

UNIVERSITE CHEIKH ANTA DIOP DE DAKAR



N°

**Ecole doctorale Physique, Chimie, Sciences de la Terre, de l'Univers et de l'Ingénieur
(ED-PCSTUI)**

Thèse présentée pour l'obtention du grade

Docteur en Sciences de l'Ingénieur de l'Université Cheikh Anta Diop de Dakar

Spécialité : Génie des Procédés et Environnement

Présentée par : **M. Djibril DIEDHIOU**

Le 05 décembre 2017

Titre :

Fractionnement analytique de la graine de neem (*Azadirachta indica* A. Juss.) et de la graine de dattier du désert (*Balanites aegyptiaca* L.) – Valorisation des constituants de la graine de neem par bioraffinage

Jury :

M. Christophe GOURDON – Professeur – ENSIACET – INP Toulouse – Président

M. Komla SANDA – Professeur – Ecole Supérieure d'Agronomie – Université de Lomé – Rapporteur

Mme Anne-Sylvie FABIANO-TIXIER - Maître de Conférences HDR - Université d'Avignon – Rapporteur

M. Emmanuel BASSENE – Professeur – FMPO – UCAD – Examineur

M. Oumar SOCK – Professeur – ESP – UCAD – Sénégal – Directeur de Thèse

M. Luc RIGAL – Ingénieur de Recherche HDR – ENSIACET – INP Toulouse – Directeur de thèse

Membres invités :

M. Gérard VILAREM - Ingénieur de Recherche HDR - LCA - ENSIACET - INP Toulouse – Examineur

Mme Virginie BUTHOD-CUAM – Ingénieur de Recherche – ENSIACET – INP Toulouse

M. Mamadou FAYE – Maître de Conférences – ESP – UCAD

Mme Laure CANDY – Ingénieur de Recherche – ENSIACET – INP Toulouse

À mes parents !

REMERCIEMENTS

Cette thèse est réalisée en cotutelle entre et l'Université Cheikh Anta Diop de Dakar (UCAD), Sénégal et l'Institut National Polytechnique (INP Toulouse), France. Le travail de recherche a été réalisé au Laboratoire de Chimie Agro-Industrielle (LCA), UMR 1010 INRA/Ecole Nationale Supérieure des Ingénieurs en Arts Chimiques et Technologiques (ENSIACET) de l'INPT et au Laboratoire d'Electrochimie et des Procédés Membranaires (LEPM) de l'Ecole Supérieure Polytechnique (ESP) de l'UCAD.

Nos recherches ont été financées par le Service de la Coopération et d'Actions Culturelles (SCAC) de l'ambassade de France à Dakar, je le remercie très sincèrement.

Cette thèse est dirigée par Monsieur Luc RIGAL, Ingénieur de Recherche HDR au LCA. Je tiens particulièrement à le remercier pour tout ce qu'il a fait, notamment pour la disponibilité dont il a fait preuve et pour les connaissances scientifiques qu'il m'a données. Vous serez ma référence dans le domaine de la recherche !

Je tiens à témoigner ma reconnaissance à Monsieur Oumar SOCK, Professeur à l'ESP/UCAD, codirecteur de cette thèse. Merci pour les conseils scientifiques et les orientations !

Je remercie très sincèrement Monsieur Gérard VILAREM, Ingénieur de recherche HDR et Monsieur Carlos VACA-GARCIA, Professeur, qui ont dirigé le LCA pendant mes années de thèse, pour l'accueil qu'ils m'ont réservé au sien de leur laboratoire.

J'exprime mes sincères remerciements à Madame Anne-Sylvie FABIANO-TIXIER, Maître de Conférences HDR au INRA Centre de recherche PACA de l'Université d'Avignon et Monsieur Komla SANDA, Professeur à l'Ecole Supérieure d'Agronomie de Lomé d'avoir accepté de juger ce travail et de faire l'honneur d'être rapporteurs de cette thèse.

Je remercie Monsieur Emmanuel BASSENE, Professeur à la FMPO/UCAD et Monsieur Christophe GOURDON, Professeur à l'ENSIACET/INPT d'avoir accepté de faire partie de mon jury de thèse.

Je remercie particulièrement Mamadou FAYE, Maître de Conférences à l'ESP/UCAD pour l'initiation de ce projet de recherche et pour avoir beaucoup participé à l'encadrement.

