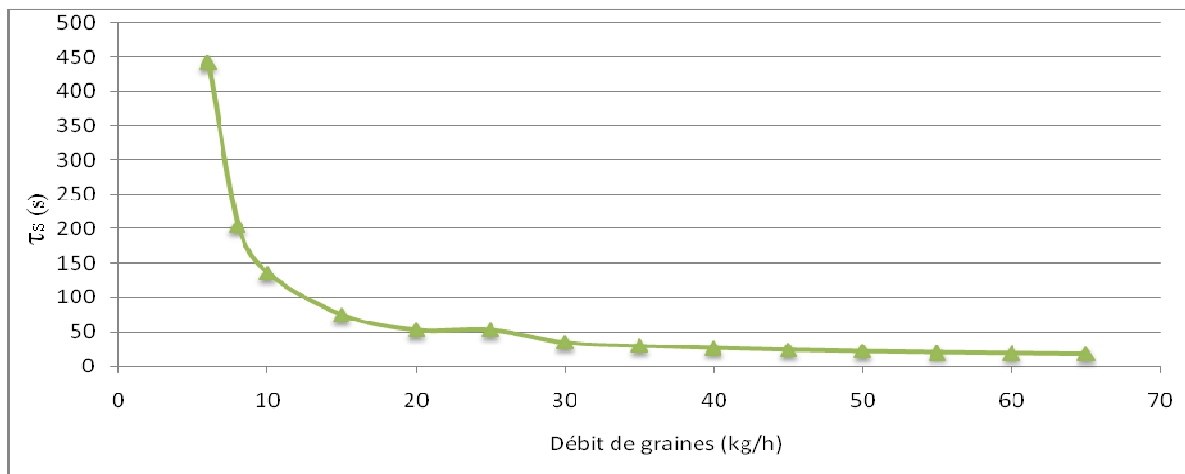
- ❖ Le temps de séjour de la phase solide dans la zone de séparation liquide/solide (pressage de la matière) est :
  - ✓ Peu sensible à la vitesse de rotation des vis (**Figure IV-34**) ;
  - ✓ Très sensible au débit de graines aux faibles valeurs ( $<20 \text{ kg.h}^{-1}$ ), pour lesquelles le remplissage et donc la poussée de la matière sur le bouchon dynamique sont

faibles, puis relativement peu sensible au delà de 30 kg.h<sup>-1</sup>, dans la limite de l'engorgement de l'extrudeur (**Figure IV-35**) ;

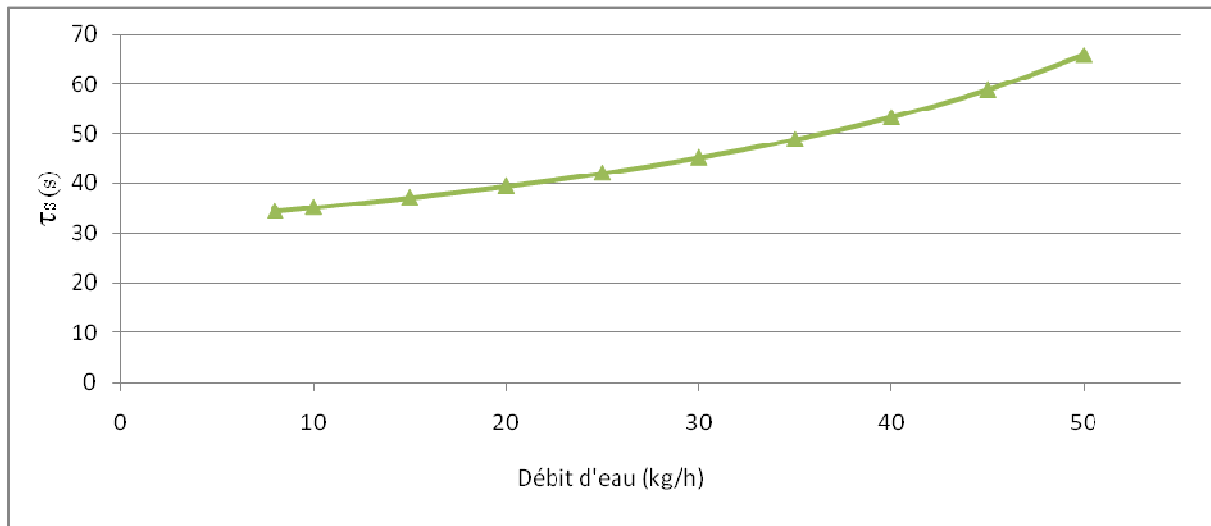
- ✓ Et croissant avec l'augmentation du débit de liquide, traduisant le fait que la quantité de filtrat séparé augmente simultanément (**Figure IV-36**)



**Figure IV-34** : Prédiction de l'évolution du temps de séjour de la phase solide dans la zone de séparation liquide/solide de l'extrudeur bi-vis avec la vitesse de rotation des vis (représentation faite pour  $Q_G=20 \text{ kg.h}^{-1}$ ,  $Q_L=20 \text{ kg.h}^{-1}$ )

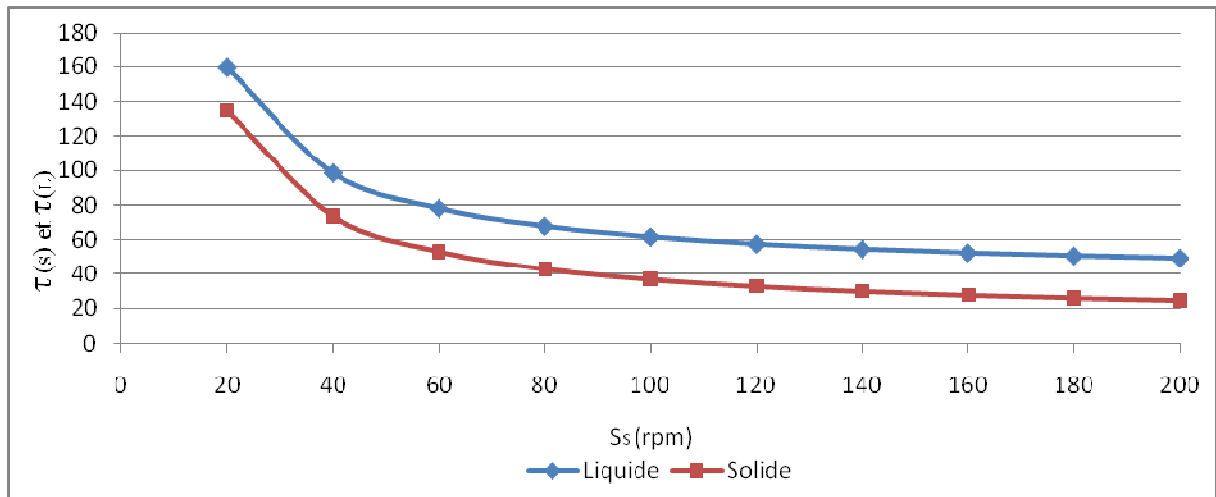


**Figure IV-35** : Prédiction de l'évolution du temps de séjour de la phase solide dans la zone de séparation liquide/solide de l'extrudeur bi-vis avec le débit de graines (représentation faite pour  $Q_E=40 \text{ kg.h}^{-1}$ ,  $S_S=100 \text{ rpm}$ )

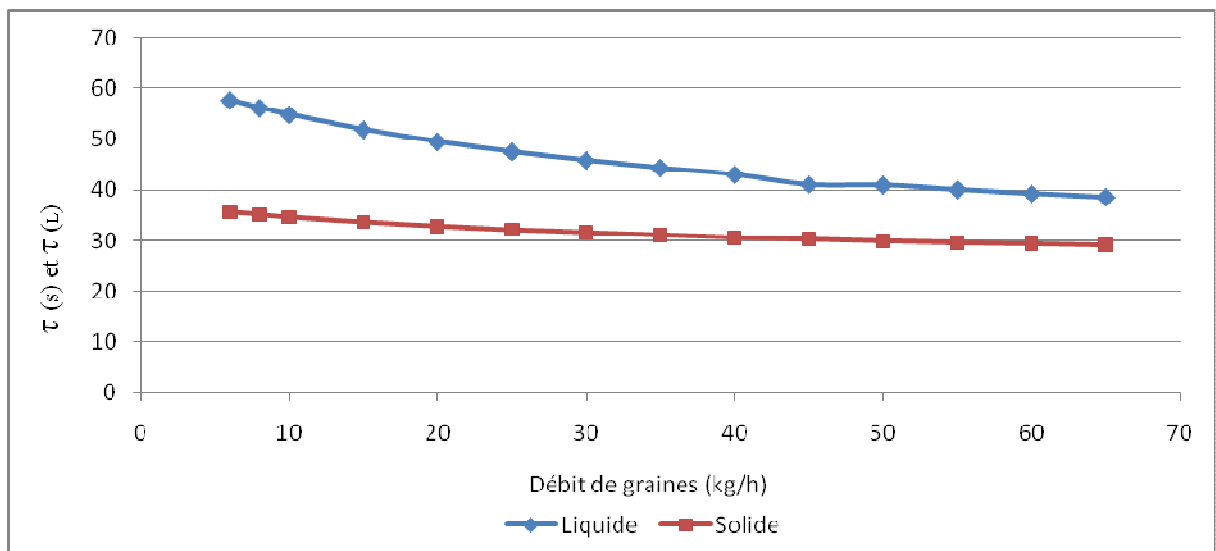


**Figure IV-36** : Prédiction de l'évolution du temps de séjour de la phase solide dans la zone de séparation liquide/solide de l'extrudeur bi-vis avec le débit d'eau (représentation faite pour  $Q_G=20 \text{ kg.h}^{-1}$ ,  $S_S=100 \text{ rpm}$ )

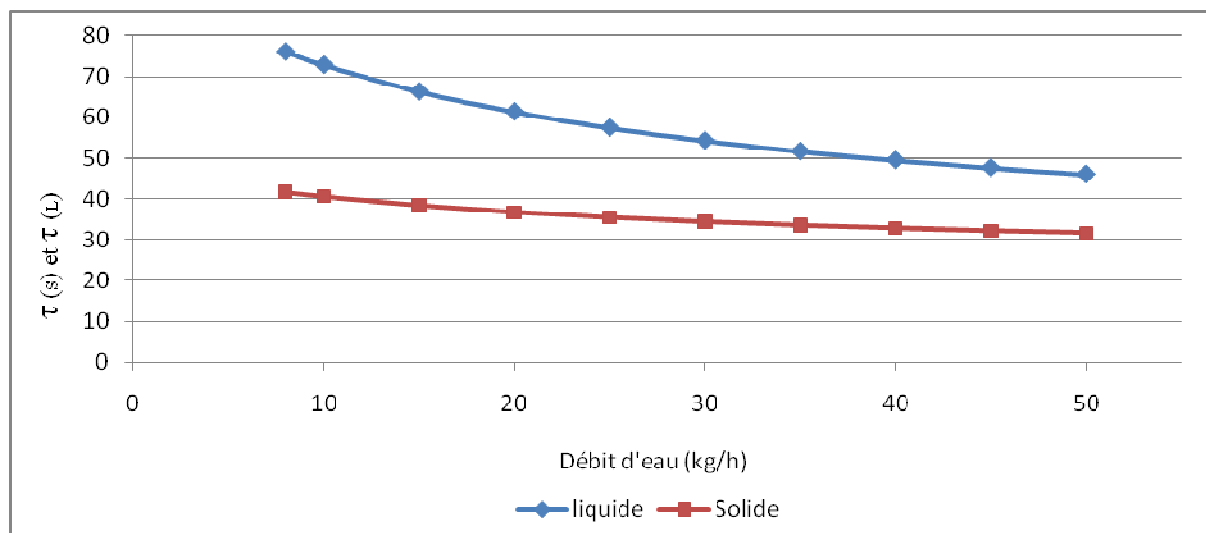
- ❖ Le temps de séjour de la phase liquide dans la zone d'extraction est sensible aux trois variables opératoires : rapidement décroissant avec la vitesse de rotation des vis aux faibles valeurs (<50 rpm) puis relativement stable au-delà (**Figure IV-37**) ; quasiment linéairement décroissant avec le débit de graines (**Figure IV-38**) et surtout le débit d'eau croissant (**Figure IV-39**). Par contre, s'il est sensible à une augmentation de la vitesse de rotation des vis surtout dans la gamme des faibles valeurs, le temps de séjour de la phase solide dans l'extrudeur s'avère peu sensible au débit d'eau et pratiquement indépendant du débit de graine.



**Figure IV-37** : Prédiction de l'évolution du temps de séjour de la phase solide et de la phase liquide dans la zone d'extraction liquide/solide de l'extrudeur bi-vis avec la vitesse de rotation des vis (représentation faite pour  $Q_G=20 \text{ kg.h}^{-1}$ ,  $Q_E=20 \text{ kg.h}^{-1}$ )



**Figure IV-38** : Prédiction de l'évolution du temps de séjour de la phase solide et de la phase liquide dans la zone d'extraction liquide/solide de l'extrudeur bi-vis avec le débit de graines (représentation faite pour  $Q_E=40 \text{ kg.h}^{-1}$ ,  $S_S=100 \text{ rpm}$ )



**Figure IV-39 :** Prédiction de l'évolution du temps de séjour de la phase solide et de la phase liquide dans la zone d'extraction liquide/solide de l'extrudeur bi-vis avec le débit d'eau (représentation faite pour  $Q_G=20 \text{ kg.h}^{-1}$ ,  $S_S=100 \text{ rpm}$ )

Ainsi, dans le cas de l'extrudeur BC 45 et dans la configuration choisie, il apparaît que pour une large gamme de conditions opératoires de débits et de vitesses de rotation de vis, la préparation de la graine dans la zone de broyage sera la même dès lors que la vitesse de rotation des vis est suffisamment élevée ( $>100 \text{ rpm}$ ). De même, dans les limites de formation du bouchon dynamique dans les contre-filets, la séparation liquide/solide dans la zone de pressage est efficace dans une large gamme de conditions opératoires : un trop faible débit de graines ( $<10 \text{ kg.h}^{-1}$ ) se traduit par un faible taux de remplissage du fourreau et une faible poussée sur la zone de pressage, conduisant à des temps de séjour très élevés dans le séparateur, mais pas dans la zone d'extraction, ce qui ne s'avère pas favorable au rendement d'extraction. Au delà de  $30 \text{ kg.h}^{-1}$  de débit de graines, le temps de séjour dans le séparateur ne varie pratiquement plus, et n'augmente significativement qu'avec le débit d'eau croissant du fait du plus grand volume de mélange solide-liquide à presser. C'est en fait dans la zone d'extraction que trois variables opératoires auront les effets les plus significatifs. Globalement, si l'augmentation des trois variables tend logiquement à diminuer les temps de séjour des deux phases dans la zone d'extraction de l'extrudeur, leurs effets ne sont pas identiques sur les deux phases : peu sensibles pour la phase solide au delà de vitesses de rotation des vis minimales ( $100 \text{ rpm}$ ), les effets sont plus importants sur le temps de séjour de la phase liquide. La connaissance de ces effets permet alors d'optimiser le fractionnement de l'extrudeur selon le critère du rapport liquide/solide  $(\tau_L \times Q_E)/(\tau_S \times Q_G)$  dans la zone d'extraction liquide/solide qui est un facteur considéré comme déterminant sur le rendement



d'extraction en batch. L'augmentation du débit de graines, qui permet d'augmenter la productivité de l'installation, et influe peu sur le temps de séjour de la phase solide dans l'extracteur, mais y augmente la masse de solide, pourra être compensée par l'augmentation du débit d'eau, et donc la masse de liquide au contact du solide dans l'extracteur, bien que celle-ci soit pondérée par la diminution des temps de séjour de ce liquide. Ainsi, pour une augmentation du débit de graines de 20 à 40 kg.h<sup>-1</sup>, l'augmentation du débit d'eau de 40 à 96 kg.h<sup>-1</sup> conduit, pour une vitesse de rotation des vis de 100 rpm, à des temps de séjour des phases liquide et du solide de 35,54 et 28,16 secondes, et un rapport liquide/solide  $(\tau_L \times Q_E)/(\tau_S \times Q_G)$  de 3,03 pour lequel les rendements d'extraction en huile et en azadirachtine sont élevés (**Tableau IV-20**).

**Tableau IV-20 :** Effet du rapport  $(\tau_L \times Q_E)/(\tau_S \times Q_G)$  dans la zone d'extraction sur les rendements d'extraction en azadirachtine et en huile

	Essai 37	Essai 38	Essai 39	Essai 40
$S_S$ (rpm)	50	100	100	100
$Q_G$ (kg.h <sup>-1</sup> )	20	20	20	20
$Q_E$ (kg.h <sup>-1</sup> )	20	20	40	30
$(\tau_S)_{\text{extracteur}}$ (s)	61,3	36,8	32,82	34,45
$(\tau_S)_{\text{extracteur}}$ (s)	86,1	61,6	49,53	54,39
$[(\tau_L \times Q_E)/(\tau_S \times Q_G)]_{\text{extracteur}}$	1,40	1,67	3,02	2,37
$R_H$ (%)	45,37	41,56	54,99	52,91
$R_T$ (%)	63,79	62,84	71,66	67,36
$R_{AE}$ (%)	41,60	40,32	48,04	47,86
$R_{AT}$ (%)	80,77	80,12	83,23	82,70

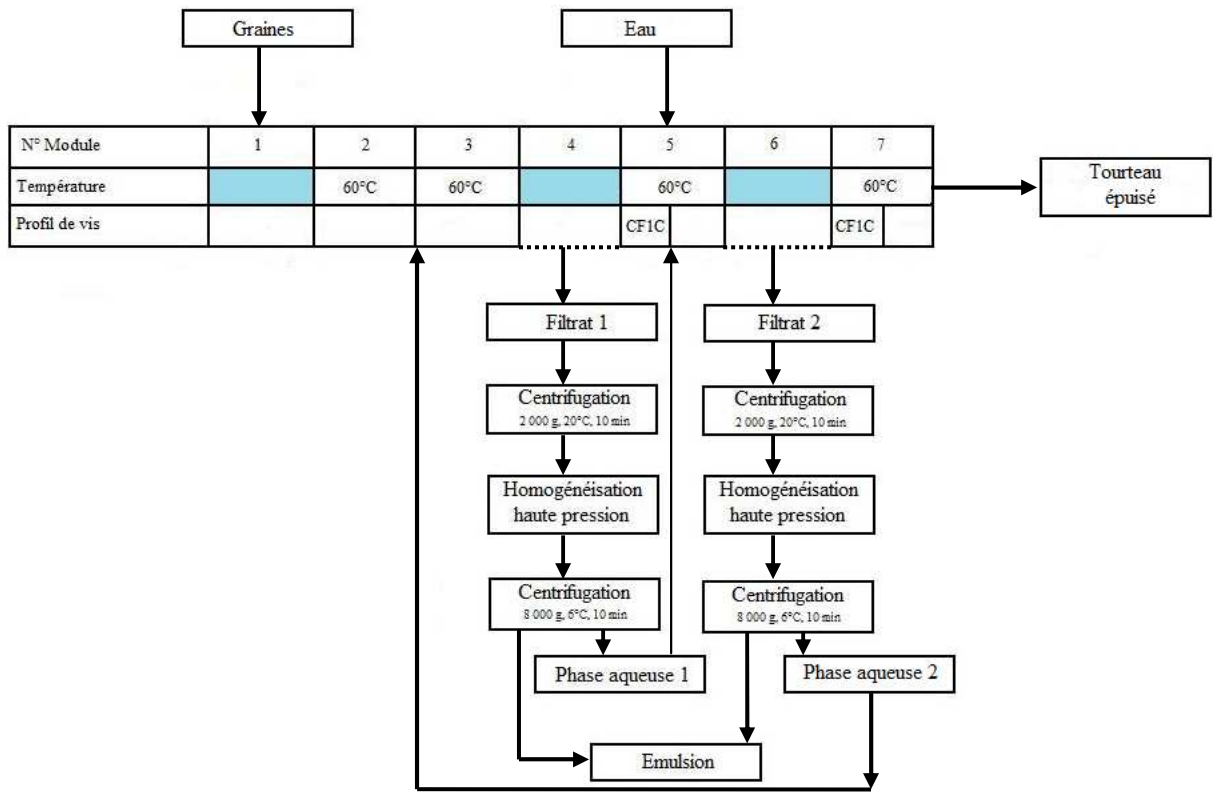
La corrélation des rendements d'extraction au ratio liquide/solide dans la zone d'extraction de l'extrudeur doit cependant être pondérée. En effet, si à débit de graines (20 kg.h<sup>-1</sup>) et vitesse de vis (100 rpm) constants, l'augmentation du débit d'eau de 20 à 30 kg.h<sup>-1</sup> ( $Q_E/Q_G=1$  à 1,5) qui se traduit par une élévation du rapport liquide/solide  $[(\tau_L \times Q_E)/(\tau_S \times Q_G)]$  dans l'extracteur de 1,70 à 2,37, conduit bien à une amélioration significative du rendement en huile et en azadirachtine extraits sous forme d'émulsion ( $R_H=41$  à 53%,  $R_{AE}=40$  à 48%), celle-ci devient moins significative pour un débit d'eau porté à 40 kg.h<sup>-1</sup> ( $Q_E/Q_G=2$ ,  $R_H=55\%$ ,  $R_{AE}=48\%$ ) bien que le ratio liquide/solide dans la zone d'extraction de l'extrudeur soit de 3,02. Ainsi, pour le fractionnement aqueux de la graine de neem en

extrudeur bi-vis, l'augmentation du ratio  $Q_E/Q_G$  au delà d'une valeur de 2 ne permet pas d'améliorer significativement le rendement d'extraction en azadirachtine. Soulignons néanmoins que, en un seul passage dans l'extrudeur d'une durée de 106 secondes du solide :

- Le tourteau obtenu comme raffinat ne contient plus que 17% d'huile et  $0,63 \text{ g.kg}^{-1}$  d'azadirachtine
- Le rendement d'extraction de l'azadirachtine est supérieur à 83% dont 48% sous la forme d'émulsion d'huile dans l'eau, stable, correspondant à un rendement d'extraction en huile de 55%
- La production d'émulsion huile/eau stable contenant  $5 \text{ g.kg}^{-1}$  d'azadirachtine est de  $0,33 \text{ kg.kg}^{-1}$  de graines et par heure, pour une consommation énergétique modérée ( $51 \text{ W.h.kg}^{-1}$  de graines traitées en énergie mécanique et  $31 \text{ W.h.kg}^{-1}$  de graines en énergie thermique. Cette production pourra être augmentée significativement dans un extrudeur bi-vis CLEXTRAL BC 45.

Plusieurs voies d'amélioration du procédé peuvent être envisagées :

- La phase aqueuse, contenant l'azadirachtine extraite mais non entraînée avec l'émulsion (0,3 à 0,5%), pourra être recyclée vers le fractionnement aqueux de la graine dans l'extrudeur bi-vis.
- Le tourteau obtenu par un premier passage de la graine dans l'extrudeur bi-vis (17 à 20% d'huile et  $0,5$  à  $0,7 \text{ g.kg}^{-1}$  d'azadirachtine) pourra subir un second étage d'extraction dans le même type d'extrudeur, équipé d'une seconde zone d'extraction et de pressage (**Figure IV-40**).



**Figure IV-40 :** Extrudeur bi-vis équipé d'une seconde zone d'extraction et de pressage

# CONCLUSION GENERALE



## CONCLUSION GENERALE

Autrefois sauvage et ornemental, réservé pour des usages traditionnels, le neem est un arbre qui peut être considéré aujourd'hui comme une agro-ressource spécifique des zones tropicales et dont la culture peut être développée dans de nombreuses régions du Sénégal. Outre ses effets favorables pour la stabilisation des sols et la fourniture de bois, la récolte des graines constitue une ressource intéressante pour l'industrie des produits phytosanitaires, cosmétiques, thérapeutiques etc. En particulier, l'azadirachtine est identifié depuis de nombreuses années comme une cible pour la formulation d'insecticides naturels. Plusieurs produits à base d'extrait de neem sont commercialisés dans le monde, et autorisés à l'usage, essentiellement en provenance d'Inde. Au Sénégal, la production de ces extraits actifs et de leur formulation pour traitements agricoles fait partie des objectifs de la société SENCHIM.