Je remercie également Virginie VANDENBOSCHE, Ingénieur de recherche et Laure CANDY, Ingénieur de recherche, pour leur participation à l'encadrement.

Au Laboratoire d'Electrochimie et des Procédés Membranaires de l'ESP/UCAD, je tiens à exprimer ma gratitude à tous les enseignants-chercheurs du Laboratoire et/ou du Département Génie Chimique et Biologie Appliquée pour leur soutien, notamment la directrice du LEPM, Madame Codou Gueye MAR-DIOP, Abdoulaye SOW, Falilou Mbacké SAMB, Alpha Ousmane TOURE, Démo KOITA, Nicolas AESSOU, Yakhya DIEYE, Cheikhou KANE, Mady CISSE, et autres.

Je pense à mes collègues du LEPM Alé KANE, Moussa B. DIEDHIOU, Mamadou Lamine DIATTA et Mbaye DIOUF, sans oublié Thiam, Sow, Médoune, Diop, Diouf, Ben, Paul, Ndoye, Faye, Samba, Baldé, Bou, etc.

Au sein du Laboratoire de Chimie Agro-Industrielle, j'ai bénéficié du soutien plusieurs personnes dont j'adresse mes remerciements. Je veux citer Zéphirin MOULOUNGUI pour ses conseils scientifiques et Christine RAYNAUD pour les analyses de l'huile essentielle, Anne LUNG et Muriel CERNY pour certaines analyses physico-chimiques, Céline MATHIEU pour la formation en HPLC, Philippe EVON pour les courbes d'isoréponses, William TAPIA pour m'avoir formé sur l'utilisation de la thermopresse, Jean-François FABRE pour les aminogrammes et Gilles HUMERT pour la découpe des éprouvettes.

Je remercie aussi Thierry TALOU, Didier DANGLA, Marie-Christine TALOU, Karine TREMAUVILLE, Isabelle NOEL, Antoine ROUILLY, Isabelle BAUVIES, Emmanuelle DAO, sans oublier Ingrid, Mireille, Marion et Christina pour les orientations et/ou démarches administratives.

Je n'oublie pas mes collègues doctorants, devenus des docteurs pour l'essentiel : Assad, Sabina, Jean-Baptiste, Gildas, Benjamin, Matthieu, Cécile, Houssein, Michael, Jérémy, Géraldine, ...

J'exprime ma reconnaissance à Chantal et Bernard BEAUDOIN qui m'ont soutenu et fait visité plusieurs sites pendant mon séjour en France.

Je remercie également Amadou Tidiane GUIRO, Recteur de l'USSEIN, sans oublier Arfang Momath, Fatou, ainsi que tous les autres collègues.

Un grand merci à toute ma famille pour m'avoir soutenu longtemps : Fatouding, Ibou, Lansana, Abdou Karim, Yama, Binta, Awa, Aminata, Aissatou, Ouly, Stephane, etc.

Merci à tous !

SOMMAIRE

INTRODUCTION GENERALE.....	7
CHAPITRE I. SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE ET ÉTAT DES CONNAISSANCES.....	12
I.1. Le neem (<i>Azadirachta indica</i> A. Juss) et le dattier du désert (<i>Balanites aegyptiaca</i> L.), deux arbres tropicaux et subtropicaux répandus au Sénégal.....	12
I.1.1. Origine, classification et description.....	12
I.1.1.1. Le neem.....	17
I.1.1.2. Le dattier du désert.....	18
I.2. Utilisations traditionnelles du neem et du dattier du désert, et propriétés de leurs extraits	21
I.2.1. Le fruit et la graine de dattier du désert	23
I.2.2. Le fruit et la graine de neem	26
I.2.3. Les composés actifs de la graine de neem	28
I.3. Les procédés de fractionnement des graines.....	39
I.3.1. Le fractionnement mécanique par broyage et classification	42
I.3.2. Le fractionnement thermomécanique par pressage.....	42
I.3.3. Le fractionnement physico-chimique par extraction et séparation solide- liquide.....	43
I.4. Le fractionnement bi-vis des graines	52
I.5. Principaux résultats du fractionnement bi-vis des graines de neem.....	56
I.6. Conclusion	59
CHAPITRE II. FRACTIONNEMENT ANALYTIQUES DES GRAINES DE NEEM (<i>Azadirachta indica</i> A.Juss) ET DU DATTIER DU DESERT (<i>Balanites aegyptiaca</i> L.).....	61
II.1. Introduction	61
II.2. Caractérisation physique des graines.....	61
II.3. Caractérisation chimique des graines	63
II.3.1. La fraction fibre	63
II.3.2. La fraction lipidique	70
II.3.2.1. Caractérisation chimique des huiles des graines de neem et de dattier du désert.....	71
II.3.2.2. Caractéristiques physico-chimiques des huiles de neem et de dattier du désert.....	76
II.3.3. La fraction protéique.....	80
II.3.4. La fraction des composés minoritaires des graines de neem	86
II.3.4.1. L'huile essentielle de graine de neem.....	87
II.3.4.2. Les composés phénoliques des graines de neem	89
II.3.4.3. La fraction limonoïdes des graines de neem.....	91
II.4. Conclusion.....	95