Notre objectif, à travers ce travail de thèse, était de contribuer à la connaissance des caractéristiques du neem sénégalais et de proposer des procédés de fractionnement adaptables à l'industrie nationale pour la production de nouveaux extraits insecticides.

Ainsi, dans la première partie de nos travaux, nous avons caractérisé les principaux constituants de deux lots de graines de neem collectés par la société SENCHIM pour les besoins industriels en 2007 et 2008 et étudié la variabilité de la composition des graines pour des lots provenant de différentes régions du Sénégal (Dakar, Kaolack, Diourbel, Saint-Louis et Tambacounda). Ces caractérisations ont montré que les graines de neem sénégalais contiennent 32% en huile et 2 g.kg<sup>-1</sup> d'azadirachtine. Ces constituants sont principalement localisés dans les amandes (57% d'huile et 4 g.kg<sup>-1</sup> d'azadirachtine) alors que les coques ne contiennent que 3% d'huile et 0,03 g.kg<sup>-1</sup> d'azadirachtine.

L'analyse de la composition de la fraction lipidique a révélé la présence de 14 acides gras dont l'acide oléique est majoritaire (44%). La répartition en acides gras est légèrement différente dans l'amande et la coque. La teneur totale en stérol des huiles est de 3,8 g.kg<sup>-1</sup>. Le  $\beta$ -sitostérol, majoritaire, y représente 2,5 g.kg<sup>-1</sup>. Enfin, les teneurs en protéines et en fibres sont respectivement de 12% et 49%. Ces protéines dont la composition en acides aminés a été déterminée sont principalement localisées dans les amandes alors que les fibres caractérisées par une répartition cellulose, hémicelluloses et lignines sont localisées dans les coques.

Les procédés de fractionnement traditionnels des graines de neem sont l'expression de l'huile par pressage, conduisant à un tourteau plus ou moins gras dont l'azadirachtine est ensuite extraite par solvant. L'étude des conditions de pressage dans la presse mono-vis expérimentale de type OMEGA 20 nous a permis d'atteindre des rendements de 66% en huile exprimée (débit de graine  $15 \text{ g}\cdot\text{min}^{-1}$ , vitesse de rotation de la vis  $23,33 \text{ rpm}$ , distance buse-vis 3 et diamètre de buse 7 mm). L'huile obtenue est comparable à celle obtenue par extraction au solvant tant pour sa composition en acides gras que pour les stérols qu'elle contient, mais doit subir une opération de clarification pour éliminer les particules solides entraînées au filtrat (24% de solides). De plus 7% de l'azadirachtine contenu dans la graine sont entraînés avec l'huile. Le tourteau obtenu contient alors encore 14% d'huile et  $2,12 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$  d'azadirachtine.

La technologie de pressage mono-vis a ensuite été comparée avec la technologie bi-vis, dans un extrudeur de type BC 21, dont le profil et la configuration ont été adaptés par comparaison à plusieurs agencements des vis. La machine peut être divisée en deux parties principales à partir de l'introduction des graines : une première zone de préparation de la matière par broyage, et une seconde zone dans laquelle la matière est pressée dans un contre-filet et séparée de l'huile exprimée qui s'écoule hors du fourreau par un module de filtration placé en amont du contre-filet. Les meilleurs rendements obtenus pour un débit de graines de  $8,18 \text{ kg}\cdot\text{h}^{-1}$ , une température du fourreau de  $60^\circ\text{C}$  et une vitesse de rotation des vis de  $170 \text{ rpm}$  sont de 68%, avec une teneur en pied de 21%, correspondant à un tourteau extrudé dont la teneur en huile n'est plus que de 13% et qui contient  $2,16 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$  d'azadirachtine. Les huiles obtenues sont de même qualité que les précédentes.

Dans les deux cas, l'extraction de l'azadirachtine des tourteaux gras qui peut être réalisée par le méthanol, nécessite une séparation préalable de l'huile résiduelle, et/ou une contre extraction de l'extrait par des solvants comme le cyclohexane ou l'hexane.

La bonne solubilité de l'azadirachtine dans l'eau nous a conduit à proposer un nouveau procédé de fractionnement aqueux des graines de neem. Étudié grâce à la mise en œuvre de contacteurs cisailants du type Mixeur Waring Blendor et Emulsificateur Silverson L4RT, la mise en contact des graines broyées (avec une grille de 2 mm de diamètre) avec l'eau (rapport liquide/solide de 4 et 5,66 respectivement pour le Mixeur Waring Blendor et l'Emulsificateur Silverson L4RT) à température ambiante pendant 5 minutes sous l'action des pales cisailantes conduit à la formation de trois phases séparables par centrifugation et filtration :

- Une phase solide, qui représente 79% de la matière sèche de la graine, qui contient les débris cellulaires d'amande et de coque, et se caractérise par une teneur en huile résiduelle de 22%, en protéines de 8%, et de 65% en fibres.
- Une phase aqueuse, dont la masse dépend essentiellement du rapport liquide/solide et qui contient 3% de la matière sèche de la graine, 21% des protéines et 26% de l'azadirachtine de la graine.
- Une phase émulsion, remarquablement stable, et qui contient 43% de l'huile de la graine, 19% des protéines et 48% de l'azadirachtine. Cette émulsion, stabilisée par les protéines hydrosolubles, représente 0,5 g d'émulsion par g de graine traitée, et contient 1,7 g azadirachtine par kg d'émulsion. Ce qui permet d'ores et déjà de la considérer comme une formulation concentrée de l'insecticide pour sa mise en œuvre en traitement de culture.

Les trois étapes de préparation de la matière (broyage, extraction à l'eau sous cisaillement et séparation liquide/solide) ont été transposées dans un seul appareillage fonctionnant en continu : un extrudeur bi-vis CLEXTRAL BC 21 dont la configuration et le profil de vis ont été adaptés pour réaliser ces opérations dans trois zones consécutives. Les rendements en émulsion extraite à partir des graines entières sont de 30% pour un débit de 8 kg.h<sup>-1</sup> de graines, un rapport eau/graine de 2,3, une température de 60°C et une vitesse de rotation des vis de 250 rpm. Elle contient 50% de l'huile de la graine, 56% de l'azadirachtine à une concentration de 4 g d'azadirachtine par kg d'émulsion.

La description du fonctionnement de l'extrudeur bi-vis pour le fractionnement aqueux des graines de neem a enfin été mené à travers l'étude de la distribution des temps de séjour des phases liquide et solide, et de la répartition du remplissage du système fourreau, dans le cas d'un extrudeur bi-vis de type CLEXTRAL BC 45 permettant d'atteindre des débits de graines plus élevés. La description d'un modèle adapté pour la représentation du transport des phases liquide et solide dans l'extrudeur bi-vis mis en œuvre pour l'extraction liquide/solide (PRAT, 1998), et déjà exploité pour le fractionnement aqueux des graines de tournesol (EVON, 2008) permet alors de prévoir l'influence des trois variables opératoires sur le temps de séjour et le taux de remplissage des trois zones de préparation de la matière, d'extraction liquide/solide et de séparation liquide/solide. Ainsi, sous condition de maintenir un ratio liquide /solide  $(\tau_L \times Q_E) / (\tau_S \times Q_G)$  de 3 dans la zone d'extraction, des débits de graines de 40 kg.h<sup>-1</sup>



pourront être atteint dans l'extrudeur BC 45. Pour des débits de 20 kg.h<sup>-1</sup> de graines et de 20 kg.h<sup>-1</sup> d'eau, une vitesse de rotation de 100 rpm, les rendements d'extraction sont  $R_H=55\%$  en huile,  $R_{AE}=48\%$  d'azadirachtine dans l'émulsion.

Ainsi, le fractionnement des graines par expression de l'huile permet d'obtenir une huile de bonne qualité utilisable comme diluant (charge) dans la formulation de pesticides surtout à base d'azadirachtine. Son fractionnement aqueux grâce à un procédé original, performant, respectueux de l'environnement permet de valoriser tous ses constituants. Outre la phase, aqueuse qui contient de l'azadirachtine, pourra être recyclée vers le fractionnement aqueux et la phase solide qui peut être une base d'agromatériaux, ce fractionnement génère une émulsion, stable et riche en azadirachtine, qui peut être directement utilisable comme pesticide.

Plusieurs points doivent cependant être étudiés pour optimiser ce procédé de fractionnement:

- L'étude du déshuilage du tourteau gras ainsi que l'extraction totale de l'azadirachtine pour une utilisation en alimentation animale d'autant que le procédé est propre. Cette étude peut être effectuée en extrudeur bi vis en effectuant un deuxième étage d'extraction des tourteaux.
- L'étude du recyclage de la phase aqueuse (déjà riche en azadirachtine) vers l'extrudeur afin de concentrer davantage l'émulsion en azadirachtine.
- L'étude de l'efficacité des émulsions obtenues contre les insectes par application aux champs.
- L'étude de la mise en forme des tourteaux obtenus en agromatériaux par thermomoulage comme pour le tournesol (EVON, 2008).

# PARTIE EXPERIMENTALE



## **PARTIE EXPERIMENTALE**

### **V.1 DETERMINATIONS ANALYTIQUES**

#### **V.1.1 Teneur en impuretés des lots de graines de neem**

La teneur en impuretés est déterminée selon la norme française NF V 03-904. Ces impuretés englobent les impuretés oléagineuses (graines d'autres types) et non oléagineuses (morceaux de bois, cailloux...) des graines préalablement séchées. La quantité d'impuretés séparées et séchées à  $103\pm 2^{\circ}\text{C}$  permet de calculer le taux d'impuretés noté I, dans le lot de graines traité. Elle est exprimée en pourcentage massique et est égale à :

$$\mathbf{I = \frac{m_2}{m_1} \times 100}$$

Avec :

$m_1$  est la masse de l'échantillon sec traité (g)

$m_2$  est la masse d'impuretés séparées et séchées (g)

#### **V.1.2 Broyage de la matière végétale**

Le broyeur Ika Werke MF 10 basic équipé d'une grille de 2 mm de diamètre, a été utilisé pour le broyage de la matière végétale solide avant les extractions et les analyses afin d'homogénéiser la taille des particules et de faciliter les extractions liquide/solide.

#### **V.1.3 Répartition granulométrique**

La répartition granulométrique est effectuée sur un tamis vibrant de la société Retsch à l'aide de tamis normalisés (ASTM) avec des trous de diamètres variables (de 0,2 mm à 2 mm). Un échantillon de 200 g est tamisé pendant 10 min à 70% de l'intensité maximale de vibration du tamis. Les mesures sont répétées trois fois.

#### **V.1.4 Détermination du taux de matière sèche, de la teneur en eau et en matières covolatiles (COV)**

La teneur en matière sèche est déterminée sur les graines broyées selon la norme (NF V 03-603) par la perte en masse d'un échantillon d'environ 1 g ayant subi un séchage dans une étuve à 103°C jusqu'à l'obtention d'une masse constante.

$$MS = \frac{M_f - T}{M_i - T} \times 100$$

Avec :

**MS** : la teneur en matière sèche (%)

**M<sub>f</sub>** : la masse finale, en gramme, du creuset et son contenu séché (g)

**M<sub>i</sub>** : la masse initiale, en gramme, du creuset et son contenu (g)

**T** : la tare du creuset en gramme (g)

Exprimée elle aussi en pourcentage massique, la teneur en eau et en matière volatile (ou humidité) est notée **H** et se déduit de la valeur de MS.

$$H = 100 - MS = \frac{M_i - M_f}{M_i - T}$$

#### **V.1.5 Détermination de la teneur en matières minérales (cendres) et en matières organiques**

La teneur en matières minérales (MM), ou cendres, est déterminée par perte de masse à partir de la matière sèche par incinération de cette dernière dans un four à moufle, à chauffage électrique, à 550°C environ pendant trois heures (NF V 03-922). Après la calcination, on obtient des cendres blanches, gris clair ou rougeâtres, visiblement dépourvues de charbon. L'échantillon est ensuite refroidi dans un dessiccateur et pesé dès qu'il atteint la température du laboratoire.

$$MM = 100 \times \frac{M_f - T}{M_i - T}$$

Avec :

**MM** : Le teneur en matière minérale de l'échantillon en pourcentage par rapport à la matière sèche (%).

**M<sub>i</sub>** : La masse initiale du creuset et son contenu sec (g)

**M<sub>f</sub>** : La masse du creuset après calcination en gramme (g)

**T** : la tare du creuset (g)

La différence pondérale entre la masse de matières sèches et la masse de matières minérales correspond à la masse de matières organiques. Notée MO et exprimée elle aussi en pourcentage de masse, la teneur en matières organiques de l'échantillon peut donc être donnée par la différence.

$$\mathbf{MO = MS - MM}$$

### **V.1.6. Détermination de la teneur en lipides des phases solides**

La méthode utilisée pour la détermination de la teneur en lipides est la méthode normée d'extraction au soxhlet (NF ISO 734-1). Une quantité environ égale à 30 g de graines déjà broyées est disposée dans une cartouche cellulosique, laquelle est introduite dans un extracteur de type soxhlet, équipé à sa base d'un ballon de 250 mL dans lequel on met 200 mL de solvant (cyclohexane). La durée de l'extraction est de 6 heures minimum, durée considérée comme suffisante pour épuiser le produit de son contenu lipidique.

La teneur en lipides est déterminée par la formule suivante :

$$\mathbf{L = 100 \times \frac{M_{bf} - M_{bi}}{M_{ech} \times \frac{MS}{100}}}$$

Avec :

**L** : la teneur en lipides de l'échantillon par rapport à la matière sèche (g);

**M<sub>bi</sub>** : la masse initiale du ballon à vide (g) ;

**M<sub>bf</sub>** : la masse finale du ballon contenant l'extrait lipidique (g) ;

**M<sub>ech</sub>** : la masse de l'échantillon contenue dans la cartouche (g);

**MS** : la teneur en matière sèche de l'échantillon de départ (%)

### **V.1.7 Teneur en lipides des phases émulsions**

La teneur en lipides des phases émulsions peut être estimée après démixtion de celles-ci à l'aide d'un mélange d'éthanol absolu et d'éther diéthylique (3/1). Une masse d'environ quatre

grammes de l'échantillon à analyser est exactement pesée dans un tube de centrifugation. Un volume de 10 mL du mélange y est ensuite ajouté. Le tout est alors vigoureusement mélangé pendant deux minutes à l'aide d'un vortex puis centrifugé à 3 000 g pendant 5 minutes. Le surnageant liquide issu de cette centrifugation est prélevé, filtré à l'aide d'un filtre en PTFE de 0,45 µm puis transféré dans un ballon à col rôdé de 100 mL préalablement taré. Le solvant est ensuite éliminé par évaporation sous vide à l'aide d'un évaporateur rotatif, les dernières traces du mélange éthanol-éther sont chassées en plaçant le ballon dans une étuve à 103 ±2°C. Puis, après refroidissement du ballon au dessiccateur, sa masse est à nouveau déterminée afin d'obtenir la masse de lipides extraits par différences à la tare. Les essais sont réalisés deux fois et de manière totalement indépendante afin d'évaluer l'erreur expérimentale.

La teneur en lipides des phases émulsions peut aussi être déterminée par une extraction accélérée au cyclohexane à l'aide d'un appareil appelé Accelerated Solvent Extractor de type Dionex ASE 200. Celui-ci utilise des conditions opératoires préalablement optimisées :

- ✓ 105°C pour la température du four
- ✓ 70 bars pour la pression au sein de la cartouche
- ✓ Quatre cycles d'extraction de dix minutes
- ✓ Réintroduction automatique de solvants propres dans la cartouche avant chaque cycle.

### **V.1.8. Teneur en lipides des « phases aqueuses »**

La teneur en lipides des phases aqueuses est déterminée par extraction liquide/liquide à l'aide d'un mélange de chloroforme et de méthanol (1/2) (BLIGH et DYER, 1959). Après agitation à l'aide d'un vortex pendant quinze minutes, le mélange est centrifugé à 20°C, sous 3 000g et pendant cinq minutes (centrifugeuse Sigma 6K15). La phase aqueuse (phase supérieure) est éliminée et la phase lipidique (phase inférieure) est alors collectée à l'aide d'une pipette Pasteur à travers le disque protéique formé. Le solvant est ensuite éliminé par évaporation à l'aide d'un évaporateur rotatif. Les dernières traces de chloroforme et de méthanol sont chassées en plaçant le ballon de l'appareil dans une étuve à 103±2°C jusqu'à poids constant. L'extrait obtenu est pesé.

### **V.1.9 Détermination du taux d'hydrosolubles**

Le taux de matières solubles à l'eau est déterminé au moyen d'un appareil appelé Técator Fibertec M1017. Pour cela une masse connue d'environ 1 g de matière, de teneur en matière

sèche connue, est introduite dans un fritté de porosité 2 mm et placée dans l'appareil. La matière est immergée dans 100 mL d'eau distillée et portée à ébullition pendant 1 heure ; le fritté est ensuite filtré puis séché à l'étuve 103°C pendant environ 12 heures.

$$T_H = 100 \times \frac{M_{if} - M_{ff}}{M_i \times \frac{MS}{100}}$$

Avec :

$T_H$  : Taux de matière hydrosoluble dans l'eau par rapport à la matière sèche (%)

$M_{if}$  : Masse initiale du fritté et de son contenu (g)

$M_{ff}$  : Masse finale du fritté et de son contenu (g)

$M_i$  : Masse de l'échantillon de départ (g)

$MS$  : Teneur en matière sèche de l'échantillon de départ (%)

### **V.1.10 Détermination de la teneur en fibres par la méthode de Van Soest & Wine (dosage ADF-NDF)**

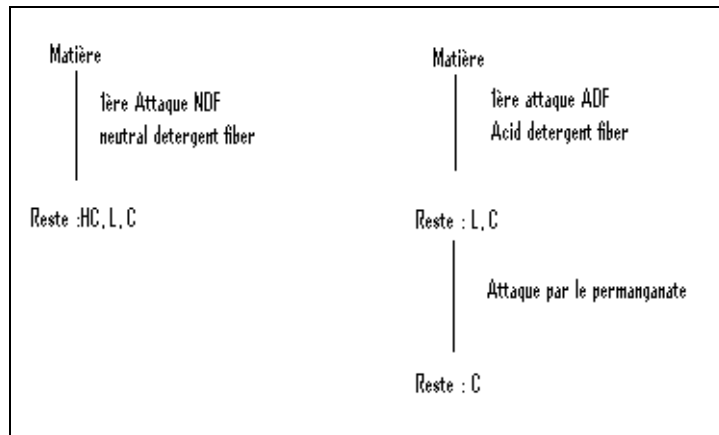
La méthode de Van Soest et Wine (VAN SOEST, 1963 ; VAN SOEST et WINE, 1967 et 1968) encore appelée dosage ADF-NDF permet d'obtenir une estimation des trois composés pariétaux : lignine (L), cellulose (C), hémicellulose (HC). Elle est basée sur la différence de solubilité des constituants dans deux types de détergents et se pratique à partir d'échantillons préalablement séchés ( $MS \geq 85\%$ ), déshuilés et réduits sous forme de poudre afin de rendre le milieu le plus homogène possible (de 0,8 et 1,0 gramme de prise d'essai). Cette méthode gravimétrique se pratique dans des frittés spéciaux, de porosité 2 mm et prévus pour s'adapter sur un système Fibertec M1017. Ce dernier est équipé d'un dispositif de chauffage et de reflux.

La méthode peut être résumée en quatre étapes :

- Attaque NDF (neutral detergent fiber)
- Attaque ADF (acid detergent fiber)
- Attaque au permanganate de potassium
- Calcination des échantillons après les attaques NDF et au permanganate

Ces différentes attaques sont réalisées dans un appareil appelé Tecator Fibertec M1017 et peuvent être résumées dans le schéma suivant :





A noter que les attaques ADF et NDF se font de manière parallèle et que l'attaque au permanganate se fait sur l'échantillon ayant subi l'attaque ADF.

Le détergent utilisé lors de l'attaque NDF est à base d'EDTA et permet de solubiliser l'ensemble des constituants non pariétaux (protéines, pectines...). La fraction organique du résidu insoluble représente alors la somme des constituants suivants : hémicellulose, cellulose et lignine. L'attaque est réalisée à l'aide d'un appareil appelé Fibertec system M-hot extractor par ajout de 100 mL de la solution NDF à l'échantillon à analyser. Après une heure à ébullition, les réactifs sont éliminés par aspiration et le résidu est abondamment rincé à l'eau bouillante jusqu'à disparition de la mousse.

Le détergent utilisé lors de l'attaque ADF est à base de CTAB et d'acide sulfurique dilué. Il permet de solubiliser l'ensemble des composés non pariétaux ainsi que les hémicelluloses. La fraction organique du résidu insoluble est alors constituée de celluloses et de lignines. L'attaque ADF est réalisée dans les mêmes conditions que l'attaque NDF.

Après les attaques ADF et NDF, les échantillons sont séchés à l'étuve à  $103 \pm 2^\circ\text{C}$  pendant douze heures avant d'être pesés.

L'attaque au permanganate de potassium est réalisée sur les échantillons ayant subi l'attaque ADF et permet l'élimination de la lignine. Elle est réalisée à l'aide de l'appareil Fibertec System M-Cold Extractor par ajout de 25 mL d'un mélange d'une solution saturée de permanganate de potassium et d'une solution tampon (2V/1V). Après une heure et trente minutes de contact et d'agitation les réactifs sont éliminés par aspiration et le résidu est rincé d'abord à l'aide d'une solution déminéralisante jusqu'à l'obtention de fibres de couleur blanche, ensuite par deux lavages à l'éthanol et deux rinçages à l'acétone.

Les teneurs en celluloses, lignines et hémicelluloses sont déterminées par les formules suivantes :

$$C(\%) = 100 \times \frac{(M_{f3} - M_{f0}) \times \left(1 - \frac{MM_a}{100}\right)}{(M_{f1} - M_{f0}) \times \frac{MS}{100}}$$

Avec :

**C** : la teneur en celluloses par rapport à la matière sèche (%)

**M<sub>f0</sub>** : Masse du fritté vide (g)

**M<sub>f1</sub>** : masse du fritté contenant l'échantillon (g)

**M<sub>f3</sub>** : masse du fritté sec après l'attaque de la lignine au permanganate de potassium (g)

**MS** : la teneur en matière sèche de l'échantillon de départ (%)

**MM<sub>a</sub>** : la teneur en matière minérale du résidu ADF (%)

$$L(\%) = 100 \times \frac{(M_{f2} - M_{f3})}{(M_{f1} - M_{f0}) \times \frac{MS}{100}}$$

**L** : La teneur en lignines par rapport à la matière sèche (%)

**M<sub>f2</sub>** : la masse du fritté sec après la réaction ADF (g)

$$HC = 100 \times \frac{(M_{f2} - M_{f0}) - \frac{MS}{100} \times (M_{f1} - M_{f0}) \times \left(\frac{MM_n}{100} + \frac{C}{100} + \frac{L}{100}\right)}{(M_{f1} - M_{f0}) \times \frac{MS}{100}}$$

**HC** : la teneur en hémicelluloses par rapport à la matière sèche de l'échantillon (%) ;

**MM<sub>n</sub>** : la teneur en matière sèche du résidu NDF (%)

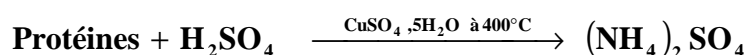
### V.1.11 Détermination de la teneur en protéines

La teneur en protéines est déterminée par la méthode de Kjeldahl selon la norme française NF V 18-100. Elle consiste à la détermination de la teneur en azote total (NTK) contenu dans l'échantillon. Une fois la teneur en azote total connue, celle en protéines est obtenue en la multipliant par un coefficient variant selon la matière à analyser.

Dans le cas des graines neem nous avons effectué un aminogramme sur les graines qui nous a permis de déterminer la masse molaire moyenne des protéines. Le coefficient qui est le rapport entre la masse molaire moyenne des protéines et celle de l'azote (14,007) est égal à 6,03.

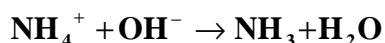
Cette analyse est réalisée à l'aide d'un appareil appelé Tecator Kjeltex et consiste en la transformation par minéralisation de l'azote organique contenu dans l'échantillon traité (400 mg) en azote minéral (ammoniac) puis à un dosage acido-basique de l'ammoniac :

- La minéralisation de l'échantillon est réalisée grâce au bloc de minéralisation Tecator Digestor 2020. Au cours de cette minéralisation, l'azote ou les protéines contenues dans l'échantillon se transforment en sulfate d'ammonium selon la réaction suivante :



L'acide sulfurique (12,5 mL) utilisé est à 98,5% et la réaction est catalysée par deux pastilles de  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  pendant deux heures à  $400^\circ\text{C}$ .

- La distillation dont le principe est de convertir l'ion ammonium ( $\text{NH}_4^+$ ) en ammoniac ( $\text{NH}_3$ ) grâce à l'action d'une base (NaOH), puis de la distillation à la vapeur dans un Erlen Meyer contenant l'acide borique se fait selon la réaction.



La distillation est réalisée dans un appareil appelé Tecator Kjeltex 2200. Cet appareil est programmé pour délivrer 80 mL d'eau distillée puis 50 mL de NaOH à 40% dans le tube de minéralisation contenant l'échantillon. Ensuite 30 mL d'acide borique à 4%, du vert de bromocrésol et de rouge de méthyle sont ajoutés dans un Erlen Meyer. La distillation du contenu du tube permet d'entraîner à la vapeur l'ammoniac produit par l'ajout de la soude. Celui-ci est piégé dans l'Erlen Meyer par barbotage de la vapeur dans la solution d'acide borique.

- Enfin, le titrage de l'ammoniac dans le distillat est réalisé par une solution d'acide chlorhydrique de 0,05 ou 0,1 M, selon la teneur estimée dans l'échantillon, et la précision de la mesure. Le volume équivalent est obtenu quand la solution du distillat contenu dans l'erenmeyer passe du bleu-vert au rose orangé.

La teneur en azote total est obtenue par la formule suivante :

$$\%N = 100 \times \frac{(V_E - V_B) \times N \times 14,007}{m \times \frac{MS}{100}}$$

$$\%P = \%N \times F$$

$V_E$  : le volume d'acide utilisé pour la titration de l'échantillon (L) ;

$V_B$  : le volume utilisé pour la titration du blanc (L) ;

$N$  : la normalité de l'acide chlorhydrique (mol.L<sup>-1</sup>)

$m$  : la masse de l'échantillon (g)

$MS$  : la teneur en matière sèche de l'échantillon (%)

$F$  : le facteur de conversion de l'azote en protéines

$P$  : la teneur en protéines (% MS)

## V.1.12 Détermination de la teneur en azadirachtine

### V.1.12.1 Détermination de la teneur en azadirachtine des solides

La détermination de la teneur en azadirachtine dans les solides se fait en trois étapes : l'extraction, la purification et l'analyse (JARVIS et al., 1999 ; YAMASAKI et al., 1986 ; JOHNSON et al., 1996 ; KAUSHIK, 2002 ; SILVA et al., 2007)

L'extraction est effectuée dans un réacteur batch double enveloppe agité mécaniquement. Une masse de 100 g de graines préalablement broyées est extraite avec un volume de 400 mL de méthanol absolu. Cette opération est répétée deux autres fois afin d'épuiser la concentration en azadirachtine des tourteaux. Les extraits sont filtrés, centrifugés (8 000 g, 10 min et 20°C) et concentrés sous vide à 40°C grâce un évaporateur rotatif avant d'être dilués dans un volume équivalent d'eau.

Afin de déshuiler le mélange hydro-alcoolique, ce dernier est extrait trois fois avec un volume égal de n-hexane dans une ampoule à décanter. L'azadirachtine est ensuite extrait dans la phase hydro-alcoolique avec du dichlorométhane de la même manière que le n-hexane. L'extrait au dichlorométhane est à son tour concentré à 40°C sous vide à sec dans un évaporateur rotatif. L'extrait sec de couleur orange foncé obtenu est ensuite dissous dans 25 mL d'acétonitrile et analysé.

L'analyse est effectuée en Chromatographie Liquide Haute Performance (CLHP) grâce à l'appareil HPLC ASI 100 (DIONEX SUMMIT) muni d'une colonne C18 (250×4,6 mm OMNISPHER 5 C18) et d'un détecteur UV visible. La longueur d'onde est maintenue à 217

nm. La phase mobile est un mélange de deux solvants : l'acétonitrile et l'eau à un débit de 0,8 mL/min. Le volume d'injection est de 20 µL. La programmation du gradient de débit de la phase mobile est la suivante : 20% d'acétonitrile de 0 à 5 min, augmentation de 20 à 65% entre 5 et 15 min et maintenue à 65% pendant 5 min.

#### **V.1.12.2 Détermination de la teneur en azadirachtine des phases émulsions**

La teneur en azadirachtine des phases émulsions est déterminée comme dans le cas des phases solides en trois étapes.

L'extraction de l'azadirachtine est réalisée par démixtion des phases émulsions à l'aide du méthanol absolu. Environ quatre grammes de l'échantillon à analyser sont exactement pesés dans un tube de centrifugation. Un volume de 10 mL de méthanol absolu y est ensuite ajouté. Le tout est alors mélangé vigoureusement pendant trois minutes à l'aide d'un vortex puis centrifugé à 3 000 g pendant 10 minutes à l'aide de la centrifugeuse Sigma 6K15. Le surnageant liquide issu de la centrifugation est prélevé, filtré à l'aide d'un filtre PTFE de 0,45 µm. Cette opération est répétée deux autres fois afin d'épuiser la concentration en azadirachtine de la phase émulsion. Les extraits méthanoliques sont mélangés puis purifiés.

Les étapes de la purification et de l'analyse sont identiques à celles décrites précédemment pour des phases solides.

#### **V.1.12.3 Détermination de la teneur en azadirachtine des phases aqueuses**

La teneur en azadirachtine des phases liquides est déterminée en deux étapes : la purification et l'analyse. Un échantillon d'environ 50 mL de la phase aqueuse à analyser est mélangé équitablement avec du méthanol absolu. Le mélange hydro-alcoolique est purifié de la même manière que dans le cas des extraits obtenus à partir des phases solides puis analysé.

#### **V.1.13 Détermination de la composition en acides gras des huiles**

La composition en acide gras est déterminée par analyse des esters méthyliques d'acides gras par Chromatographie en Phase Gazeuse (CPG) selon la norme NF ISO 5508. Elle nécessite trois étapes : l'extraction, l'estérification des acides gras et l'analyse.

L'extraction des acides gras correspond à la solubilisation des triglycérides contenus dans l'huile dans un solvant organique. Elle est suivie d'une méthyl-trans-estérification qui consiste à ajouter un groupement méthyle aux acides gras libérés pour former des esters méthyliques d'acides gras permettant de faciliter la séparation.

Environ 20 mg d'huile extraite au soxhlet sont pesés dans un tube à essai et solubilisés par 1 mL de TBME (tert butyl methyl ether). Puis, à 100 µL de solution (huile+TBME) on ajoute 50µL de TMSH (triméthyl sulphonium hydroxyde 0,5M dans le méthanol). La réaction a lieu au moment de l'injection sous l'effet de la température et permet la formation des esters méthyliques d'acides gras.

L'analyse CPG est réalisée dans les conditions suivantes :

- Chromatographe 3800 de Varian
- Colonne : CP-select for FAME fused silica WCOT (longueur 50m, diamètre interne 0,25mm, épaisseur de film 0,25µm)
- Programmation de la température : 185°C pendant 40 minutes, puis montée en température de 185 à 250°C à raison de 15°C par minute et enfin 250°C pendant 10,68 minutes (temps d'analyse 55,01 minutes)
- Injection : Split 1 : 100. 1µL. 250°C pendant 55mn
- Détecteur : FID, 250°C

L'étalon utilisé est le MGFA qui est un étalon commercial (SI) et les données sont traitées par le logiciel Varian Star.

### **V.1.14 Détermination des composés insaponifiables (stérols) de l'huile**

Elle est réalisée en trois étapes : la saponification des composés saponifiables, l'extraction des insaponifiables et l'analyse.

#### **▪ Saponification**

On commence par préparer la solution d'étalon interne de Cholestanol 2 mg.mL<sup>-1</sup> dans le chloroforme. Ensuite 50 µL de la solution de cholestanol sont pesés dans un tube à vis de 10 mL. Après évaporation du chloroforme à température ambiante, on ajoute exactement 140 mg d'huile. La saponification est réalisée par ajout de 3 mL de KOH 1 M dans l'éthanol suivi d'une agitation au vortex et d'un chauffage de 30 mn au bain marie à 60°C.

#### **▪ Extraction de l'insaponifiable**

Après refroidissement du mélange réactionnel à température ambiante on ajoute 1 mL d'eau distillée puis on agite au vortex. Ensuite, on ajoute 6 mL d'isohexane qu'on agite encore au vortex. On laisse décanter (séparation des phases) et enfin, on récupère la phase hexanique qui correspond à l'insaponifiable dans un micro tube pour l'analyser en CPG.

## ▪ Analyse

Avant de procéder à l'analyse des insaponifiables, on effectue la silylation qui consiste à ajouter à 160 µL d'extrait insaponifiable 40 µL de réactif de silylation (1 mL MSHFBA : Methyl trimethylsilyl heptafluorobutyramide + 50 µL 1 méthyl imidazole). Le mélange réactionnel est chauffé pendant 5 min à 105°C pour favoriser la silylation.

L'analyse est réalisée par CPG (Perkin Elmer) dans les conditions suivantes.

- Colonne : CPSil 8CB (Varian) Longueur 30m, diamètre 0,25mm et épaisseur de film 0,25µm
- Gaz vecteur : Helium. Pression en tête de colonne 100KPa
- Volume d'injection : 1µL
- Programmation de la température de l'injecteur : 55°C pendant 0,5 min, puis montée en température de 55 à 340°C à raison de 200°C par minute puis 340°C pendant 30 min.
- Programmation de la température du four : 160°C pendant 0,5 min, puis montée en température de 160 à 260°C à raison de 20°C par min, puis 260°C pendant 5,5 min, puis montée en température de 260 à 300°C à raison de 2°C par min, ensuite maintien de la température pendant 10 min à 300°C enfin montée en température de 300 à 350°C à raison de 45°C par minute puis 350°C pendant 3 minutes.
- Détecteur : FID 365°C

### V.1.15 Détermination de l'indice d'acide

L'indice d'acide ( $I_A$ ) correspond au nombre de milligrammes d'hydroxyde de potassium nécessaire pour neutraliser les acides gras libres présents dans un gramme de corps gras (AFNOR T60-204). L'indice d'acide est déterminé par un dosage en retour. Le corps gras réagit avec un excès connu de potasse alcoolique. L'excès de potasse est alors dosé par une solution d'acide chlorhydrique. Le corps gras est mis en solution par un solvant organique neutre (mélange v/v éthanol et éther).

L'indice d'acide est donné par la formule suivante :

$$I_A = \frac{(V_E - V_B) \times N \times M_{KOH}}{m}$$

Avec :

$I_A$  : L'indice d'acide ( $\text{mg.g}^{-1}$ )

$V_B$  : le volume de HCL titrant le blanc (mL)

$V_E$  : le volume de HCL titrant l'échantillon (mL)

$N$  : La normalité de l'acide chlorhydrique ( $\text{mol.L}^{-1}$ )

$M_{\text{KOH}}$  la masse molaire de KOH :  $56,1 \text{ g.mol}^{-1}$

$m$  la masse d'huile exactement pesée (g)

### V.1.16 Détermination de l'indice de saponification

L'indice de saponification ( $I_S$ ) est déterminé selon la norme française AFNOR T60-206. Il correspond à la masse d'hydroxyde de potassium nécessaire pour neutraliser les acides gras libres et pour saponifier les acides gras combinés dans un gramme de corps gras.

Il s'agit d'un dosage en retour. On fait réagir à chaud une solution d'acides gras avec un excès de KOH. Cet excès est ensuite dosé en retour par une solution d'acide chlorhydrique. Si l'on porte à ébullition un corps gras en présence de KOH, les acides gras se saponifient ; c'est une réaction totale lente à température ambiante mais qui prend entre 40 à 60 minutes par chauffage sous ébullition douce. La potasse réagit avec les acides gras libérés pour former du savon. Le corps gras est mis en solution par un solvant organique (mélange v/v éthanol et éther).

L'indice de saponification est donné par la formule suivante :

$$I_S = \frac{(V_E - V_B) \times N \times M_{\text{KOH}}}{m}$$

Avec :

$I_S$  : l'indice de saponification ( $\text{mg.g}^{-1}$ )

$V_B$  : le volume de HCL titrant le blanc (mL)

$V_E$  : le volume de HCL titrant l'échantillon (mL)

$N$  : la normalité de l'acide chlorhydrique ( $\text{mol.L}^{-1}$ )

$M_{\text{KOH}}$  : la masse molaire de KOH :  $56,1 \text{ g.mol}^{-1}$

$m$  : la masse d'huile exactement pesée (g)



### V.1.17 Détermination de l'indice d'iode

L'indice d'iode ( $I_I$ ) est déterminé selon la norme française AFNOR T60-203. Il correspond à la masse de diiode ( $I_2$ ) capable de se fixer sur les insaturations des acides gras de 100 g de matière grasse. L'indice d'iode d'un acide gras saturé est nul. Cet indice détermine le degré d'insaturation des acides gras d'une huile.

$$I_I = \frac{(V - V_0) \times N \times 12,69}{m}$$

$I_I$  : Indice d'iode ( $\text{mg } I_2 \cdot 100 \cdot \text{g}^{-1}$ )

V : Volume de thiosulfate de sodium (mL)

$V_0$  : Volume de thiosulfate de sodium pour de blanc (mL)

N : Normalité du thiosulfate de sodium ( $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ )

m : Masse de l'échantillon en gramme (g)

### V.1.18 Détermination de l'indice de peroxyde

L'indice de peroxyde ( $I_p$ ) est déterminé selon la norme française AFNOR T60-220. Cet indice donne le nombre d'oxygènes actifs dans les chaînes organiques d'un corps gras (lipide, acide gras, monoglycéride, diglycéride). Cet oxygène actif peut être sous forme d'époxyde ou sous forme de hypoperoxyde. Il s'exprime en meq d' $O_2$ / kg de corps gras.

$$I_p = \frac{(V - V_0) \times 10}{m}$$

$I_p$  : Indice de peroxyde ( $\text{meq} \cdot \text{kg}^{-1}$ )

V : Volume de thiosulfate (mL)

$V_0$  : Volume de thiosulfate pour blanc (mL)

m : Masse de l'échantillon (g)

### V.1.19 Détermination de l'indice de réfraction

L'indice de réfraction ( $I_R$ ) est une caractéristique importante des huiles. L'indice de réfraction d'un milieu à une longueur d'onde donnée mesure le facteur de réduction de la vitesse de phase de la lumière dans le milieu par rapport au vide.

Sa mesure a été faite à la température de 25°C avec un réfractomètre par lecture directe.

### V.1.20 Détermination de la densité

La densité est une caractéristique physique importante dans la classification des huiles. C'est le rapport de la masse volumique d'un corps sur celle d'un corps pris comme référence. Pour les solides et les liquides, le corps de référence est l'eau. Elle est déterminée selon la norme AFNOR T60-214.

Nous avons utilisé la méthode des pesées. Les densités des différents lots sont déterminées à la même température de 25°C.

La densité est déterminée par la formule suivante :

$$d = \frac{m}{m_{\text{eau}}}$$

Avec :

d : densité de l'huile

m : masse de l'huile pesée (g)

m<sub>eau</sub> : masse d'un même volume d'eau (g)

### V.1.21 Détermination du pouvoir calorifique

C'est l'énergie thermique libérée par une réaction de combustion d'un kilogramme de combustible.

Le pouvoir calorifique (P<sub>C</sub>) d'un corps combustible est l'enthalpie de la réaction de combustion par unité de masse. Il existe deux types de pouvoirs calorifiques :

- Le pouvoir calorifique supérieur (P<sub>CS</sub>) : c'est l'énergie issue de la combustion à laquelle s'ajoute la chaleur latente de vaporisation de l'eau qui reste liquide.
- Le pouvoir calorifique inférieur (P<sub>CI</sub>) : il s'agit de l'énergie issue de la combustion sans tenir compte de la chaleur latente de vaporisation de l'eau.

Pour la détermination de ce pouvoir calorifique, nous avons utilisé la relation suivante (HAIDARA, 1996):

$$P_{CI} = 11380 - I_1 - 9,15 \times I_s$$

Avec:

P<sub>CI</sub> : Pouvoir Calorifique Inférieur (kcal.kg<sup>-1</sup>)

I<sub>1</sub> : Indice d'iode (mgI<sub>2</sub>.100 g<sup>-1</sup>)

$I_s$  : Indice de saponification ( $\text{mg.g}^{-1}$ )

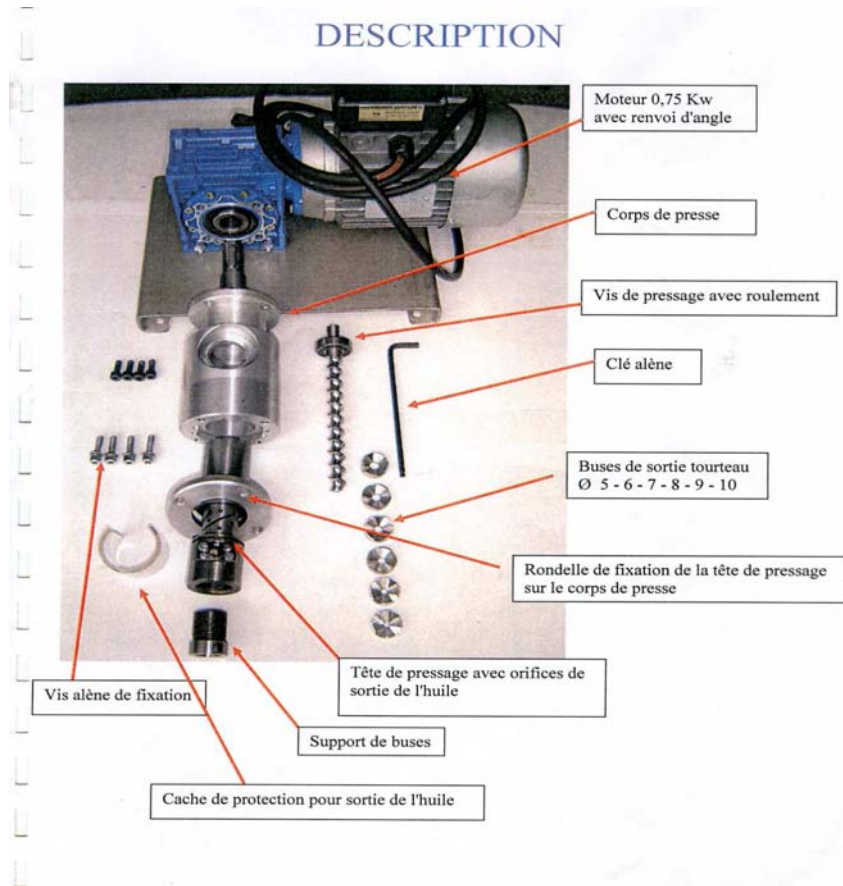
### **V.1.22 Teneur en phosphore**

Les teneurs en phosphore et en phospholipides sont déterminées selon la norme française NF T 60-227. Après incinération de l'échantillon et attaque des cendres formées lors de la minéralisation par l'acide nitrique, l'ajout du réactif vanadomolybdique permet la formation d'un complexe phosphovanadomolybdique de couleur jaune entre les ions phosphoriques, vanadiques et molybdiques. Mesurée par spectroscopie UV à 460 nm sur un appareil Hewlett Packard 8542 A, l'intensité de la coloration est rapportée à une courbe d'étalonnage préalablement établie à l'aide d'une solution étalon d'hydrogénophosphore de sodium ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ). Elle permet de déterminer la quantité d'ions phosphates présents et donc la teneur en phosphore de l'échantillon d'huile analysé. Elle est notée P et exprimée en pourcentage.

## **V.2 MISE EN ŒUVRE DE LA PRESSE MONO-VIS OMEGA 20**

### **V.2.1 Description générale de la presse mono-vis OMEGA 20**

La presse mono-vis OMEGA 20 utilisée dans le cadre de cette étude est décrite dans la figure V-1.



**Figure V-1 :** Description de la presse mono-vis OMEGA 20

## V.2.2 Caractéristiques générales de la vis

La vis est caractérisée par quatre principaux paramètres qui permettent de définir la géométrie de la vis. Ces paramètres sont les suivants :

- Le diamètre nominal ou diamètre externe : D
- Le diamètre du corps ou diamètre interne : d
- Le pas de vis : B
- L'épaisseur du filet : e

Cependant, d'autres paramètres peuvent caractériser une vis comme sa longueur (L), le rapport L/D, ou la profondeur du chenal (H).

Ce dernier paramètre est calculé selon la formule suivante :

$$H = \frac{D - d}{2}$$

Le pas de vis permet aussi de déterminer l'angle  $\theta$  que fait le filet avec le plan perpendiculaire à l'axe de la vis. Cet angle est obtenu grâce à la formule suivante :

$$\tan\theta = \frac{B}{\pi \times D}$$

La largeur du chenal peut être décrite par la formule suivante :

$$W = B\cos\theta - e$$

Une autre caractéristique qui exprime la longueur déroulée d'un tour d'hélice peut être déterminée selon la formule suivante :

$$Z = \frac{\pi D}{\cos\theta} = \frac{B}{\sin\theta}$$

En somme, les caractéristiques de la vis utilisée pour le pressage de la graine de neem avec la presse mono-vis OMEGA 20 sont résumées dans le **Tableau V-1**.

**Tableau V-1** : caractéristiques de la vis de la presse OMEGA 20

L (cm)	D (cm)	d (cm)	e (cm)	B (cm)	H (cm)	W (cm)	Z (cm)
18	2,4	1,4	0,02	1,8	0,5	1,77	23,63

## V.2.2 Caractéristiques générales du moteur

Les principaux facteurs qui caractérisent un moteur sont : la tension maximale, l'intensité maximale, la fréquence, la puissance et la vitesse de rotation. Celles du moteur utilisé dans cette étude sont résumées dans le **Tableau V-2**.

**Tableau V-2** : caractéristiques générales du moteur de la presse OMEGA 20

Tension Maximale (V)	Intensité Maximale (A)	Fréquence (Hz)	Cos $\varphi$	Puissance (kW)	vitesse de rotation ( $h^{-1}$ )
230	5,1	50	0,98	0,75	1400

## **V.3 MISE EN ŒUVRE DE L'EXTRUDEUR BI-VIS CLEXTRAL DE TYPE BC 21**

### **V.3.1 Description de l'extrudeur BC 21**

Un des extrudeurs bi-vis co-rotatives et co-pénétrantes utilisé dans le cadre de cette étude est de type BC 21. Il est fabriqué par la société CLEXTRAL. Les arbres de vis sont parallèles et leurs centres sont séparés de 21 mm. Le fourreau, constitué de 7 modules interchangeables de 10 cm chacun, est en acier inoxydable. Cinq de ces sept modules sont thermo-régulés grâce à un système de chauffage par induction assuré par des colliers chauffants et à un système de refroidissement assuré par une circulation d'eau, piloté par des électrovannes. Ces modules peuvent être ouverts pour l'introduction de la matière solide, fermés ou équipés de grilles de filtration.

Les deux vis sont entraînées par un moteur de type AC, de puissance 8,5 kW et de vitesse maximale 2 000 rpm. Le groupe d'entraînement des vis tourne à une vitesse de 682 rpm.

### **V.3.2 Description des périphériques de l'extrudeur BC 21**

#### **V.3.2.1 L'armoire électrique**

Le pilotage de l'installation est effectué à l'aide du logiciel Terminal Operator Intouch version 1.00 qui permet l'acquisition des paramètres de fonctionnement de la bi-vis (débit d'alimentation, vitesse de rotation des vis) et des températures des différents modules constituant le fourreau. Les caractéristiques de l'armoire électrique sont les suivantes :

- Dimensions : 2400 x 670 x 2350
- Poids : 500 kg
- Tension d'alimentation : 400 V-50 Hz
- Intensité installée par phase : 80 A
- Débit d'air (ventilation) : 3340 m<sup>3</sup>/h

#### **V.3.2.2 Le doseur utilisé pour l'alimentation en solide**

L'alimentation du solide est effectuée grâce un doseur pondéral placé au dessus du premier module de l'extrudeur. Ses principales caractéristiques sont les suivantes.

- Fabricant : KTRON
- Type : K2 ML D5 S60
- Puissance moteur : 0,55 kW

- Volume trémie de réserve : 50 L
- Balance : type D55
- Débit : 1,4 à 570 dm<sup>3</sup>/h
- Poids : environ 70 kg

### **V.3.2.3 La pompe utilisée pour l'introduction du liquide**

L'eau est introduite dans l'extrudeur grâce à une pompe volumétrique dont les caractéristiques sont les suivantes.

- Fabricant : DKM
- Type : K20-2 KAMP 112/16
- Puissance : 0,37 kW

## **V.3.3 Mise en œuvre de l'extrudeur BC 21**

### **V.3.3.1 Mise en œuvre de l'extrudeur BC 21 pour l'expression de l'huile des graines de neem**

L'expression de l'huile de neem en extrudeur bi-vis s'effectue selon la procédure suivante :

- Fixer les températures de consigne du fourreau
- Attendre la stabilité des températures mesurées et s'assurer que ces températures sont bien égales aux consignes
- Faire tourner lentement les vis
- Alimenter doucement en graines
- Augmenter progressivement et jusqu'aux valeurs souhaitées la vitesse de rotation des vis et le débit d'alimentation en graines
- S'assurer que le filtrat d'expression s'écoule librement par les pores du module de filtration
- Laisser le temps (20 à 30 minutes) à l'appareil d'atteindre son régime de fonctionnement stable
- Prélever le tourteau gras et le filtrat. Le temps de prise des échantillons est fixé à 15 minutes pour chaque essai

### **V.3.3.2 Mise en œuvre de l'extrudeur BC 21 pour l'extraction de l'azadirachtine et de l'huile des graines de neem :**

- Fixer les températures de consigne du fourreau
- Attendre la stabilité des températures mesurées et s'assurer que ces températures sont bien égales aux consignes
- Faire tourner lentement les vis
- Alimenter doucement en graines
- Augmenter progressivement et jusqu'aux valeurs souhaitées la vitesse de rotation des vis et le débit d'alimentation en graines
- S'assurer que le filtrat d'expression s'écoule librement par les pores du module de filtration
- Injecter l'eau déminéralisée et augmenter doucement jusqu'au débit souhaité
- S'assurer que le filtrat d'extraction s'écoule librement par les pores du filtre et que le bouchon dynamique n'est pas cassé
- Laisser le temps (20 à 30 minutes) à l'appareil d'atteindre son régime de fonctionnement stable
- Prélever le tourteau gras et le filtrat. Le temps de prise des échantillons est fixé à 15 minutes pour chaque essai

## **V.4 MISE EN ŒUVRE DE L'EXTRUDEUR BI-VIS CLEXTRAL DE TYPE BC 45**

### **V.4.1 Description de l'extrudeur CLEXTRAL BC 45**

L'autre extrudeur bi-vis co-rotatives et co-pénétrantes utilisé dans le cadre de cette étude est de type BC 45. Il est fabriqué par la société CLEXTRAL. Il est constitué d'un fourreau entièrement modulable composé de 7 modules de 20 cm de long chacun assemblés entre eux par des colliers. Ces modules peuvent être ouverts pour l'introduction de matières solides ou fermés. Chaque module dispose de deux ouvertures permettant l'introduction de liquides ou l'installation de pipes de dégazage. Les arbres de vis sont parallèles et leurs centres sont séparés de 45 mm. Comme dans le cas de la BC 21, tous les modules fermés sont thermo-régulés grâce à un système de chauffage par induction assuré par des fours à induithermes de 5 kW et à un système de refroidissement assuré par une circulation d'eau, piloté par des électrovannes.



Les deux vis sont entraînées par un moteur de type courant continu (dont l'intensité est mesurée en permanence) à vitesse variable par l'intermédiaire d'un boîtier de réduction. Le moteur développe une puissance de 44 kW, et fonctionne avec une tension maximale de 380 V pour une fréquence de 50 Hz et une intensité installée par phase de 190 A. Sa vitesse maximale de 2000 rpm est réduite par le groupe d'entraînement des vis à 600 rpm pour les arbres.

## **V.4.2 Description des périphériques de l'extrudeur CLEXTRAL BC 45**

### **V.4.2.1 L'armoire électrique**

Le pilotage de l'installation est effectué directement à partir d'une armoire de commande où les paramètres de fonctionnement de l'extrudeur (ampérage, vitesses de rotation des vis) et les températures des différents modules constituant le fourreau peuvent également être lus. Les caractéristiques de l'armoire sont les suivantes.

- Dimensions : 2440 x 650 x 2200
- Poids 400 kg
- Tension d'alimentation : 380 V – 50 Hz
- Intensité installée par phase : 190 A
- Intensité à prévoir par phase : 190 A
- Longueur de câble entre armoire et machine : 6 m
- Débit d'air (ventilation) : 5010 m<sup>3</sup>/h

### **V.4.2.2 Le doseur utilisé pour l'alimentation en solide**

La matière solide est introduite via une trémie doseuse placée au dessus du premier élément du cylindre. Celle-ci est équipée de deux vis sans fin parallèles, entraînées par un moteur à vitesse variable. Les caractéristiques du doseur sont les suivantes.

- Fabricant : CLEXTRAL
- Type : 40
- Volume trémie : 40 L
- Vitesse maximale des vis : 227 rpm
- Puissance : 0,75 kW

### V.4.2.3 La pompe utilisée pour l'introduction du liquide

L'eau est introduite dans le fourreau grâce à une pompe volumétrique à piston DKM K20-2-P32. Le débit maximal de cette pompe est de 87 L/h.

### V.4.3 Mise en œuvre de l'extrudeur bi-vis BC 45 pour l'extraction aqueuse de l'huile et de l'azadirachtine

L'extraction aqueuse simultanée de l'huile et de l'azadirachtine des graines de neem en réacteur bi-vis BC 45 se fait selon la même procédure appliquée pour la BC 21.

### V.4.4 Evaluations des consommations énergétiques

#### V.4.4.1 L'énergie mécanique spécifique

L'énergie transmise à la matière pour assurer sa transformation au niveau de l'extrudeur est appelée Energie Mécanique Spécifique (EMS). Elle est directement liée à la puissance électrique fournie par le moteur notée P et s'exprime en W.h/kg. Elle est exprimée par la formule suivante.

$$\text{EMS} = \frac{\text{Couple} \times \text{Vitesse}}{\text{Débit}} = \frac{\text{P}}{\text{Q}_G}$$

$$\text{Avec } \text{P} = \text{U} \times \text{I} \times \cos \varphi \times \frac{\text{S}_s}{\text{S}_{\max}}$$

$\text{Q}_G$  : débit d'alimentation en graines ( $\text{kg.h}^{-1}$ )

$\text{P}$  : la puissance électrique fournie par le moteur (W)

$\text{U}$  : la tension de fonctionnement ou d'alimentation du moteur ; elle est égale à 460 V

$\text{I}$  : l'ampérage du courant consommé par le moteur ; elle est directement relevée sur l'armoire de commande (A)

$\cos \varphi$  : le rendement théorique du moteur de l'extrudeur ; il est égal à 0,95 selon le constructeur

$\text{S}_s$  : la vitesse de rotation des vis (rpm)

$\text{S}_{\max}$  : la vitesse maximale de rotation des vis ; elle est égale à 600 rpm

#### **V.4.4.2 L'énergie thermique spécifique**

L'Énergie Thermique Spécifique (ETS) est l'énergie thermique apportée par le système de chauffage par induction. Elle est directement liée à la puissance de chauffage notée  $P_c$  et s'exprime en  $\text{Wh.kg}^{-1}$  selon la formule suivante.

$$\text{ETS} = \frac{P_c}{Q_G}$$

$P_c$  est la puissance de chauffage ; elle est directement relevée sur l'armoire de commande (en W)

#### **V.4.4.3 L'énergie totale**

L'énergie totale consommée pour assurer la transformation de la matière est la somme de l'énergie mécanique spécifique et de l'énergie thermique spécifique. Elle s'exprime en  $\text{Wh.kg}^{-1}$  selon la formule suivante.

$$E_t = E_{MS} + E_{TS}$$

### **V.4.5 Détermination de la distribution des temps de séjour dans l'extrudeur**

Le principe de l'étude de la distribution des temps de séjour (DTS) consiste à appliquer, à l'aide d'un traceur, un signal à l'entrée de l'extrudeur de manière à ne pas perturber le régime d'écoulement, et à examiner la transformation à la sortie. Le traceur peut être soit un produit coloré, soit un produit radioactif ou toute substance, de même propriété hydrodynamique que le fluide, mais décelable par une propriété caractéristique.

#### **V.4.5.1 Choix du traceur**

Le traceur choisi dans cette étude pour déterminer la distribution des temps de séjour est l'érythrosine. Ce colorant qui est un sel disodique de la tétraiodofluoresceine a été choisi pour ses caractéristiques neutres vis-à-vis du procédé et parce qu'il permet une bonne coloration de nombreuses matières végétales, elles-mêmes souvent fortement colorées ou sombres.

#### **V.4.5.2 Détermination de la DTS du solide**

Pour la détermination des DTS en phase solide, un échantillon de graines est préalablement imbibé d'érythrosine. Pour ce faire, 250 grammes de graines broyées sont laissées au contact

de 500 mL d'une solution d'érythrosine à 1 % (m/v) dans l'eau pendant 24 heures. L'échantillon est ensuite séché jusqu'aux conditions d'entrée du solide. En quelques secondes, une masse de quinze grammes de cet échantillon coloré est introduite à la main au niveau de l'entrée solide du réacteur. L'introduction du traceur est supposée ne pas perturber le régime permanent.

A partir du temps initial, le solide est prélevé à la sortie toutes les dix secondes sur une durée d'au moins 6 minutes. Les échantillons sont ensuite séchés à l'étuve à  $103 \pm 2^\circ\text{C}$  pendant 12 heures. Ils sont ensuite broyés avant d'être analysés en colorimétrie.

#### **V.4.5.3 Détermination de la DTS du liquide**

La DTS du liquide est déterminée en même temps que celle du solide. A partir du temps initial, le filtrat est prélevé toutes les dix secondes à la sortie. Les échantillons obtenus sont centrifugés afin de séparer les particules solides entraînées à travers le filtre.

#### **V.4.5.4 Conditions de mesure de la coloration**

La détermination de la concentration (C) en traceur dans les différents échantillons prélevés se fait par méthode colorimétrique. L'appareil d'analyse est un spectrophotocolorimètre de type Data Color ACS ICS, piloté par le logiciel Chroma QC. L'illuminant utilisé est de type D 65. Normalisée par la Commission Internationale de l'Éclairage (CIE), cette source lumineuse correspond à la lumière du jour avec UV. L'observateur mis en œuvre est l'observateur  $10^\circ$ , défini lui aussi par la CIE. Les cônes et les bâtonnets y reçoivent tous les deux l'information : vision colorée et intensité lumineuse.

La couleur peut être caractérisée par trois grandeurs visualisables en trois dimensions et qui sont à la base de la colorimétrie. Plusieurs types de référentiels existent. Pour cette étude, le référentiel choisi est le référentiel CIE  $L^*a^*b^*$  1986, recommandé par la CIE pour l'étude des surfaces. La géométrie de mesure est un système 45/0 (illumination à  $45^\circ$ , lecture à  $0^\circ$ ). La surface de l'échantillon est éclairée sous un angle de  $45^\circ$  et seule la lumière réfléchie perpendiculairement à la surface de l'échantillon est prise en compte pour la mesure.

#### **V.4.5.5 Principe de mesure de la coloration**

Les matières à analyser sont placées dans une boîte de Pétri pour les solides et les liquides obtenus par extraction aqueuse ou dans une cuve en plastique pour les filtrats d'expression. Puis, l'appareil fait un balayage du spectre de 400 à 700 nm, pour un pas fixé à 10 nm. Pour

chaque échantillon, les mesures sont répétées cinq fois consécutivement. Les données mesurées sont ensuite traitées sur ordinateur. Les valeurs des composantes trichromatiques sont converties en coordonnées L, a et b. Dans l'espace couleur L\*a\*b\*, L\* indique la clarté tandis que a\* et b\* sont les coordonnées de chromaticité : +a\* va vers le rouge alors que -a\* va vers le vert et +b\* va vers le jaune alors que -b\* va vers le bleu.

Le rapport a\* est utilisé pour évaluer la proportion de rouge provenant de l'érythrosine. Il est ainsi possible de tracer des courbes montrant l'évolution de la valeur de a\* et donc de la coloration en fonction du temps. Normées par la surface, ces courbes correspondent aux DTS des solides et des liquides.

#### V.4.5.6 Détermination des grandeurs caractéristiques

La détermination des moments d'ordre 1 et 2 est réalisée à partir des mesures issues du spectrophotocolorimètre selon le protocole suivant :

- Calcul de la ligne de base (moyenne du signal sur les points précédant le pic).
- Correction des valeurs C(t) (concentration en traceur) par soustraction de la valeur de la ligne de base.
- Intégration numérique de la fonction C(t) par la méthode des trapèzes et détermination de la fonction de distribution du temps de séjour E(t).

$$E(t) = \frac{C(t)}{\sum C(t) \times \Delta t}$$

Avec :

$$\sum C(t) \times \Delta t = C(t_0) \times \frac{t_1 - t_0}{2} + \sum_{i=1}^{i=n} C(t_i) \times \frac{t_{i+1} - t_{i-1}}{2} + C(t_n) \times \frac{t_n - t_{n-1}}{2}$$

**C(t)** : Concentration du traceur dans l'échantillon prélevé à l'instant t

**Δt** : Période de l'échantillonnage

# ANNEXES

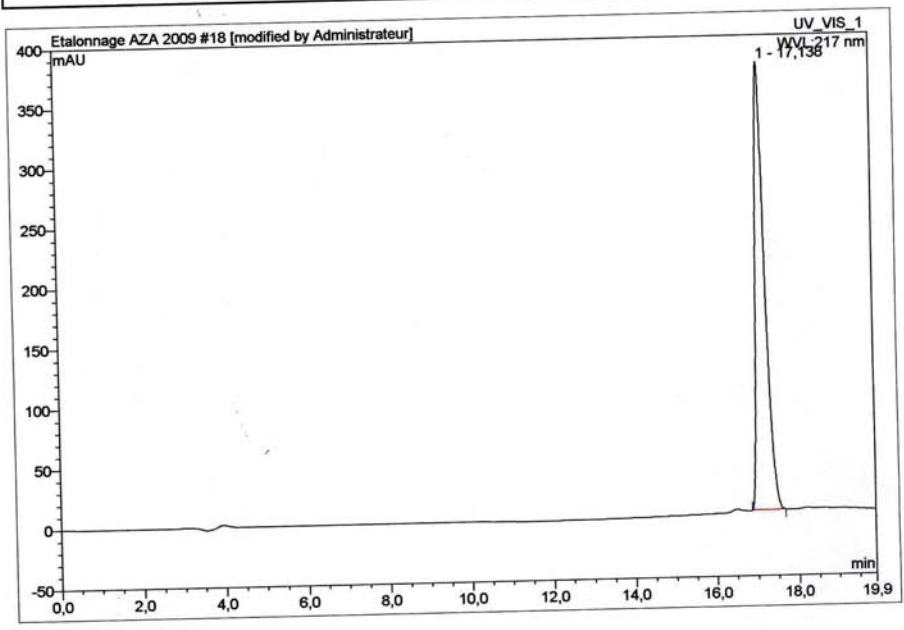


# Annexe 1 : Chromtogrammes

Operator:Administrateur Timebase:HPLC Sequence:Etalonnage AZA 2009

Page 1-1  
9/4/2009 6:09 PM

<b>18 aza 250</b>			
Sample Name:	aza 250	Injection Volume:	20,0
Vial Number:	RA6	Channel:	UV_VIS_1
Sample Type:	unknown	Wavelength:	217
Control Program:	GRADazadir1	Bandwidth:	4
Quantif. Method:	default	Dilution Factor:	1,0000
Recording Time:	9/4/2009 16:58	Sample Weight:	1,0000
Run Time (min):	19,89	Sample Amount:	1,0000



No.	Ret. Time min	Peak Name	Height mAU	Area mAU*min
1	17,14	n.a.	372,438	99,474
<b>Total:</b>			372,438	99,474

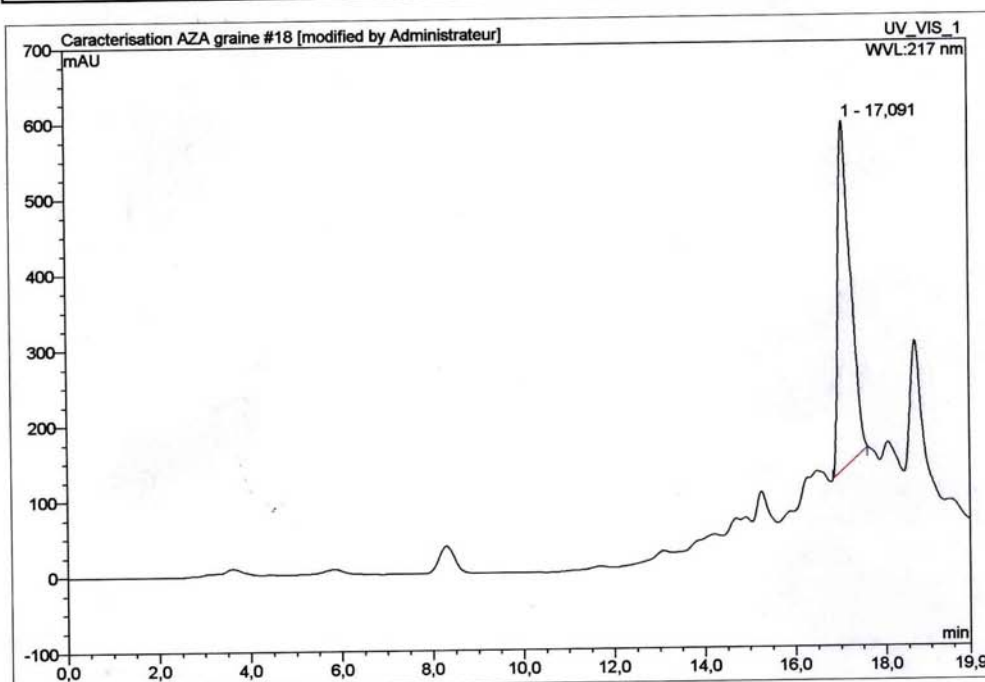
report1/Integration

Chromeleon (c) Dionex 1996-2001  
Version 6.60 SP4 Build 1499

Figure VII-1 : Chromatogramme de l'azadirachtine (étalon)



<b>18 Graine entière2</b>			
Sample Name:	Graine entière2	Injection Volume:	20,0
Vial Number:	GA6	Channel:	UV_VIS_1
Sample Type:	unknown	Wavelength:	217
Control Program:	GRADazadir1	Bandwidth:	4
Quantif. Method:	default	Dilution Factor:	1,0000
Recording Time:	10/4/2009 16:12	Sample Weight:	1,0000
Run Time (min):	19,86	Sample Amount:	1,0000



No.	Ret. Time min	Peak Name	Height mAU	Area mAU*min
1	17,09	n.a.	459,708	147,262
<b>Total:</b>			459,708	147,262

report1/Integration

Chromeleon (c) Dionex 1996-2001  
Version 6.60 SP4 Build 1499

**Figure VII-2** : Chromatogramme de l'azadirachtine (échantillon)

# CHROMATOGRAMMES ET RESULTATS DE LA COMPOSITION EN ACIDES GRAS

## Composition en Acides Gras

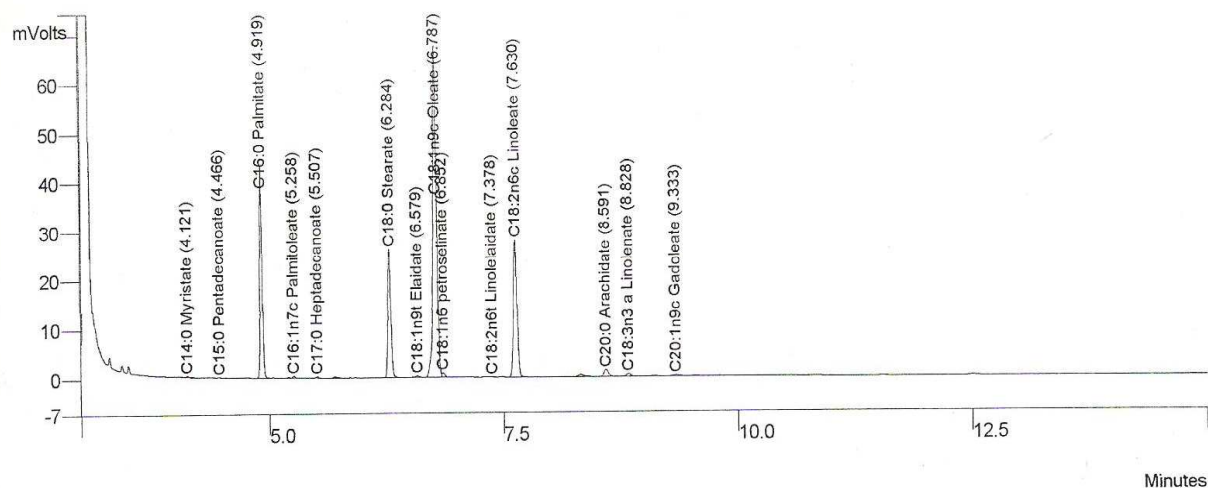
Operator (Inj): jezia

Instrument (Inj): GC3900

Injection Date: 18/03/2009 22:44:14

Sample ID: Kaolack 2

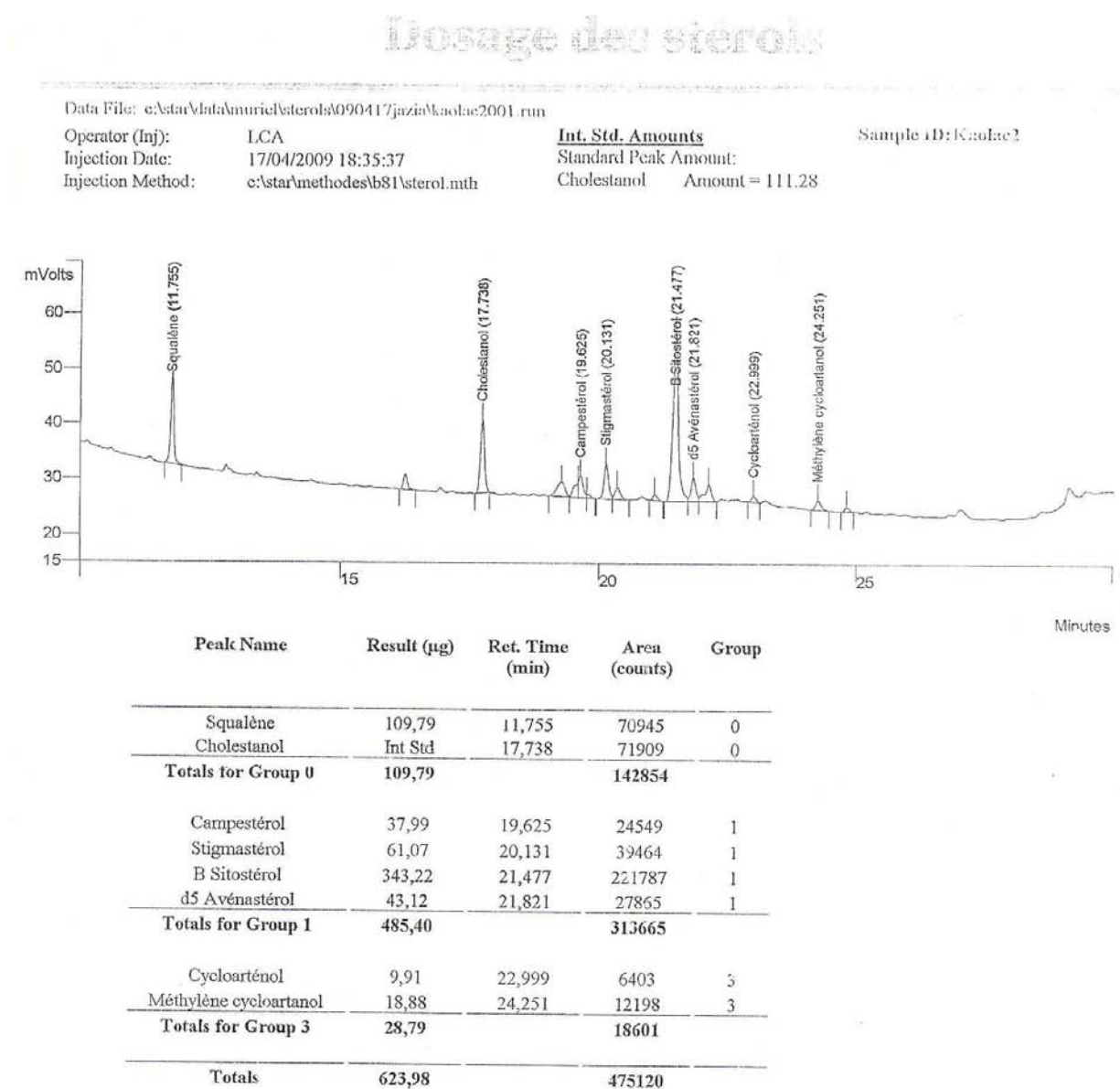
Injection Method: c:\star\methodes\muriel\fname\_30.mth



Peak Name	Result	Ret. Time (min)	Area (counts)	Group
C14:0 Myristate	0,12	4,121	502	1
C15:0 Pentadecanoate	0,03	4,466	135	1
C16:0 Palmitate	17,31	4,919	69632	1
C16:1n7c Palmitoleate	0,15	5,258	594	1
C17:0 Heptadecanoate	0,15	5,507	600	1
C18:0 Stearate	14,75	6,284	59327	1
C18:1n9t Elaidate	0,30	6,579	1226	1
C18:1n9c Oleate	44,19	6,787	177738	1
C18:2n6t Linolelaidate	0,07	7,378	276	1
C18:2n6c Linoleate	19,14	7,630	76978	1
C20:0 Arachidate	1,19	8,591	4780	1
C18:3n3 a Linolenate	0,47	8,828	1891	1
C20:1n9c Gadoleate	0,39	9,333	1559	1
<b>Totals for Group 1</b>	<b>98,26</b>		<b>395238</b>	
C18:1n6 petroselinat	0,47	6,852	1879	0
<b>Totals for Group 0</b>	<b>0,47</b>		<b>1879</b>	
<b>Totals</b>	<b>98,73</b>		<b>397117</b>	

**Figure VII-3** : Chromatogramme des acides gras de l'huile des graines de neem provenant de Kaolack

# CHROMATOGRAMMES ET RESULTATS DU DOSAGE DES STEROLS



**Figure VII-4** : Chromatogramme des stérols de l'huile des graines de neem provenant de Kaolack

**ANNEXE 2.** Plan expérimental pour l'étude de l'influence de la distance tête de vis-buse et du diamètre de buse sur le fractionnement des graines de neem par presse mono-vis OMEGA  
20

*Modèle*

$$Y = b_0 + b_1 * X_1 + b_2 * X_2 + b_{11} * (X_1 * X_1) + b_{22} * (X_2 * X_2) + b_{12} * (X_1 * X_2)$$

*Caractéristiques du problème*

Objectif de l'étude	Etude dans un domaine expérimental: Surface de Réponses
Nombre de variables	2
Nombre d'expériences	18
Nombre de coefficients	6
Nombre de réponses	6

*Domaine Expérimental*

	Facteur	Unité	Centre	Pas de variation
U1	distance buse vis	cm	2	1
U2	diamètre de buse	mm	8	3

*Réponse(s) expérimentale(s)*

	Réponse	Unité
Y1	Rendement RG	(%)
Y2	Rendement RH	(%)
Y3	Rendement RT	(%)
Y4	Huile Résiduelle LT	(%)
Y5	Protéine Tourteau	(%)
Y6	Teneur en pied TP	(%)

*Plan d'expérimentation*

N°Exp	Rand	distance buse vis	diamètre de buse
		cm	mm
1		1	5
2		2	5
3		3	5
4		1	6
5		2	6
6		3	6
7		1	7
8		2	7
9		3	7
10		1	8
11		2	8
12		3	8
13		1	9
14		2	9
15		3	9
16		1	10
17		2	10
18		3	10

N°Exp	X1	X2	Y1	Y2	Y3	Y4	Y5	Y6
1	-1.0000	-1.0000	12.92	40.38	62.34	14.34	18.88	32.03
2	0.0000	-1.0000	13.47	42.10	62.93	14.95	19.19	31.20
3	1.0000	-1.0000	13.72	42.86	63.47	14.22	19.56	29.88
4	-1.0000	-0.6000	13.74	42.92	59.34	16.22	18.93	29.62
5	0.0000	-0.6000	14.03	43.85	64.49	14.49	18.99	28.74
6	1.0000	-0.6000	14.54	45.45	65.34	15.12	20.37	23.76
7	-1.0000	-0.2000	13.42	41.93	57.74	16.41	18.83	29.75
8	0.0000	-0.2000	14.44	45.11	63.26	14.71	19.96	25.36
9	1.0000	-0.2000	15.07	47.10	65.68	13.73	20.88	23.95
10	-1.0000	0.2000	9.68	30.25	38.31	22.52	18.23	20.65
11	0.0000	0.2000	13.83	43.22	55.89	17.30	18.40	18.38
12	1.0000	0.2000	16.11	50.34	60.85	15.38	19.07	16.81
13	-1.0000	0.6000	6.86	21.43	28.50	24.12	17.43	19.17
14	0.0000	0.6000	12.02	37.56	46.70	20.07	19.94	18.14
15	1.0000	0.6000	15.18	47.45	63.78	14.23	20.15	16.66
16	-1.0000	1.0000	5.73	17.91	34.75	22.68	17.78	17.20
17	0.0000	1.0000	10.02	31.32	42.98	21.27	19.24	15.55
18	1.0000	1.0000	13.36	41.76	49.98	18.87	20.66	14.49

**Estimations et statistiques des coefficients : réponse Y1 : Rendement RG**

Ecart Type de la réponse	0.714
R2	0.955
R2A	0.936
R2 pred	0.892
PRESS	14.744
Nombre de degrés de liberté	12

Nom	Coefficient	F.Inflation	Ecart-Type	t.exp.	Signif. %
b0	14.018		0.352	39.84	< 0.01 ***
b1	2.136	1.00	0.206	10.36	< 0.01 ***
b2	-1.978	1.00	0.246	-8.02	< 0.01 ***
b11	-0.441	1.00	0.357	-1.23	24.1
b22	-2.250	1.00	0.422	-5.33	0.0179 ***
b12	2.196	1.00	0.302	7.28	< 0.01 ***

**Estimations et statistiques des coefficients : réponse Y2 : Rendement RH**

Ecart Type de la réponse	2.229
R2	0.955
R2A	0.936
R2 pred	0.892
PRESS	143.519
Nombre de degrés de liberté	12

Nom	Coefficient	F.Inflation	Ecart-Type	t.exp.	Signif. %
b0	43.805		1.098	39.90	< 0.01 ***
b1	6.678	1.00	0.643	10.38	< 0.01 ***
b2	-6.177	1.00	0.769	-8.03	< 0.01 ***
b11	-1.378	1.00	1.114	-1.24	24.0
b22	-7.024	1.00	1.316	-5.34	0.0177 ***
b12	6.866	1.00	0.942	7.29	< 0.01 ***

**Estimations et statistiques des coefficients : réponse Y3 : Rendement RT**

Ecart Type de la réponse	4.819
R2	0.881
R2A	0.831
R2 pred	0.664
PRESS	785.245
Nombre de degrés de liberté	12

Nom	Coefficient	F.Inflation	Ecart-Type	t.exp.	Signif. %
b0	58.000		2.374	24.43	< 0.01 ***
b1	7.343	1.00	1.391	5.28	0.0195 ***
b2	-11.604	1.00	1.663	-6.98	< 0.01 ***
b11	-1.868	1.00	2.410	-0.78	45.3
b22	-4.197	1.00	2.846	-1.47	16.6
b12	6.176	1.00	2.037	3.03	1.04 *

***Estimations et statistiques des coefficients : réponse Y4 : Huile Résiduelle LT***

Ecart Type de la réponse	1.539
R2	0.858
R2A	0.798
R2 pred	0.602
PRESS	79.388
Nombre de degrés de liberté	12

Nom	Coefficient	F.Inflation	Ecart-Type	t.exp.	Signif. %
b0	16.659		0.758	21.98	< 0.01 ***
b1	-2.062	1.00	0.444	-4.64	0.0569 ***
b2	3.445	1.00	0.531	6.49	< 0.01 ***
b11	0.188	1.00	0.769	0.24	81.1
b22	1.012	1.00	0.909	1.11	28.7
b12	-1.760	1.00	0.650	-2.71	1.91 *

***Estimations et statistiques des coefficients : réponse Y5 : Protéine Tourteau***

Ecart Type de la réponse	0.622
R2	0.701
R2A	0.577
R2 pred	0.455
PRESS	8.468
Nombre de degrés de liberté	12

Nom	Coefficient	F.Inflation	Ecart-Type	t.exp.	Signif. %
b0	19.300		0.306	62.97	< 0.01 ***
b1	0.884	1.00	0.180	4.92	0.0352 ***
b2	-0.144	1.00	0.215	-0.67	51.6
b11	-0.056	1.00	0.311	-0.18	86.1
b22	-0.028	1.00	0.367	-0.07	94.2
b12	0.487	1.00	0.263	1.85	8.9

*Estimations et statistiques des coefficients : réponse Y6 : Teneur en pied TP*

Ecart Type de la réponse	1.883
R2	0.932
R2A	0.904
R2 pred	0.862
PRESS	87.228
Nombre de degrés de liberté	12

Nom	Coefficient	F.Inflation	Ecart-Type	t.exp.	Signif. %
b0	22.443		0.928	24.19	< 0.01 ***
b1	-1.906	1.00	0.544	-3.51	0.434 **
b2	-8.024	1.00	0.650	-12.35	< 0.01 ***
b11	-0.064	1.00	0.942	-0.07	94.7
b22	0.969	1.00	1.112	0.87	40.0
b12	0.329	1.00	0.796	0.41	68.7





# REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES



## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ABU-ARABI, M.K., ALLAWZI, M.A., AL-ZOUBI, H.S., TAMIMI, A.**, Extraction of jojoba oil by pressing and leaching, *Chemical Engineering Journal*, **76**, 61-65 (2000).
- AGENCE DE REGLEMENTATION DE LA LUTTE ANTIPARASITAIRE**, Note réglementaire, REG2000-13 CANADA, (2000)
- AHMED, S.**, Potential of using the neem tree (*azadirachta Indica*) for pest control and rural development. *Neem Newsl.* **5 (4)**, 49-55 (1988).
- AHMED, S., BAMOFLEH, S., MUNSHI, M.**, Cultivation of neem (*Azadirachta indica*, Meliaceae) in Saudi Arabia. *Econ. Bot* **43**, 34-38 (1989).
- AMALIA KARTIKA, I., PONTALIER, P.Y., RIGAL, L.**, Extraction of sunflower oil by twin screw extruder: screw configuration and operating conditions effects. *Proceedings of the 16th International Sunflower Conference*, Fargo, ND, USA (2004a).
- AMALIA KARTIKA, I., GENEAU, C., PONTALIER, P.Y., SILVESTRE, F., RIGAL, L.**, Twin screw extrusion: a single step for three treatments of sunflower seeds. *Proceedings of the 16th International Sunflower Conference*, Fargo, ND, USA (2004b).
- AMALIA KARTIKA, I.**, Nouveau procédé de fractionnement des graines de tournesol : expression et extraction en extrudeur bi-vis, purification par ultrafiltration de l'huile de tournesol. *Thèse de Doctorat*, INP, Toulouse (2005).
- AMALIA KARTIKA, I., PONTALIER, P.Y., RIGAL, L.**, Oil extraction of oleic sunflower seeds by twin screw extruder: influence of screw configuration and operating conditions. *Ind. Crops Prod.*, **22 (3)**, 207-222 (2005).
- AMALIA KARTIKA, I., PONTALIER, P.Y., RIGAL, L.**, Extraction of sunflower oil by twin screw extruder: screw configuration and operating conditions effects. *Bioresour. Technol.*, **97 (18)**, 2302-2310 (2006).
- ANON.** Devastating disease of the neem tree in West Africa. *Echo Devel. Notes*, Issue 36, North Ft. Myers, FL. (1992).
- ARNASON, J.T., PHILOGÈNE, B.J.R., DONSKOV, N., KUBO, I.**, Limonoids from Meliaceae and Rutaceae reduce feeding, growth and development of *Ostrinia nubilalis*. *Entomol. Exp. Appl.* **43**, 221-226 (1987).
- AWAD, A.B., FINK, C.S.**, *J. Nutr.* **130**, 2127-2139 (2000).
- AWAD, A.B., CHAN, K.C., DOWNIE, A.C., FINK, C.S.**, Peanuts as a source of  $\beta$ -sitosterol, a sterol with anticancer properties. *Nutr. Cancer.* **36**, 238-241 (2000).
- AWAD, A.B. CHINNAM, M. FINK C.S., BRADFORD P.G.**  $\beta$ -Sitosterol activates Fas signaling in human breast cancer cells. *Phytomedicine.* **14**, 747-754 (2007).
- BALANDRIN, M.F., LEE, S.M., KLOCKE, J.A.**, Biologically active volatile organo-sulfur compounds from seeds of the neem tree, *Azadirachta indica* (Meliaceae). *Journal Agric. Food Chem.* **36**, 1048-1054 (1988).
- BAUMANN, S.**, Wirkung von Meliaceeninhaltsstoffen auf die Entwicklung von *Spodoptera littoralis* und *Epilachna varivestis*. *Doctor. thesis*, Univ. of Hohenheim, Germany (1985).
- BAZUS, A., RIGAL, L., GASET, A., FONTAINE, T., WIERUSZESKI J.M., FOURNET, B.**, Isolation and characterization of hemicelluloses from sunflower hulls. *Carbohydrate Research*, **243**, 323-332 (1993).

- BENGE, M.D.**, Cultivation and propagation of the neem tree. In JACOBSON, M., Focus on phytochemical. Vol I, The neem tree. pp. 1-18. CRC Press, Boca Raton, FL. pesticides Ed. 1988 (1989).
- BERGER, A., JONES, P.J.H., ABUMWEIS, S.S.**, Plant sterols: factors affecting their efficacy and safety as functional food ingredients. *Lipids in Health and Disease*, **3**, 5–23 (2004).
- BILTON, J.N., JONES, P.S., LEY, S.V., ROBINSON, N.G., SHEPPARD, R.N.** Chemistry of insect antifeedants from *Azadirachta indica* (part 1): Conversion from the azadirachtin at the azadirachtinin skeletons. *Tetrahedron Lett.* **29**, 1849-1852 (1988).
- BIOFIL**, Le nim (ou neem), l'arbre miracle (2008)
- BLIGH, E.G., DYER, W.J.**, A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can. J. Biochem. Physiol.*, **37** (8), 911-917 (1959).
- BOKEL, M., CRAMER, R., GUTZEIT, H., REEB, S., KRAUS, W.** Tetranortriterpenoids related to nimbin and nimbolide from *Azadirachta indica* A. Juss (Meliaceae). *Tetrahedron*, **46**, 775-782 (1990).
- BOUIC P.J.**, The role of phytosterols and phytosterolins in immune modulation: a review of the past 10 years. *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care*, **4**, 471-475 (2001).
- BOUVIER, J.M., GUYOMARD, P.**, Method and installation for continuous extraction of a liquid contained in a raw material. *PCT/WO97/43113* (1997).
- BUTTERWORTH, J.H., MORGAN, E.D.**, Isolation of a substance that supresses feeding in locusts. *J. Chem. Soc. Chem. Comm.* 23-24 (1968).
- BUTTERWORTH, J.H., MORGAN, E.D.**, Investigation of the locust feeding inhibition of the seeds of neem tree, *Azadirachta Indica*. *J. Insect. Physiol.* , **17**: 969-977 (1972).
- BUTTERWORTH, J.H., MORGAN, E.D., PERECY, G.R.** Structure of functional groups. *Chemical Society, perkin Transactions*, **1**, 2245-2250. (1972).
- CAMPBELL, E.J.**, Sunflower oil, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **60**, 387-392 (1983).
- CANN, S.M., FREUDENHEIM, J.L., MARSHALL, J.R., BRASURE, J.R., SWANSON, M.K., GRAHAM, S.** Diet in the epidemiology of endometrial cancer in Western New York (United States). *Cancer Causes Control*, **11**, 965-974 (2000).
- CANN, S.M., FREUDENHEIM, J.L., MARSHALL, J.R., GRAHAM. S.**, Risk of human ovarian cancer is related to dietary intake of selected nutrients, phytochemicals and food groups. *J. Nutr.* **133** 1937-1942 (2003).
- CHAMPAGNE, D.E., ISMAN, M.B., TOWERS, O.H.N.**, Insecticidal activity of phytochemicals and extracts of the Meliaceae. In ARNASON, J.T., PHILOGENE, B.J.R., MORAND, P. [Eds.] *Insecticides of Plant Origin*. ACS Symp. Ser. 387, American Chemical Society, Washington, DC, pp. 95-109 (1989).
- CHAMPAGNE, D.E., KOUL, O., ISMAN, M.B., SCUDDER, G.G.E., TOWERS, G.H.N.**, Biological activity of limonoids from the Rutales. *Phytochemistry*, **31**, 377-394 (1992).
- CHOPRA, I.C., GUPTA, K.C., and NAZIR, B.N.**, Preliminary study of antibacterial substance from *Melia azadirachta*. *Indian Journal of Medical Research*, **40**, 511-515 (1952).
- CONNOLLY, J.D.**, Chemistry of the limonoids of the Meliaceae and ceneoraceae. In WATERMAN, P.G., GRUNDON M.F., (ed.) Chemistry and chemical taxonomy of rutales. *Annual Review of Phytochemical Society of the Europe*, **22**, 175-213, Academic Press, New York (1983).
- COREY, E.J., HAHL, R.W.**, Synthesis of a limonoid, azadiradione. *Tetrahedron Lett.* **30**, 3023-3026 (1989).
- CRAMER R.**, Neue Tetra- and Pentanortriterpenoide aus *Azadirachta indica* A. Juss (Meliaceae) mit insektenfralshemmender Wirkung. *Doctor. thesis*, Univ. of Tübingen, Germany (1979).

- DE JONG, A., PLAT, J., MENSINK, R.P.**, Metabolic effects of plant sterols. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, **14**, 362–369 (2003).
- DE SILVA, L.B., STOCKLIN, W., GEISSMAN, T.A.** Isolation of salannin from *Melia dubia*. *Phytochemistry* **8**, 1817-1819 (1969).
- DEBELMAS, A.M., HACHE, J.**, Etude pharmacologique de quelques plantes médicinales du Nepal. Toxicité aigue, étude comportementale et action sur le système nerveux central. *Plantes Médicinales et phytothérapie*, **10**, 18-138 (1976).
- DJENONTIN, T.S.**, Etude de grains oléagineuses du Bénin : Caractérisation Chimique fractionnement et activité biocide, *Thèse de Doctorat*, Université d'Abomey-Calavi et Université Montpellier II (2006)
- DUFAURE, C.L., MOULOUNGUI, Z., LEYRIS, J., RIGAL, L., GASET, A., SILVESTRE, F.**, Procédé et dispositif pour la fabrication d'ester d'acides gras à partir de graines oléagineuses. *Brevet Français FR 2 747 128* (1996).
- DUFAURE, C.L.**, Fractionnement du tournesol oléique : expression et transformations chimiques des triglycérides de graines en esters lubrifiants et adjuvants en réacteur conventionnel et réacteur bi-vis. *Thèse de Doctorat*, INP, Toulouse (1998).
- DUFAURE, C., LEYRIS, J., RIGAL, L., MOULOUNGUI, Z.**, A twin-screw extruder for oil extraction: I. Direct expression of oleic sunflower seeds. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **76 (9)**, 1073-1079 (1999a).
- DUFAURE, C., MOULOUNGUI, Z., RIGAL, L.**, A twin-screw extruder for oil extraction: II. Alcohol extraction of oleic sunflower seeds. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **76 (9)**, 1081-1086 (1999b).
- DZIEZAK, J. D.**, Single- and twin-screw extruders in food processing, *Food Technology*, pp. 164-174 (1989).
- EKANEM, J.**, Dongo-yaro. Does it work? *Nigerian Medical Journal*, **8**, 8-10 (1976).
- EKONG, D.E.U.**, Chemistry of the meliacins (limonoids). The structure of nimbolide, a new meliacin from *Azadirachta indica*. 1. *Chem Soc. Chem. Commun./fl.*, 808 (1967).
- EPPLER, A.**, Untersuchungen zum hemmenden Einfluß von Niem auf Virusinfektionen bei Pflanzen. I. Borke, Rinde und Blätter. *Med. Fac. Landbouww. Univ. Gent*, **58**, 1125-1134 (1993a)
- EPPLER, A.**, Untersuchungen zum hemmenden Einfluß von Niem auf Virusinfektionen bei Pflanzen. II. Samen. *Med. Fac. Landbouww. Univ. Gent*, **58**, 1135-1144 (1993b)
- ERMEL, K., PAHLICH, E., SCHMUTTERER, H.**, Comparison of the azadirachtine content of neem seed from ecotypes of Asian and African origin. Proc. 2<sup>nd</sup> Int. neem Conf. (Rauischholzhausen. Germany, 1983), pp. 91-93 (1984).
- ERMEL, K., PAHLICH, E., SCHMUTTERER, H.**, Azadirachtin content of kernel from different geographical location and its dependence on temperature, relative humidity and light. In SCHMUTTERER, H., ASCHER, K.R.S. [Eds.] (1987). *Natural Pesticides from the Neem Tree and Other Tropical Plants, Proc. 3rd Int. Neem Conf.* (Nairobi, Kenya, 1986) (1987).
- EVON, P.**, Nouveau procédé de bioraffinage du tournesol plante entière par fractionnement thermo-mécano-chimique en extrudeur bi-vis: étude de l'extraction aqueuse des lipides et de la mise en forme du raffinat en agromatériaux par thermomoulage *Thèse de Doctorat*, INP, Toulouse (2008).
- EVON, P., VANDENBOSSCHE, V., PONTALIER, P.Y., RIGAL, L.**, Direct extraction of oil from sunflower seeds by twin-screw extruder according to an aqueous extraction process: Feasibility study and influence of operating conditions. *Industrial Crops and Products*, **26**, 351–359 (2007).
- EVON, P., VANDENBOSSCHE, V., PONTALIER, P.Y., RIGAL, L.**, Aqueous extraction of residual oil from sunflower press cake using a twin-screw extruder: Feasibility study. *Industrial crops and products*, **29**, 455–465 (2009)

- FEUERHAKE, K., SCHMUTTERER, H.**, Einfache Verfahren zur Gewinnung und Formilierung von Niesamenextrakten und deren Wirkung auf verschiedene Schadinsekten, *Z. Pflkrankh. PflSchutz*, **89**, 737-747 (1982)
- FISHWICK, R.W.**, Neem (*Azadirachta indica* A. Juss.) plantations in the Sudan zone of Nigeria. Report prepared for the Chief Conservator of Forests, northern Nigeria (undated).
- FORSTER, P., MOSER, G.**, Status report on global Neem usage. Ed. Eschborn (2000).
- FORTIN, D., LÔ, M., MAYMART, G.**, Plantes médicinales du Sahel. ENDA Editions. Dakar, (1997)
- FRANÇOIS, R.**, Les industries des corps gras, Technique et Documentation, Paris (1974).
- GALVIN, J.B.**, Toxicity data for commercial hexane and hexane isomers. *Technology and solvents for extracting oilseeds and nonpetroleum oils*, AOCS Press, 75-85 (1997).
- GAMBLE, J.S.**, A manual of Indian Timbers (Reprint, 1972) Bishen Singh Mohninderpal Singh, Dehradun, India, pp. 143 (1902).
- GARCIA, E.S., DE AZANIBUJA, P., FORSTER, H., REMBOLD, H.** Feeding and molt inhibition by azadirachtins A, B, and 7-acetylazadirachtin A in *Rhodnius prolixus* nymphs. *Z. Naturforsch.* **39c**, 1155-1158(1984).
- GENEAU, C., ROUILLY, A., SILVESTRE, F., RIGAL, L.**, Manufacturing process of injection-molded agromaterial from sunflower oil cake. *Proceedings of the 16th International Sunflower Conference*, Fargo, ND, USA, 799-804 (2004).
- GENEAU, C.**, Procédé d'élaboration d'agromatériau composite naturel par extrusion bi-vis et injectionmoulage de tourteau de tournesol. *Thèse de Doctorat*, INP, Toulouse (2006).
- GONZALES, M.S., GARCIA, E.S.**, Effect of azadirachtin on the development of *Trypanosoma cruzi* in different species of triatomine insect vectors: long-term and comparative studies. *J. Invertebr. Pathol.* **60**, 201-205 (1992).
- GOSSE, B., AMISSA, A.A., ADJE, F.N., NIAMKE, F.B.**, Analysis of components of neem (*Azadirachta indica*) oil by diverse chromatographic techniques. *Journal of Liquid Chromatography and Related Technologies*, **28**, 2225-2233 (2005)
- GOVINDACHARI, T.R.**, Chemical and biological investigations on *Azadirachta indica* (the neem tree). *Current Science*, **63**, 117-122 (1992).
- GOVINDACHARI, T.R., GOPALKRISHNA, G., RAGHUNATHAN, R., RAJAN, S.S.**, Crystallization of azadirachtin A. *Current Science*, **66**, 295-297 (1994).
- GOVINDACHARI, T.R., SANDHYA, G., GANESHRAJ, S.P.**, Simple method for isolation of azadirachtin by preparative high performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography*, **313**, 389-391 (1990).
- GOVINDACHARI, T.R., SANDHYA, G., GANESHRAJ, S.P.** Isolation of novel azadirachtin H and I by high performance liquid chromatography. *Chromatographia*, **341**, 303-304 (1991).
- GRUBER, J.K.**, Wachstum, Fruchtertrag und Azadirachtingehalt der Samen von *Azadirachta indica* A. Juss auf verschiedenen Standorten in Nicaragua. Doctor. Thesis, Techn. Univ. Of Berlin, Germany (1991).
- GUNSTONE, F.D., PADLEY, F.B.**, Lipids technologies and applications. Ed. MARCEL DEKKER, NEW YORK (1997)
- GUYOMARD, P.**, Étude de faisabilité d'un extrudeur bi-vis en pressage-extrusion de graines oléagineuses. *Thèse de Doctorat*, Université Technologique de Compiègne, Génie des Procédés Industriels (1994).

**Haidara, 1996**, Valorisation d'une huile végétale tropicale : l'huile de pourghère, *Mémoire Maîtrise* Université de Sherbrooke, Canada (1996).

**HARRIS, M., HENDERSON, R., McCRINDLE, R., OVERTON, KR., TURNER, D.W.**, Tetranortriterpenoids - VIII. The constituents and stereochemistry of nimbin. *Tetrahedron*, **24**, 1517-1523 (1968).

**HEGDE, N.G.**, Neem production and development-constraints at grass root level. *World neem Conference*, Bangalore, India. pp. 1-5 (1993).

**HENDERSON, R., McCRINDLE, R., MELERA, A., OVERTON, K.H.**, Tetranortriterpenoids IX. The constitution and stereochemistry of salannin. *Tetrahedron* **24**, 1525-1528 (1968).

**HRON, R.J., KOLTIN, S.P., GRACI, A.V.**, Biorenewable solvents for vegetable oil extraction. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **59**, 674 (1982).

**HUMBERT, J.**, Etude, élaboration et production d'agrocomposite à partir de tourteau de tournesol : Etude du procédé d'extrusion-formulation-granulation et d'injection moulage *Thèse de Doctorat*, INP, Toulouse (2008).

**ISHIDA, M., SERIT, M., NAKATA, K., JUNEJA, L.R., KIM, M., TAKAHASHI, S.**, Several antifeedants from neem oil, *Azadirachta indica* A Juss., against *Reticulitermes speratus* Kolbe (Isoptera: Rhinotermitidae). *Biosci. Biotech. Biochem.* **56**, 1835-1838 (1992).

**ISMAN, M.B., KOUL, O., LUCZYNSKI, A., KAMINSKI, J.**, Insecticidal and antifeedant bioactivities of neem oils and their relationship to azadirachtin content. *J. Agric. Food Chem.* **38**, 1406-1411 (1990).

**ISOBE, S., ZUBER, F., UEMURA, K., NOGUCHI, A.**, A new twin-screw press design for oil extraction of dehulled sunflower seed. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **69** (9), 884-889 (1992).

**JARVIS, A.P., MORGAN, E.D., EDWARDS C.**, Rapid separation of triterpenoids from neem seed extracts. *Phytochem. Anal.* **10**, 39-43 (1999).

**JARVIS, A.P., JOHNSON, S., MORGAN, E.D.**, Stability of the Natural Insecticide Azadirachtin in Aqueous and Organic Solvents. *Pestic. Sci.*, **53**, 217-222 (1998)

**JANSSEN, L.P.B.M.**, Twin screw extrusion. Amsterdam-Oxford-New York Elsevier scientific publishing company, 172 p, (1978)

**JENNIFER, A.M.L., NISBET, A.J.**, Azadirachtin from the Neem Tree *Azadirachta indica* : its Action Against Insects. *An. Soc. Entomol.* **29**, 615-632 (2000).

**JOHNSON, S., MORGAN, E.D.**, Comparison of chromatographic systems for triterpenoids from Neem (*Azadirachta indica*) seeds. *Journal of Chromatography A*, **761**, 53-63 (1997).

**JOHNSON, S., MORGAN, E.D., PEIRIS, C.N.**, Development of the Major Triterpenoids and Oil in the Fruit and Seeds of Neem (*Azadirachta indica*) *Annals of Botany*, **78**, 383-388 (1996).

**JOHNSON, L.A., LUSAS, E.W.**, Comparison of alternative solvents for oils extraction. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **60** (2), 229-242 (1983).

**JORDA, J.**, Étude du procédé d'extraction alcaline et de purification de pectines de pulpe de betterave : étude des propriétés chimiques et physico-chimiques. *Thèse de Doctorat*, INP, Toulouse (2003).

**JUNFENG, Q., HAIXIAN, S., ZHI, Y.**, Preparation of biodiesel from *Jatropha curcas* L. oil produced by two-phase solvent extraction. *Bioresource Technology*, **101**, 7025-7031 (2010).

**KARLESKIND, A.**, Le Manuel des Corps Gras. *Éditions Techniques*, Documentation, Lavoisier, Paris (1992).

**KAUSHIK, N.**, Determination of azadirachtin and fatty acid methyl esters of *azadirachta Indica* seeds by HPLC and GLC. *J. Anal. Bioanal Chem.*, **374**, 1199-1204 (2002).



**KAUSHIK, N., VIR, S.,** Variations in fatty acid composition of neem seeds collected from the Rajasthan state of India. *Biochemical Society Transactions*, **28**, part 6 (2000).

**KAURA, S.K., GUPTA, S.K., CHOWDHURY, J.B.,** Morphological and oil content variation in seeds of *Azadirachta indica* A. Juss. (Neem) from northern and western provenances of India *Plant Foods for Human Nutrition*, **52**, 293–298 (1998).

**KETKAR, C.M.,** Utilisation of neem (*Azadirachta indica* Juss)  $\delta$  Its By-products. Khadi  $\delta$  Village Industries Commission, Bombay, India. (1976).

**KETKAR, C.M., KETKAR, M.S.,** Azadirachtin content of neem and its by products from different parts of India. (abstr.) Proc. (World Neem conf. Bangalore, India, 1993) (1993).

**KLENK, A.,** Isolierung und Strukturaufklärung von biologisch aktiven Tetranortriterpenoiden aus *Azadirachta indica* A. Juss (Meliaceae). Ein neuer Strukturvorschlag für Azadirachtin. *Doctor. thesis*, Univ. of Hohenheim, Germany (1985).

**KLENK, A., BOKEL, M., KRAUS, W.,** 3-Tigloylazadirachtol, an insect growth regulating constituent of *Azadirachta indica*. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, **523-524** (1986).

**KLEIN KOCH, C.,** El “árbol” de la india (*Azadirachta indica*) y su utilización potencial en el Ecuador, con especial referencia a las propiedades plaguicidas de sus extractos. *Sanidad vegetal* **1**, 4-16 (1986).

**KLINGELE, M.,** Untersuchungen zur fralß- und entwicklungsstörenden Aktivität von Meliaceen-Inhaltsstoffen: Entwicklung und Anwendung eines Testverfahrens für den ägyptischen Baumwollwurm *Spodoptera littoralis*. *Doctor. thesis*, Univ. of Hohenheim, Germany (1985).

**KOUL, O., ISMAN, M.B., KETKAR, C.M.,** Properties and uses of neem, *Azadirachta indica*. *Can J. Bot.* **68**, 1-11(1990).

**KPROVIESI, D.S.S., ACCROMBESSI, G.C., KOSSOUOH, C., SOUMANOU, M.M., MOUDACHIROU, M.,** Propriétés physico-chimiques et composition de l’huile non conventionnelle de pourghère (*Jatropha curcas*) de différentes régions du Bénin *C. R. Chimie* **7**, 1007–1012 (2004).

**KRAUS, W.,** Biologically active compounds from meliaceae. *Proced. 2<sup>nd</sup> Inter. Conf. Chem. Biochem. of Active Nature Compounds*, Budapest, Hungary, pp. 331-345 (1983).

**KRAUS, W.,** Biologically active compounds from meliaceae. *Stud. Org. Chem.* **17**, 331-345 (1984)

**KRAUS, W.,** The Neem Tree: Source of Unique Natural Products for Integrated Pest Management, Medicine, Industry and Other Purposes (ed. Schmutterer, H.), pp 35–88 (1995).

**KRAUS, W., BOKEL, M., CRAMER, R., KLENK, A., PÖHNL, H.,** Constituents of neem and related species. A revised structure of azadirachtine. *Triird Int. Conf. On chemistry and Biotechnology of Biologically Active Natural Products* (Sofia, Bulgaria, 1985), Abstr. p. 446-450 (1985a).

**KRAUS, W., BOKEL, M., KLENK, A., PÖHNL, H.,** The structure of azadirachtin and 22,23-dihydro-23 $\beta$ -methoxyazadirachtin. *Tetrahedron Lett.* **26**, 6435-6438 (1985b).

**KRAUS, W.,** Constituents of neem and related species. A revised structure of azadirachtin. *Stud. Org. Chem.* **26**, 237-256 (1986).

**KRAUS, W., BOKEL, M., SCHWINGER, M., VOGLER, B., SOELLNER, R., WENDISCH, D., STEFFENS, R., WACHENDORFF, U.** The chemistry of azadirachtin and other insecticidal constituents of Meliaceae. In VAN BEEK, T., BRETELER, H. [Eds.] *Phytochemistry and Agriculture*. Oxford University Press, pp. 18-39 (1993a).

**KRAUS, W., BAUMANN, S., BOKEL, M., BRUHN, A., CRAMER, R., EHAMMER, B., GUTZEIT, H., HERR, B., KAUFMANN-HORLACHER, L., KELLER, U., KLINGELE, M., SCHWINGER, M., THIELE, S., VOGLER, B., ZHOU, Y., SOELLNER, R., WENDISCH, D., STEFFENS, R.,**

**WACHENDORFF, U.**, Constituents of neem and other Meliaceae species in pest control. In AHMED, S. [Ed.] *Neem (Azadirachta indica) for pest control and rural development in Asia and the Pacific. 1 7th Pacific Science Congress* (Honolulu, HI, 1991), in press (1991).

**KRAUS, W., BAUMANN, S., BOKEL, M., CRAMER, R., GRIMMINGER, W., HENDLMEIER, R., KEIL, E., KELLER, U., KLENK, A., KLINGELE, M., POHNL, H., SCHWINGER, M.** Insect feeding and development controlling constituents of Meliaceae. *Proc. 1st Princess Chulabhorn Sci. Congr. Int. Congr. on Nat. Products* (Bangkok, Thailand), **2**, 554-563 (1987a).

**KRAUS, W., BAUMANN, S., BOKEL, M., KELLER, u., KLENK, A., KLINGELE, M., POHNL, H., SCHWINGER, M.**, Control of insect feeding and development by constituents of *Melia azedarach* and *Azadirachta indica*. In SCHMUTTERER, H., ASCHER, K.R.S. [Eds.] *Natural Pesticides from the Neem Tree and Other Tropical Plants. Proc. 3rd Int. Neem Conf.* (Nairobi, Kenya, 1986), pp. 149-160 (1987b).

**KRAUS, W., BOKEL, M.**, Neue Tetranortriterpenoide aus *Melia azedarach* Linn. (Meliaceae). *Chem. Ber.* **114**, 267-275 (1981).

**KRAUS, W., BOKEL, M., BRUHN, A., CRAMER, R., KLAIBER, I., KLENK, A., NAGL, G., PÖHNL, H., SADLO, H., VOGLER, B.**, Structure determination by NMR of azadirachtin and related compounds from *Azadirachta indica* A. Juss (Meliaceae). *Tetrahedron*, **43**, 2817-2830 (1987c).

**KRITCHEVSKY, D., SHIRLEY, C.C.**, Phytosterols health benefits and potential concerns: a review. *Nutrition Research*, **25**, 413-428 (2005).

**KUBO, L., KLOCKE, J.A.**, Azadirachtin, insect ecdysis inhibitor. *Agric. Biol. Chem.* **46**, 1951-1953 (1982).

**KUBO, L., MATSUMOTO, A., MATSUMOTO, T., KLOCKE, J.A.**, New insect ecdysis inhibitory limonoid deacetylazadirachtinol isolated from *Azadirachta indica* (Meliaceae) oil. *Tetrahedron* **42**, 489-496 (1986).

**KUMAR, A.R.V., JAYADEVI, H.C., ASHOKA, H.J., CHANDRASHEKARA, K.**, Azadirachtin use efficiency in commercial neem formulations. *J. Current science* **84** (11) 1459-1464 (2003).

**KUMAR, J., PAMAR, B.S.**, *J Agric Food Chem*, **44**, 2137 (1996)

**LACAZE-DUFAURE, C., MOULOINGUI, Z., LEYRIS, J., RIGAL, L., GASET, A., SILVESTRE, F.**, Procédé et dispositif pour la fabrication d'ester d'acides gras à partir de graines oléagineuses. *Brevet Français FR 2 747 128* (1996).

**LACAZE-DUFAURE, C.**, Fractionnement du tournesol oléique : expression et transformations chimiques des triglycérides de graines en esters lubrifiants et adjuvants en réacteur conventionnel et réacteur bi-vis. *Thèse de Doctorat*, INP, Toulouse (1998).

**LANOISELLE, J.L.**, Contribution à l'étude du pressage hydraulique des graines oléoprotéagineuses : Mécanisme de pressage et modélisation, *Thèse de doctorat*, Université Paris XII Val-de-Marne (1994).

**LAVIE, D., JAIN, M.K.**, Tetranortriterpenoids from *Mefia azadirachta* L. 1. *Chem. Soc., Chem. Commun.*, 278-280 (1967).

**LAVIE, D., LEVY, E.C.**, Meliane-meliacin relationship. *Tetrahedron* **27**, 3941-3947 (1971).

**LAVIE, D., LEVY, E.C.**, Oxidative reactions of biogenetic interest. *Tetrahedron Lett.*, 1315-1316 (1970).

**LAVIE, D., LEVY, E.C., JAIN, M.K.**, Limonoids of biogenetic interest from *Melia azadirachta* L. *Tetrahedron*, **27**, 3927-3939 (1971).

**LEE, S.M., KLOCKE, J.A., BARNEY, M.A., YAMASAKI, R.B., BALADRIN, M.T.**, Insecticidal constituents of *Azadirachta indica* and *Melia azedarach* (Meliaceae). In HEDIN, P.A. [Ed.] *Naturally Occurring Pest Bioregulators*. ACS Symposium Series No. 449, American Chemical Society, Washington, DC, pp. 293-304 (1991).

- LEE, S.M., OLSEN, J.I., SCHWEIZER, M.P., KLOCKE, J.A.,** 7-Deacetyl-17 $\beta$ -hydroxyazadiradione, a new limonoid insect growth inhibitor from *Azadirachta indica*. *Phytochemistry*, **27**, 2773-2775 (1988).
- LEWIS, W.H., ELVIN-LEWIS, M.P.F.,** Neem (*Azadirachta Indica*) cultivated in Haiti. *Econ. Bot.* **37**, 69-70 (1983).
- LEY, S.V., DENHOLM, A.A., WOOD, A.,** The chemistry of azadirachtin. *Nat. Prod. Rep.* **10**, 109-157, and references cited therein (1993).
- LI, T.S.C., BEVERIDGE, T.H.J., DROVER, J.C.G.,** Phytosterol content of sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) seed oil: extraction and identification. *Food Chemistry*, **101**, 1633-1639 (2007).
- LING, W.H., JONES, P.J.,** *Life Sci.* **57**:195-206 (1995).
- LUTJOHANN, D., BJORKHEM, I., BEIL, U.F., VON BERGMANN, K.,** Sterol absorption and sterol balance in phytosterolemia evaluated by deuterium-labeled sterols: effect of sitostanol treatment. *J. Lipid Res.* **36**, 1763-1773 (1995).
- LUSCOMBE, D.K., TAHA, S.A.,** Pharmacological studies on the leaves of *Azadirachta indica*. *Journal of the Pharmacy and Pharmacology*, **26**, Suppl., 111p (1974).
- MAGRO, C., RIGAL, L., GASET, A.,** Method for fractionating cereal straw, in particular wheat and barley. Patent WO/1998/031871 (1998).
- MARECHAL, P.,** Analyse des principaux facteurs impliqués dans le fractionnement combiné de pailles et de sons de blé en extrudeur bi-vis : obtention d'agromatériaux. *Thèse de Doctorat*, INP, Toulouse (2001).
- MARTELLI, F.G.,** Twin-screw extruders: a basic understanding. Vans Nostrand Reinhold Company, New York (1983).
- MARECHAL, V., RIGAL, L.,** Characterization of by-products of sunflower culture: commercial applications for stalks and heads. *Ind. Crops Prod.*, **10**, 185-200 (1999).
- MECHLING, É.,** Mise au point d'un réacteur multitâches adapté à la production des composés oléophiles à partir des milieux réactionnels issus des graines oléagineuses. *Thèse de Doctorat*, INP, Toulouse (2002).
- MEISNER, J., ASCHER, K.R.S., ALY, R., WARTHEN, J.D.Jr.,** Response of *Spodoptera littoralis* (Boisd.) and *Earias insulana* (Boisd.) larvae to azadirachtin and salannin. *Phytoparasitica*, **9**, 2732 (1981).
- MENDILAHARSU, M. STEFANI, E. D. DENEOPELLEGRINI, H. CARZOLIO, J., RONCO, A.,** Phytosterols and risk of lung cancer : a case-control study in Uruguay. *Lung Cancer*. **21**, 37-45 (1998).
- MENSIER, P.H.,** Dictionnaire des huiles végétales. Editions Paul Lechevalier, Paris, (1957)
- MOMCHILOVA, S., ANTONOVA, D., MAREKOV, I., KULEVA, L., NIKOLOVA-DAMYANOVA, B.,** Fatty acids, triacylglycerols, and sterols in neem oil (*Azadirachta Indica* A. Juss) as determined by a combination of chromatographic and spectral techniques. *Journal of Liquid Chromatography and Related Technologies*, **30**, 11-25, (2007)
- MOREAU, R.A., WHITAKER, B.D., HICKS, K.B.,** Phytosterols, phytostanols, and their conjugates in foods: structural diversity, quantitative analysis, and health-promoting uses. *Progress in Lipid Research*, **41**, 457-500 (2002).
- MORGAN, E.D., THORNTON, M.D.,** Azadirachtin in the fruit of *Melia azedarach*. *Phyto-chemistry*, **12**, 391-392 (1973).
- MORGAN, D.D., MANDAVA, N.B.,** Handbook of natural pesticides, Vol. III, Insect Growth Regulators, Part B., CRC Press Inc. Florida, USA (1987).

**MREMA, G.C., McNULTY, P.B.**, Rapport interne, Departement of Agricultural and Food Engineering, National University of Ireland, Dublin, dans Lanoisellé, J.L., 1994, Contribution à l'étude du pressage hydraulique des graines oléoprotéagineuses : Mécanisme de pressage et modélisation, *Thèse de doctorat*, Université Paris XII Val-de-Marne (1986).

**MUKHERJI, B.**, Indigenous Indian drugs used in the treatment of diabetes. *Journal of scientific and Industrial Research*, **16A**, 1-18 (1957).

**MUNOZ-VALENZUELA, S., IBARRA-LOPEZ, A.A., RUBIA-SILVA, L.M., VADEZ-DAVILA, H., BORBOA-FLORES, J.**, Neem Tree Morphology and Oil Content. In new crops and new uses. Janick, J and Whipkey, A. (eds). ASHS Press, Alexandria, VA (2007).

**MURTHY, S.P., and SIRSI, M.**, Pharmacology studies in *Melia azadirachta*. Part II. Estrogenic and antipyretic activity of neem oil and its fractions. *Indian Journal of Physiology and Pharmacology*, **2**, 456 (1958a).

**NARAYANAN, C.R., IYER, K.N.**, Isolation & characterisation of deacetylnimbin. *Indian J. Chem.* **5**, 460 (1967a).

**NARAYANAN, C.R., PACHAPURKAR, R.V., PRADHAN, S.K., SHAH, Y.R., NARASIMHAN, N.S.**, Structure of nimbin. *Indian J. Chem.* **2**, 108-113 (1964).

**NATIONAL RESEARCH COUNCIL**, Neem: a tree for solving global problems. National Academy Press, Washington, D.C. (1992).

**NENONENE, A.Y.**, Elaboration et caractérisation mécanique de panneaux de particules de tiges de Kénaf et de bioadhésifs à base de colle d'os, de tannin ou mucilage. *Thèse de Doctorat*, INP, Toulouse (2009)

**N'DIAYE, S.**, Fractionnement de la matière végétale : mise au point d'un procédé thermo-mécanochimique et modélisation du fonctionnement du réacteur bi-vis. *Thèse de Doctorat*, INP, Toulouse (1996).

**N'DIAYE, S., RIGAL, L., LAROCQUE, P., VIDAL, P.F.**, Extraction of hemicelluloses from poplar, *Populus tremuloides*, using an extruder-type twin-screw reactor: A feasibility study, *Bioresource Technology*, **57**, 61-67 (1996).

**N'DIAYE, S., RIGAL, L.**, Factors influencing the alkaline extraction of poplar hemicelluloses in a twin screw reactor: correlation with specific mechanical energy and residence time distribution of the liquid phase. *Bioresour. Technol.*, **75**, 13-18 (2000).

**NDIAYE, O.B.K.**, Valorisation de l'huile de neem par extraction de l'acide stéarique, de la glycérine et production de savon, *Mémoire d'Ingénieur*, Dakar (2002).

**OLKKU, J.**, Extrusion processing: a study in basic phenomena and application of system analysis. In Developments in food preservation. Eds. S THORNE. Applied science publishers-London (1981).

**OO, L.T.**, Neem tree research (Terminal report). Burmese-German Plant Protection and Rodent Control project, Rangoon. Tana Press, Bangkok, Thailand (1989).

**ORR, E.**, The production of proteins concentrates from oil-seeds. Eds. Tropical Products Institute, Londres, (1971).

**OSBORNE, T.B.**, The vegetable proteins. 2<sup>nd</sup> Ed., Ed. Longmans, Green and Co, London, 56-67 (1984).

**PACHAPURKAR, R.V., KORNULE, P.M., NARAYANAN, C.R.**, A new hexacyclic tetranortriterpenoid. *Chem. Lett.* **4**, 357-358 (1974).

**PAILLAI, N.R.**, Anti-gastric ulcer activity of nimbidin. *Indian Journal of Medical Research*, **68**, 169-175 (1978).

**PARMAR, B.S., KETKAR, C.M.**, Commercialization. In *Neem Research and Development*; Randhawa, N. S., Parmar, B. S., Eds.; Publication 3; Society of Pesticide Science: New Delhi, 270-283 (1993).

- PASCUAL, N., MARCO, M.P., BELLÉS, X.**, Azadirachtin induced imaginal moult deficiencies in *Tenebrio molitor* L. (Coleoptera: Tenebrionidae). *J. Stored Prod. Res.* **26**, 53-57 (1990).
- PELISSIER, P., LACLAVERE, G.**, Atlas du Sénégal. Editions Jeune Afrique, Paris, 1983, 72 P. ISBN : 2-85258-288-0
- PETTIT, G.R., BARTON, D.H.R., HERALD, C.L., POLONSKY, I., SCHMIDT, J.M., CONNOLL Y, J.D.** Evaluation of limonoids against the murine P388 lymphocytic leukemia cell line. 1. *Nat. Prod.* **46**, 379-390 (1983)
- PERRIN, R., SCHARFF, J.P.**, Chimie Industrielle, 2eme édition ; Dunod, Paris (1999).
- PEYRAT, E.**, Nouveau composite biodégradable obtenu à partir de maïs plante entière : étude du procédé de transformation thermo-mécano-chimique en extrudeur bi-vis et de la mise en forme par injection-moulage. *Thèse de Doctorat*, INP, Toulouse (2000).
- PHILLIPS, K.M., RUGGIO, D.M., ASHRAF-KHORASSANI, M.**, "Phytosterol composition of nuts and seeds commonly consumed in the United States". *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **53**, 9436-9445 (2005).
- PILLAI, N.R., SANTHA KUMARI, G.**, Effect of nimbidin on acute and chronic gastro-duodenal ulcer models in experimental animals. *Planta Medica*, **50**, 143-146 (1984).
- PILLAI, N.R., SUGANTHAN, D. and SANTHAKUMARI, G.**, Analgesic and antipyretic action nimbidin. *Bulletin Medico Ethnobotanical Research*, **1**, 393-400 (1980).
- PÖHNL, H.**, Neue verbindungen der Azadirachtin-Reihe und andere biologisch active tetranor-triterpenoide aus *Melia azedarach* L. Isolierung und Strukturaufklärung. Doctor. *Thesis, Univ. of Hohenheim, Germany* (1985).
- PRAT, L.**, Modélisation d'un réacteur thermo-mécano-chimique bi-vis utilisé en fractionnement de la matière végétale. *Thèse de Doctorat*, INP, Toulouse (1998).
- PRAT, L., GUIRAUD, P., RIGAL, L., GOURDON, C.**, Solid-liquid reactive extraction with raw plant substrate. *Proceedings of the 2nd European Congress of Chemical Engineering (ECCE2)*, Montpellier, France (1999)
- PRAT, L., GUIRAUD, P., RIGAL, L., GOURDON, C.**, A one dimensional model for the prediction of extraction yields in a two phases modified twin-screw extruder. *Chem. Eng. Process.*, **41**, 743-751 (2002).
- PURI, H.S.**, Neem the divine tree, *Azadiracta indica*. 1079 LH Amsterdam (1999).
- RADWANSKI, S.A.**, Neem tree. *World crops* **29**, 22-66, 111-113, 167-168, 222-224 (1977).
- RAI, A., SETHI, M.S.**, Screening of some plants for their activity against vaccinia and fowl pox viruses. *Indian Journal of Animal Science*, **42**, 1066-1070 (1972).
- RAJAB, M.S., BENTLEY, M.D., ALFORD, A.R., MENDEL, M.L.**, A new limonoid insect antifeedant from the fruit of *Melia volkensii*. *J. Nat. Prod.* **51**, 168-171 (1988).
- RANGASWAMY, S., PARMAR, B.S.**, Azadirachtin content at different states of flowering and fruiting in neem. *Pesticide research Journal*, **6**, 193-194 (1994).
- RAO, P.**, Chemistry, biological activity and utilization aspects of some promising neem extractives. In: Eschborn (ed), Natural Pesticides from Neem Tree (*Azadirachta indica* A. Juss.) and other Tropical Plants, 3rd Int. Neem Conf. Nairobi, Kenya, 10-15 July, 1986, pp. 127-148 (1987).
- RAO, A.R., KUMAR, S.S., PARAMASIVAM, T.B., KAMALKASHI, S., PARASHURAM, A.R.**, Study of antiviral activities of tender leaves of margosa tree (*Melia Azadirachta*) on vaccinia and variola viruses- a preliminary report. *Indian Journal of Medical Research*, **57**, 495-502 (1969).

- REED, D.K., JACOBSON, M., WARTHEN, J.D., Jr., UEBEL, E.C., TROMLEY, N.J., JURD, L., FREEDMAN, B.** Cucumber beetle antifeedants: Laboratory screening of natural products. *USDA, SEA Tech. Bull.* No. 1641, 1 (1981).
- REMBOLDT, H.**, Isomeric azadirachtin and their mode of action. In M JACOBSON (ed.) *Focus on Phytochemical pesticides*, Vol. I, *The Neem Tree*, CRC press Inc., Florida, USA, pp. 47-67 (1989a).
- REMBOLDT, H.**, Azadirachtins, their structure and mode of action. In ARNASON, J.T., PHILOGÈNE, B.J.R., MORAND, P. [Eds.] *Insecticides of Plant Origin*. ACS Symp. Ser. 387, American Chemical Society, Washington, DC, pp. 150-163 (1989b).
- REMBOLDT, H., FORSTER, H., CZOPPELT, CH.**, Structure and biological activity of azadirachtins A and B. In Schemuttterer H, Ascher K R S (eds.) *Natural pesticides from the neem tree and others tropical plants, Proc. 3<sup>rd</sup> Int. Neem Conf.* (Nairobi, Kenya, 1986) 149-160 (1987a).
- REMBOLDT, H., FORSTER, H., SONNENBICHLER, J., KLENK, A.**, Structure of azadirachtine B. *Zeitschrift für Naturforschung, C-Biosciences*, **42**, 4-6 (1987b).
- RENGASAMY, N., KAUSHIK N., KUMAR, J., KOUL, O., PARMAR, B.** In: Singh RP (ed) World Neem Conf. Oxford and IBHCO, New Delhi, p 207 (1993).
- RIGAL, L., IOUALALEN, R., GASET, A.**, Procédé pour obtenir un extrait de son désamylacé, un raffinat et un matériau obtenu à partir de ce procédé, WO 98 317 13 (1998).
- RIGAL, L., PEYRAT, E., PLUQUET, V., GASET, A.**, Matériau à base de matière issue de plantes céréalières et procédé d'obtention. *Brevet Européen EP 0,989,228* (1999).
- ROCHANAKIJ, S., THEBT ARANONTH, Y., YENJAI, C.**, Nimbolide, a constituent of *Azadirachta indica*, inhibits *Plasmodium falciparum* in culture. *Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health* **16**, 66-72 (1985).
- ROJANAPO, W., SUWANNO, S., SOMJAREE, R., GLINSUKON, T., THIEBTARANONTH, Y.**, Mutagenic and antibacterial activity testing in nimbolide and nimbic acid. *J. Sci. Soc. Thailand*, **11**, 177-181 (1985).
- RONCO, A., STEFANI, E.D., BOFFETTA, P., DENEOPELLEGRINI, H., MENDILAHARSU, M., LEBORGNE, F.**, Vegetables, fruits and related nutrients and risk of breast cancer : a case control study in Uruguay. *Nutr. Cancer*, **35**, 111-119 (1999).
- ROUILLY, A.**, Nouveaux agromatériaux composites à matrice protéique et polysaccharidique : étude du fractionnement, de la transformation et de la mise en forme par extrusion et par injection-moulage de la pulpe de betterave et du tourteau de tournesol. *Thèse de Doctorat*, INP, Toulouse (2002).
- ROUILLY, A., SILVERTRE, F., RIGAL, L., CARUEL, H., PAUX, E., SILVESTRE, J., MORARD, P.**, Utilisation de tourteau de tournesol pour la fabrication de pots de repiquage biodégradables. *Proceedings of the 15<sup>th</sup> International Sunflower Conference*, Toulouse, France, 58-63 (2000).
- ROUILLY, A., PEYRAT, E., ORLIAC, J., JORDA, J., SILVESTRE, F., RIGAL, L.**, New agro-materials from raw agricultural by-products, Proceeding of 2<sup>nd</sup> World Conference on Biomass for Energy, Industry and Climate Protection, Rome, Italy (2004).
- RUSCOE, C.N.E.**, Growth disruption effects of an insect antifeedant. *Nature New Biol*, **236**, 159-160 (1972).
- SAXENA R.C., JILANI, G., KAREEM, A.A.**, Effect of the neem on stored grain insects. In JACOBSON, M., (Ed.) *Focus on phytochemical*. Vol I, *The neem tree*. Pp. 1-18. CRC Press, Boca Raton, FL. pesticides Ed. 1988 (1989).
- SANYAL, M., DATTA, P.C.**, Nimbin biosynthesis and the age of cultured callus from neem bark. *Indian Drugs*, **19**, 61-63 (1981).

**SANYAL, M., TIKADAR, S., DATTA, P.C.,** Nimbin and sitosterol in cotyledon and cultured tissues of *Azadirachta indica*. *Indian Drugs*, **20**, 479-481 (1983).

**SCHMUTTERER, R., ASCHER, K.R.S., REMBOLD, H.** [Eds.] *Natural Pesticides from the Neem Tree. Proc. 1st Int. Neem Conf.* (Rottach-Egern, Germany, 1980) (1981).

**SCHMUTTERER, R., ASCHER, K.R.S.,** [Eds.] *Natural Pesticides from the Neem Tree and Other Tropical Plants. Proc. 2nd Int. Neem Conf.* (Rauischholzhausen, Germany, 1983) (1984).

**SCHMUTTERER, H., ASCHER, K.R.S.,** [Eds.] (1987). *Natural Pesticides from the Neem Tree and Other Tropical Plants, Proc. 3rd Int. Neem Conf.* (Nairobi, Kenya, 1986).

**SCHMUTTERER, H.,** (eds.), *The Neem Tree, Azadirachta indica A. Juss and other Meliaceae Plants*. VCH: Weinheim (1995).

**SCHNEIDER, B.H., ERMEL, K.,** Quantitative determination of azadirachtin from neem seeds using high liquid performance chromatography. In **SCHMUTTERER, H., ASCHER, K.R.S.** [Eds.] (1987). *Natural Pesticides from the Neem Tree and Other Tropical Plants, Proc. 3rd Int. Neem Conf.* (Nairobi, Kenya, 1986). (1987).

**SCHROEDER, D.R., NAKANISHI, K.,** A simplified isolation procedure for azadirachtin. *Journal of Natural products*, **50**, 241-244 (1987).

**SCHWINGER, M.** Über die fraßabschreckende Wirkung von Meliaceen-Inhaltsstoffen auf *Epilachna varivestis* (Muls.) und andere Insekten: Methoden - Versuchstechniken - Ergebnisse. *Doctor. thesis*, Univ. of Hohenheim, Germany (1985).

**SCHWINGER, M., EHAMMER, B., KRAUS, W.,** Methodology of the *Epilachna varivestis* bioassay of antifeedants demonstrated with some compounds from *Azadirachta indica* and *Melia azedarach*. In **SCHMUTTERER, R., ASCHER, K.R.S.** [Eds.] *Natural Pesticides from the Neem Tree and Other Tropical Plants. Proc. 2nd Int. Neem Conf.* (Rauischholzhausen, Germany, 1983), pp. 181-198 (1984).

**SHARMA, V.N., and SAKSENA, K.P.,** Spermicidal action of the sodium nimbin. *Indian Journal of Medical Research*, **47**, 322-334 (1959).

**SHARMA, V.N., and SAKSENA, K.P.,** Sodium nimbin: In vitro Study of its spermicidal action. *Indian Journal of Medical Science*, **13**, 10-38 (1959a).

**SHUKLA, R., SINGH, S., and BHANDARI, C.R.,** Preliminary clinic trials on antidiabetic action of *Azadirachta indica*, *Medicine and Surgery*, **13**, 11-12 (1973).

**SIDDHARTH, J., SHARMA, M.P.,** Biodiesel production from *Jatropha curcas* oil. *Renewable and sustainable Energy Reviews*, **14**, 3140-3147 (2010)

**SIDDIQUI, S.,** A note on the isolation of three new bitter principles from the neem oil. *Current Science*, **11**, 278-279 (1942).

**SIDDIQUI, S., FAIZI, S., SIDDIQUI, B.S.,** Studies on the chemical constituents of *Azadirachta indica* A. Juss (Meliaceae). *J. Naturforsch.* **42b**, 922-924 (1986d).

**SIDDIQUI, S., SIDDIQUI, B.S., FAIZI, S., MAHMOOD, T.,** Tetracyclic triterpenoids and their derivatives from *Azadirachta indica*. *J. Nat. Prod.*, **51**, 30-43 (1988).

**SIDDIQUI, S., SIDDIQUI, B.S., GHASUDDIN, FAIZI, S.,** Triterpenoids from kernel of *Azadirachta indica*. *Proc. Pak. Acad. Sci.* **27**, 333-348 (1990b).

**SIDDIQUI, S., SIDDIQUI, B.S., GHASUDDIN, FAIZI, S.,** New meliacin analogues from epoxyazadiradione. *Pak. J. Sci. Ind. Res.* **33**, 359-366 (1990a).

- SIDHU, O.P., KUMAR, V., BEHL, H.M.**, Variability in Neem (*Azadirachta indica*) with Respect to Azadirachtin Content *J. Agric. Food Chem.* **5**, 910-915 (2003).
- SIDHU, O.P., KUMAR, V., BEHL, H.M.**, Variability in triterpenoids (nimbin and salanin) composition of neem among different provenances of India *J. Industrial Crops and Products*, **19**, 69-75 (2004).
- SILVESTRE, F., RIGAL, L., LEYRIS, J., GASET, A.**, Colle à l'eau à base d'extrait protéique végétal et procédé de préparation. *Brevet Européen EP 0,997,513* (1999).
- SILVA, J.C.T., JHAM, G.N., OLIVIERA, R.L., BROWN, L.**, Purification of the seven tetranortriterpenoids in neem (*Azadirachta indica*) seed by counter-current chromatography sequentially followed by isocratic preparative reversed-phase high-performance liquid chromatography *Journal of Chromatography A* (2007)
- SINGH, M.S., FARSAIE, A., STEWART, L.E., DOUGLASS, L.W.**, Development of mathematical models to predict sunflower oil expression, *Transactions of the ASAE*, **28**, 1190-1194 (1984).
- SINGH, K.K., WIESENBERN, D.P., TOSTENSON, K., KANGAS, N.**, Influence of moisture content and cooking on screw pressing of crambe seed, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **79**, 165-170 (2002).
- SINHA, K.C., RIAR, B., JAYA, THOMAS, P., JAIN, A.K., and JAIN, R.K.**, Anti-Implantation effect of neem oil. *Indian Journal of Medical Research*, **80**, 708-710 (1984)
- SOSULSKI, F.W., IMAFIDON, G.I.**, Amino acid composition and nitrogen-to-protein conversion factors for animal and plant food. *J. Agric. Chem.*, **38**, 1351-1356 (1990)
- SRIVASTAVA, S.D.**, Limonoids from the seeds of *Melia azedarach*. *J. Nat. Prod.* **49**, 56-61 (1986).
- STAMBOULI, H., BOURI, A.E., BOUAYOUN, T., BELLIMAM, M.A.**, Seed oil characterization of *Cannabis sativa L.* cultivated in Northern Morocco. *Annales de Toxicologie Analytique.* **2**, 219-225 (2006)
- STAIBER, W.**, Effects of azadirachtin on Balbiani ring gene activities and development of *Acrivicotopus lucidus* (Diptera, Chironomidae). *Chromatin*, **1**, 185-194. (1992).
- STEFANI, E.D., BRENNAN, P., BOFFETTA, P., RONCO, A.L., MENDILAHRSU, M., DENEOPELLEGRINI, H.**, Vegetables, fruits, related dietary antioxidants, and risk of squamous cell carcinoma of the esophagus: a case-control study in Uruguay. *Nutr. Cancer*, **38**, 23-29 (2000a).
- STEFANI, E.D., BOFFETTA, P., RONCO, A., BRENNAN, P., DENEOPELLEGRINI, H., CARZOGLIO, J.C., MENDILAHRSU, M.**, Plant sterols and risk of stomach cancer: a case control study in Uruguay. *Nutr. Cancer*, **37** (2000b) 140-144.
- STUHLIK, M., ZAK, S.**, Vegetable lipids as components of functional foods. *Biomedical Papers* **146**, 3-10 (2002).
- THEBTARANONTH, Y.** Mutagenic and antibacterial activity testing in nimbolide and nimbic acid. *J. Sci. Soc. Thailand*, **11**, 177-181 (1985).
- THEJAVATHI, R., YAKUNDI, S.R., RAVINDRANATH, B.**, *J. Chromatographie A* 305-374 (1995)
- TELLA, A.**, Studies on *Azadirachta indica* in Malaria. *British Journal of Pharmacology*, **58**, 318. (1976).
- THIELE, S.**, Isolierung und Strukturaufklärung neuer Tetranortriterpenoide aus *Azadirachta indica* A. Juss (neem tree, Meliaceae) und Untersuchung der nematiziden Wirkung von NeemExtrakten. *Doctar. Thesis*, Univ. of Hohenheim, Germany (1991).
- TROUP, R.S.**, The Silviculture of Indian Forest Trees. Vol 1. Clarendon Press, Oxford, UK. (1921).



- VADKE, V.S., SOSULSKI, F.W.**, Mechanics of oil expression from canola, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **65**, 1169-1176 (1988).
- VAN ZUILICHEM, D.J., ALBLAS, B., REINDERS, P.M., STOLP, W.**, Comparative study of the operational characteristics of single and twin screw extruders. In: Thermal processing and quality of foods. Eds. ZEUTHEN, P., CHEFTEL, J.C., ERIKSON, C., JUL, M., LENIGER, H., LINKO, P., VARELA, G., VOS, G., Elsevier Applied Sci Publ., London, New York, 33-43 (1984)
- VANDEBOSSCHE-MARECHAL, V.**, Fractionnement des tiges et capitules de tournesol : hydrodistillation d'une huile essentielle odorante, extraction et modification chimique de pectines et mise en forme d'agromatériaux biodégradables. *Thèse de Doctorat*, INP, Toulouse (1998).
- VARTAK, V.D., GHATE, V.**, Ethnobotany of neem *Biol. Ind.*, **1**, 55-59 (1990).
- WARTHEN, J.D. Jr., UEBEL, E.C., DUTKY, S.R., LUSBY, W.R., FINEGOLD, H.**, Adult house fly feeding deterrent from neem seeds. *USDA, SEA, Agric. Res. Results, Northeast. Sel.* **2**, III (1978).
- WARTHEN, J.D. Jr., STOKES, J.B., JACOBSON, M., KOSEMPEL, M.F.**, Estimation of azadirachtin content of neem extract and formulations. *Journal of liquid Chromatography*, **7**, 591-598 (1984).
- WATT, J.**, Dictionary of Economic Plants of India. Superintendent, Government printing Press, India (1889).
- YAKKUNDI, S.R., TEJANATHI, R., RAVENDRANATH, B.**, Variation of azadirachtin content during growth and storage of neem *Azadirachta indica* seed. *Journal of Agrculture and Food Chemistry*, **43**, 2517-2519 (1995).
- YAMASAKI, R.B., KLOCKE, J.A.**, Structure bioactivity relationship of azadirachtin, a potential insect control agent. *J Agric Food Chem* , **35**, 467-471 (1987).
- YAMASAKI, R.B., LEE, S.M., STONE, G.A., DARLINGTON, M.V.**, Isolation and purification of azadirachtin from neem (*Azadirachta indica*) seed using flash chromatography and high performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography*, **365**, 220-226 (1986).
- ZHENG, Y., WIESENORN, D.P., TOSTENSON, K., KANGAS, N.**, Screw pressing of whole and dehulled flaxseed for organic oil, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **80**, 1039-1045 (2003).
- ZHENG, Y., WIESENORN, D.P., TOSTENSON, K., KANGAS, N.**, Energy analysis in the screw pressing of whole and dehulled flaxseed, *Journal of Food Engineering*, **66**, 193-202 (2005).

## LISTE DES TABLEAUX

Tableau I-1 : Quelques noms vernaculaires pour le neem (SCHMUTTERER, 1995 ; PURI, 1999 ; NATIONAL RESEARCH CONCIL, 1992).....	16
Tableau I-2 : Estimation du nombre d'arbres de neem dans le monde (FORSTER et MOSER, 2000).....	26
Tableau I-3 : Quelques composés de la famille des limonoïdes isolés à partir du neem.....	30
Tableau I-4 : Activités biologiques de quelques limonoïdes extraits du neem.....	33
Tableau I-5 : Méthodes de dosage de l'azadirachtine dans les formulations et les extraits de neem.....	36
Tableau I-6 : Teneur moyenne en azadirachtine des amandes de graines de neem des échantillons de 22 pays (ERMEL et al., 1984 ; 1987).....	37
Tableau I-7 : Teneur en azadirachtine A et B selon plusieurs zones géographique d'Inde.....	38
Tableau I-8 : Evolution de la fructification de six arbres de neem du village de Dambulla au Centre Nord du Sri Lanka (JOHNSON et al., 1996).....	39
Tableau I-9 : Quelques espèces (bactéries, champignons, insectes, protozoaires et nématodes) sensibles à l'action de l'azadirachtine).....	42
Tableau I-10 : Quelques formulations à base d'azadirachtine.....	45
Tableau I-11 : Quelques utilisations potentielles des différentes parties de l'arbre de neem.....	46
Tableau I-12 : Teneur en huile de la graine, de l'amande et du fruit selon différentes origines.....	48
Tableau I-13 : Répartition des acides gras majoritaires de l'huile de neem et de quelques autres huiles végétales (%).....	49
Tableau I-14 : Composition des phytostérols de l'huile de neem.....	50
Tableau I-15 : Caractéristique de tourteaux de neem (NJENONTIN, 2006).....	51
Tableau I-16 : Eléments minéraux dans les tourteaux d'extraction.....	51
Tableau I-17 : Mise en œuvre de l'extrudeur bi-vis pour l'expression des huiles végétales ...	59
Tableau I-18 : Mise en œuvre de l'extrudeur bi-vis pour l'extraction (liquide/solide) par solvant des huiles végétales.....	60
Tableau I-19 : Mise en œuvre de l'extrudeur bi-vis pour l'extraction aqueuse de l'huile de tournesol.....	61
Tableau II-1 : Caractéristiques générales des graines de neem des lot2007 et lot2008.....	68

Tableau II-2 : Répartition des principaux constituants de la graine, l'amande et la coque de neem pour les lot2007 et lot2008 .....	69
Tableau II-3 : Répartition dans l'amande et la coque des principaux constituants dans 100 g de graines de neem .....	70
Tableau II-4 : Rendements en huile obtenus par différents solvants d'extraction et composition en acides gras des huiles obtenues.....	72
Tableau II-5 : Composition en acides gras des fractions lipidiques contenues dans les graines des lot2007 et lot2008 .....	73
Tableau II- 6 : Distribution de la composition en acides gras des fractions lipidiques des différentes parties des graines du lot2008 .....	74
Tableau II-7 : Teneur en stérols totaux des huiles de neem des lot2007 et lot2008 et d'autres huiles végétales .....	75
Tableau II-8 : Teneur en stérols des huiles des graines des lot2007 et lot2008.....	75
Tableau II-9 : Composition en acides aminés des graines de neem.....	77
Tableau II-10 : Répartition des composés pariétaux (cellulose, hémicelluloses, lignines) des fibres de neem .....	78
Tableau II-11 : Caractéristiques climatiques et des sols des régions du Sénégal choisies pour l'étude de la variabilité des caractéristiques des graines de neem .....	81
Tableau II-12 : Teneur et distribution de l'huile dans les graines des différentes localités étudiées.....	83
Tableau II-13 : Variabilité de la composition en acides gras des huiles extraites des graines provenant des différentes zones géographiques .....	84
Tableau II-14 : Variabilité de la composition en stérols selon les différentes zones géographiques.....	85
Tableau II-15 : Variabilités des caractéristiques physico-chimiques des huiles de graines de neem .....	86
Tableau II-16 : Variabilité de la teneur en protéines des graines de neem .....	88
Tableau III-1 : Résultats expérimentaux obtenus pour l'expression de l'huile des graines de neem par la presse mono-vis OMEGA 20 .....	108
Tableau III-2 : Domaine expérimental pour l'étude de l'influence de la distance tête de vis-buse et du diamètre de buse sur le fractionnement des graines de neem par presse mono-vis OMEGA 20.....	110

Tableau III-3 : Matrice codée et variables explicites du plan d'expériences pour le fractionnement des graines de neem par presse mono-vis OMEGA 20 .....	111
Tableau III-4 : Composition en acides gras des huiles obtenues par expression des graines de neem en presse mono-vis OMEGA 20 dans les conditions du plan d'expérience.....	117
Tableau III-5 : Valeur moyenne et écart type de la composition en acides gras majoritaires des huiles d'expression en presse OMEGA 20 pour le plan d'expériences .....	119
Tableau III-6 : Teneur en azadirachtine des huiles obtenues après expression des graines de neem en presse mono-vis OMEGA 20.....	119
Tableau III-7 : Composition en acides gras des huiles résiduelles des tourteaux obtenus après expression des graines de neem en presse mono-vis OMEGA 20 pour quelques échantillons.....	122
Tableau III-8 : Teneur en Azadirachtine des tourteaux obtenus par expression des graines de neem en presse mono-vis OMEGA 20.....	124
Tableau III-9 : Résultats expérimentaux obtenus pour l'expression de l'huile des graines de neem en extrudeur bi-vis CLEXTRAL BC 21 .....	131
Tableau III-10 : Pourcentage des acides gras principaux des huiles obtenues par centrifugation après expression des graines de neem en extrudeur bi-vis CLEXTRAL BC 21.....	134
Tableau III-11 : Composition en acides gras des huiles résiduelles dans les tourteaux et dans les pieds pour le profil 3 (essais 24 à 26) .....	135
Tableau IV-1 : Bilan matière du fractionnement par extraction aqueuse des graines de neem : répartition des trois fractions massiques .....	145
Tableau IV-2 : Composition chimique de la phase émulsion obtenue après extraction aqueuse des graines de neem au mixeur Waring Blendor.....	146
Tableau IV-3 : Composition chimique de la phase aqueuse obtenue après extraction aqueuse des graines de neem au mixeur Waring Blendor.....	147
Tableau IV-4 : Composition chimique de la phase insoluble obtenue après extraction aqueuse des graines de neem au mixeur Waring Blendor.....	147
Tableau IV-5 : Bilan matière du fractionnement par extraction aqueuse des graines de neem à l'Emulsificateur Silverson L4RT : répartition des trois fractions massiques.....	149
Tableau IV-6 : Composition chimique de la phase émulsion obtenue après extraction aqueuse des graines de neem à l'Emulsificateur Silverson L4RT .....	149
Tableau IV-7 : Composition chimique de la phase aqueuse obtenue après extraction aqueuse des graines de neem à l'Emulsificateur Silverson L4RT .....	149

Tableau IV-8 : Composition chimique de la phase insoluble obtenue après extraction aqueuse des graines de neem à l'Emulsificateur Silverson L4RT .....	150
Tableau IV-9 : Composition en acides gras des huiles contenues dans les phases émulsions obtenues après extraction aqueuse au Mixeur Waring Blendor ou à l'Emulsificateur Silverson L4RT .....	152
Tableau IV-10 : Composition en acides gras des huiles contenues dans les phases insolubles obtenues après extraction aqueuse au Mixeur Waring Blendor et à l'Emulsificateur Silverson L4RT .....	153
Tableau IV-11 : Résultats expérimentaux obtenus pour l'extraction aqueuse des graines de neem en extrudeur bi-vis de type CLEXTRAL BC 21 .....	159
Tableau IV-12 : Composition en acides gras des huiles contenues dans les phases émulsions obtenues après extraction aqueuse des graines de neem en extrudeur bi-vis de type CLEXTRAL BC 21.....	161
Tableau IV-13 : Composition en acides gras des huiles obtenues après extraction au soxhlet des tourteaux issus de l'extraction aqueuse des graines de neem en extrudeur bi-vis de type CLEXTRAL BC 21 .....	161
Tableau IV-14 : Caractéristiques dimensionnelles des différents éléments de vis de l'extrudeur bi-vis CLEXTRAL BC 45.....	167
Tableau IV-15 : Résultats expérimentaux obtenus pour l'extraction aqueuse des graines de neem en extrudeur bi-vis de type CLEXTRAL BC 45 .....	169
Tableau IV-16 : Temps de séjour moyen du solide et du liquide en sortie d'extrudeur bi-vis BC 45 pour un débit de graines de 20 kg.h <sup>-1</sup> .....	179
Tableau IV-17 : Equations donnant la masse de solide sec dans les différents éléments de vis en fonction du temps de séjour moyen.....	182
Tableau IV-18 : Prédiction des temps de séjour moyens du solide et du liquide dans chacun des éléments de vis, pour l'essai 39 (exprimés en s).....	184
Tableau IV-19 : Temps de séjour moyen de la phase solide et de la phase liquide dans les trois zones de l'extrudeur (secondes) .....	186
Tableau IV-20 : Effet du rapport $(\tau_L \times Q_E) / (\tau_S \times Q_G)$ dans la zone d'extraction sur les rendements d'extraction en azadirachtine et en huile .....	192
Tableau V-1 : caractéristiques de la vis de la presse OMEGA 20 .....	220
Tableau V-2 : caractéristiques générales du moteur de la presse OMEGA 20 .....	220

## LISTE DES FIGURES

Figure I- 1 : Photographie du neem, de ses feuilles, fleurs et fruits.....	18
Figure I- 2 : Zones d'implantations et de cultures du neem ( <i>Azadirachta Indica A. Juss</i> ) (FORSTER et MOSER, 2000).....	24
Figure I- 3 : Formules de l'azadirachtine A et ses dérivés.....	35
Figure I- 4 : Développement de la teneur en azadirachtine au moment de la fructification de la graine en fonction du temps des arbres A à F.....	40
Figure I- 5 : Pourcentage de réponse positive sur l'utilisation de la graine, du fruit, des feuilles, du bois, de l'écorce et des racines de neem selon différentes zones géographiques.....	47
Figure I- 6 : Schéma du procédé d'extraction de l'azadirachtine de neem pour sa caractérisation analytique.....	52
Figure I- 7 : Schéma du procédé de production de l'azadirachtine et de l'huile de graines de neem.....	53
Figure I- 8 : Disposition des vis l'une par rapport à l'autre et leur sens de rotation.....	55
Figure I- 9 : Les vis les plus fréquemment utilisées dans les extrudeurs bi vis et leurs effets mécaniques associés.....	57
Figure I- 10 : Schéma du procédé d'extraction sélective de l'azadirachtine par solvant.....	63
Figure I- 11 : Schéma du procédé de fractionnement de la graine de neem par expression de l'huile.....	63
Figure II- 1 : Photos de fruits, graines, amandes et coques de neem sénégalais.....	68
Figure II-2 : Schéma de production industrielle d'huile brute à partir de graines oléoprotéagineuses par action combinée d'un pressage et d'une extraction (CAMPBELL, 1983 ; KARLESKIND, 1992 ; AMALIA KARTIKA, 2005, EVON, 2008).....	71
Figure II-3 : Structure commune à tous les acides aminés (R représente une chaîne latérale spécifique à chaque acide aminé).....	76
Figure II-4 : Premier bilan théorique du fractionnement de la graine de neem.....	79
Figure II-5 : Les différentes zones géographiques sélectionnées pour l'étude de la variabilité des caractéristiques des graines de neem au Sénégal.....	81

Figure II-6 : Répartition moyenne des coques et amandes des graines de neem provenant des cinq régions du Sénégal.....	83
Figure II-7 : Premier bilan théorique du fractionnement de la graine de neem selon les cinq zones géographiques étudiées .....	89
Figure II-8 : Schéma du procédé d'extraction et de purification de l'azadirachtine à partir des graines de neem.....	92
Figure II-9 : Rendements d'extraction en azadirachtine à partir de graines entières broyées dans l'eau, l'éthanol et le méthanol.....	93
Figure II-10 : Cinétiques d'extraction de l'azadirachtine des graines de neem par le méthanol et l'éthanol.....	94
Figure II-11 : Rendement d'extraction de l'azadirachtine des graines de neem en fonction du taux de solvant méthanol.....	95
Figure II-12 : Distribution de l'azadirachtine dans les différentes parties de la graine de neem .....	96
Figure III-1 : Schéma général d'une presse mono-vis .....	102
Figure III-2 : Presse mono-vis OMEGA 20 .....	103
Figure III-3 : Zones fonctionnelles de la presse mono-vis OMEGA 20 .....	104
Figure III-4 : Représentation schématique du procédé d'expression de l'huile des graines de neem en presse mono-vis OMEGA 20.....	106
Figure III-5 : Courbes d'isoreponse du rendement $R_G$ pour l'expression de l'huile de graines de neem en presse mono-vis OMEGA 20 .....	113
Figure III-6 : Courbes d'isoreponse du rendement $R_H$ pour l'expression de l'huile de graines de neem en presse mono-vis OMEGA 20.....	113
Figure III-7 : Rendement en huile $R_T$ en fonction du temps de séjour de la matière dans la zone de pression .....	114
Figure III-8 : Courbes d'isoreponse du taux de pied dans le filtrat $T_p$ pour l'expression de l'huile de graines de neem en presse mono-vis OMEGA 20 .....	115
Figure III-9 : Courbes d'isoreponse du rendement $R_T$ pour l'expression de l'huile de graines de neem en presse mono-vis OMEGA 20 .....	116
Figure III-10 : Rendement en azadirachtine (entraîné dans l'huile) en fonction du rendement en huile exprimée $R_T$ .....	120

Figure III-11 : Courbes d'isoréponse de l'huile résiduelle du tourteau $L_T$ pour l'expression de l'huile de graines de neem en presse mono-vis OMEGA 20 .....	121
Figure III-12 : Courbes d'isoréponse du rendement en matière minérale dans le tourteau $R_{MM}$ pour l'expression de l'huile de graines de neem en presse mono-vis OMEGA 20 .....	123
Figure III-13 : Courbes d'isoréponse du rendement en protéines dans le tourteau $R_P$ pour l'expression de l'huile de graines de neem en presse mono-vis OMEGA 20.....	123
Figure III-14 : Extrudeur bi-vis type CLEXTRAL BC 21 .....	125
Figure III-15 : Configuration de l'extrudeur bi-vis CLEXTRAL BC 21 pour le pressage de graines de neem.....	126
Figure III-16 : Profils de vis testés pour l'expression de l'huile des graines de neem en extrudeur bi-vis de type CLEXTRAL BC 21.....	129
Figure III-17 : Rendement en huile $R_H$ pour le pressage des graines de neem en extrudeur bi-vis avec les profils 1 (Essais 19 et 20) et 2 (Essais 21 à 23) .....	132
Figure III-18 : Rendement en huile $R_H$ pour le pressage des graines de neem en extrudeur bi-vis avec le profil 3 .....	133
Figure IV-1 : Schéma du procédé de fractionnement des graines de neem par extraction aqueuse.....	141
Figure IV-2 : Homogénéisateur à haute pression APV 1000.....	142
Figure IV-3 : Mixeur Waring Blendor .....	144
Figure IV-4 : Photos des phases émulsion et aqueuse produites par extraction aqueuse des graines de neem au Mixeur Waring Blendor.....	145
Figure IV-5 : Emulsificateur Silverson L4RT utilisé pour l'extraction aqueuse simultanée de l'azadirachtine et l'huile.....	148
Figure IV-6 : Schéma de principe de l'action rotor/stator de l'émulsificateur Silverson L4RT utilisé pour l'extraction aqueuse simultanée de l'azadirachtine et l'huile .....	148
Figure IV-7 : Vue microscopique de la phase émulsion issue du fractionnement des graines de neem ( $\times 1\ 000$ , objectif à immersion dans l'huile) .....	151
Figure IV-8 : Schéma simplifié de la configuration de l'extrudeur utilisé pour l'extraction aqueuse des graines de neem.....	155
Figure IV-9 : Profil de vis utilisé pour l'extraction aqueuse des graines de neem en extrudeur bi-vis de type CLEXTRAL BC 21 .....	156



Figure IV-10 : Rendement en azadirachtine extraite dans l'émulsion en fonction du rendement en huile extraite dans l'émulsion.....	162
Figure IV-11 : Evolution du rendement en huile et en azadirachtine extraits en fonction du débit d'alimentation en eau .....	163
Figure IV-12 : Evolution du rendement en huile et en azadirachtine extraits en fonction de la vitesse de rotation des vis.....	164
Figure IV-13 : Configuration et profil de vis pour le fractionnement aqueux des graines de neem en extrudeur bi-vis CLEXTRAL BC 45.....	165
Figure IV-14 : Evolution de l'humidité et de la masse de solide sec prélevée le long du réacteur pour l'Essai 37 ( $Q_G = 20 \text{ kg.h}^{-1}$ ; $Q_E = 20 \text{ kg.h}^{-1}$ ; $S_S = 50 \text{ rpm}$ ) .....	171
Figure IV-15 : Evolution de l'humidité et de la masse de solide sec prélevée le long du réacteur pour l'Essai 38 ( $Q_G = 20 \text{ kg.h}^{-1}$ ; $Q_E = 20 \text{ kg.h}^{-1}$ ; $S_S = 100 \text{ rpm}$ ) .....	171
Figure IV-16 : Evolution de l'humidité et de la masse de solide sec prélevée le long du réacteur pour l'Essai 39 ( $Q_G = 20 \text{ kg.h}^{-1}$ ; $Q_E = 40 \text{ kg.h}^{-1}$ ; $S_S = 100 \text{ rpm}$ ) .....	171
Figure IV-17 : Evolution de l'humidité et de la masse de solide sec prélevée le long du réacteur pour l'Essai 40 ( $Q_G = 20 \text{ kg.h}^{-1}$ ; $Q_E = 30 \text{ kg.h}^{-1}$ ; $S_S = 100 \text{ rpm}$ ) .....	172
Figure IV-18 : Evolution de l'humidité et de la masse de solide sec prélevée le long du réacteur pour l'Essai 41 ( $Q_G = 7 \text{ kg.h}^{-1}$ ; $Q_E = 10 \text{ kg.h}^{-1}$ ; $S_S = 100 \text{ rpm}$ ) .....	172
Figure IV-19 : Evolution de l'humidité et de la masse de solide sec prélevée le long du réacteur pour l'Essai 42 ( $Q_G = 7 \text{ kg.h}^{-1}$ ; $Q_E = 10 \text{ kg.h}^{-1}$ ; $S_S = 50 \text{ rpm}$ ) .....	172
Figure IV-20 : Evolution de l'humidité et de la masse de solide sec prélevée le long du réacteur pour l'Essai 43 ( $Q_G = 7 \text{ kg.h}^{-1}$ ; $Q_E = 12,5 \text{ kg.h}^{-1}$ ; $S_S = 100 \text{ rpm}$ ) .....	173
Figure IV-21 : Evolution de l'humidité et de la masse de solide sec prélevée le long du réacteur pour l'Essai 44 ( $Q_G = 7 \text{ kg.h}^{-1}$ ; $Q_E = 12,5 \text{ kg.h}^{-1}$ ; $S_S = 50 \text{ rpm}$ ) .....	173
Figure IV-22 : Distribution des DTS du solide et du liquide le long du réacteur pour l'Essai 37 ( $Q_G = 20 \text{ kg.h}^{-1}$ ; $Q_E = 20 \text{ kg.h}^{-1}$ ; $S_S = 50 \text{ rpm}$ ) .....	174
Figure IV-23 : Distribution des DTS du solide et du liquide le long du réacteur pour l'Essai 38 ( $Q_G = 20 \text{ kg.h}^{-1}$ ; $Q_E = 20 \text{ kg.h}^{-1}$ ; $S_S = 100 \text{ rpm}$ ) .....	174
Figure IV-24 : Distribution des DTS du solide et du liquide le long du réacteur pour l'Essai 39 ( $Q_G = 20 \text{ kg.h}^{-1}$ ; $Q_E = 40 \text{ kg.h}^{-1}$ ; $S_S = 100 \text{ rpm}$ ) .....	175

Figure IV-25 : Distribution des DTS du solide et du liquide le long du réacteur pour l'Essai 40 ( $Q_G = 20 \text{ kg.h}^{-1}$ ; $Q_E = 30 \text{ kg.h}^{-1}$ ; $S_S = 100 \text{ rpm}$ ) .....	175
Figure IV-26 : Distribution des DTS du solide et du liquide le long du réacteur pour l'Essai 41 ( $Q_G = 7 \text{ kg.h}^{-1}$ ; $Q_E = 10 \text{ kg.h}^{-1}$ ; $S_S = 100 \text{ rpm}$ ) .....	176
Figure IV-27 : Distribution des DTS du solide et du liquide le long du réacteur pour l'Essai 42 ( $Q_G = 7 \text{ kg.h}^{-1}$ ; $Q_E = 10 \text{ kg.h}^{-1}$ ; $S_S = 50 \text{ rpm}$ ) .....	176
Figure IV-28 : Distribution des DTS du solide et du liquide le long du réacteur pour l'Essai 44 ( $Q_G = 7 \text{ kg.h}^{-1}$ ; $Q_E = 12,5 \text{ kg.h}^{-1}$ ; $S_S = 100 \text{ rpm}$ ) .....	177
Figure IV-29 : Distribution des DTS du solide et du liquide le long du réacteur pour l'Essai 44 ( $Q_G = 7 \text{ kg.h}^{-1}$ ; $Q_E = 12,5 \text{ kg.h}^{-1}$ ; $S_S = 50 \text{ rpm}$ ) .....	177
Figure IV-30 : Comparaison des temps de séjour moyens expérimentaux et calculés de la phase solide et de la phase liquide, pour les essais 37, 38 et 40 .....	183
Figure IV-31 : Comparaison des masses de solides secs prélevées dans les différents éléments de vis avec celle calculées par le modèle, pour l'essai 39.....	185
Figure IV-32 : Prédiction de l'évolution du temps de séjour de la phase solide dans la zone de broyage de l'extrudeur bi-vis avec la vitesse de rotation des vis (représentation faite pour $Q_G = 20 \text{ kg.h}^{-1}$ , $Q_G = 20 \text{ kg.h}^{-1}$ ).....	187
Figure IV-33 : Prédiction de l'évolution du temps de séjour de la phase solide dans la zone de broyage de l'extrudeur bi-vis avec le débit de graines (représentation faite pour $Q_E = 40$ $\text{kg.h}^{-1}$ , $S_S = 100 \text{ rpm}$ ).....	187
Figure IV-34 : Prédiction de l'évolution du temps de séjour de la phase solide dans la zone de séparation liquide/solide de l'extrudeur bi-vis avec la vitesse de rotation des vis (représentation faite pour $Q_G = 20 \text{ kg.h}^{-1}$ , $Q_G = 20 \text{ kg.h}^{-1}$ ).....	188
Figure IV-35 : Prédiction de l'évolution du temps de séjour de la phase solide dans la zone de séparation liquide/solide de l'extrudeur bi-vis avec le débit de graines (représentation faite pour $Q_E = 40 \text{ kg.h}^{-1}$ , $S_S = 100 \text{ rpm}$ ).....	188
Figure IV-36 : Prédiction de l'évolution du temps de séjour de la phase solide dans la zone de séparation liquide/solide de l'extrudeur bi-vis avec le débit d'eau (représentation faite pour $Q_G = 20 \text{ kg.h}^{-1}$ , $S_S = 100 \text{ rpm}$ ).....	189
Figure IV-37 : Prédiction de l'évolution du temps de séjour de la phase solide et de la phase liquide dans la zone de séparation liquide/solide de l'extrudeur bi-vis avec la vitesse de rotation des vis (représentation faite pour $Q_G = 20 \text{ kg.h}^{-1}$ , $Q_G = 20 \text{ kg.h}^{-1}$ ).....	190

Figure IV- 38 : Prédiction de l'évolution du temps de séjour de la phase solide et de la phase liquide dans la zone de séparation liquide/solide de l'extrudeur bi-vis avec le débit de graines (représentation faite pour $Q_E=40 \text{ kg.h}^{-1}$ , $S_S=100 \text{ rpm}$ ) .....	190
Figure IV-39 : Prédiction de l'évolution du temps de séjour de la phase solide et de la phase liquide dans la zone de séparation liquide/solide de l'extrudeur bi-vis avec le débit d'eau (représentation faite pour $Q_G=20 \text{ kg.h}^{-1}$ , $S_S=100 \text{ rpm}$ ) .....	191
Figure IV-40 : Extrudeur bi-vis équipé d'une seconde zone d'extraction et de pressage.....	194
Figure V-1 : Description de la presse mono-vis OMEGA 20 .....	219