CHAPITRE III. ETUDE DES CONDITIONS DU FRACTIONNEMENT DE LA GRAINE DE NEEM EN EXTRUDEUR BI-VIS	98
III.1. Introduction	98
III.2. Extraction par solvant de la graine de neem en extrudeur bi-vis.....	99
III.2.1. Configuration et profil de vis de l'extracteur bi-vis	99
III.2.2. Comparaison des solvants pour l'extraction en extrudeur bi-vis.....	104
III.2.2.1. Influence de la proportion d'éthanol dans l'eau sur l'extraction des constituants en extracteur-séparateur bi-vis	107
III.2.2.2. Influence de la proportion d'éthanol dans l'eau sur la répartition des constituants dans le filtrat d'extraction-séparation des graines de neem en extrudeur bi-vis.....	110
III.2.3. Conclusion sur le fractionnement des graines de neem en extrudeur bi-vis par extraction et séparation en solvant aqueux et hydro-alcoolique.....	118
III.2.3.1. La fraction raffinat solide	122
III.2.3.2. La fraction phase insoluble du filtrat brut	123
III.2.3.3. La fraction filtrat clarifié	129
III.2.3.4. Orientation pour une optimisation du fractionnement des graines de neem par extraction par solvant en extrudeur bi-vis	132
III.3. Etude du fractionnement des graines de neem par pressage et extraction par solvant en extrudeur bi-vis	141
III.3.1. Adaptation de la configuration et du profil de vis pour le pressage et l'extraction par solvant des graines de neem	141
III.3.2. Fractionnement des graines de neem par pressage et extraction à l'eau en extrudeur bi-vis BC 21.....	145
III.4. Conclusion sur le fractionnement combiné des graines de neem par pressage et extraction aqueuse en extrudeur bi-vis	154
CHAPITRE IV. FRACTIONNEMENT DES GRAINES DE NEEM POUR LA PRODUCTION D'HUILE, D'UN EXTRAIT PROTEIQUE, D'UNE EMULSION RICHE EN AZADIRACHTINE ET D'UNE BASE D'AGROMATERIAU.....	156
IV.1. Conditions du fractionnement des graines de neem en extrudeur bi-vis.....	156
IV.2. La fraction huile de graines de neem	158
IV.3. La fraction filtrat brut de l'extraction aqueuse.....	158
IV.3.1. La faction insoluble de graine de neem.....	158
IV.3.2. La phase émulsion de graine de neem.....	159
IV.4. La fraction raffinat solide des graines de neem.....	165
IV.4.1. Caractérisation du raffinat d'extrusion des graines de neem pour la production d'agromatériau.....	168
IV.4.1.1. Stabilité thermique du raffinat d'extrusion des graines de neem	168
IV.4.1.2. Analyse enthalpie différentielle du raffinat d'extrusion des graines de neem	169
IV.4.1.3. Comportement viscoélastique du raffinat d'extrusion des graines de neem	170

IV.4.1.4. Comportement du raffinat d'extrusion des graines de neem vis-à-vis de l'eau	171
IV.4.2. Etude de la mise en forme du raffinat d'extrusion des graines de neem par thermopressage	173
IV.4.2.1. Influence des conditions de thermopressage sur les caractéristiques dimensionnelles et mécaniques des matériaux	174
IV.4.2.2. Comportement des matériaux thermopressés à partir du raffinat d'extrusion des graines de neem	182
IV.5. Conclusion	198
CONCLUSION GENERALE	203
V. PARTIE EXPERIMENTALE	212
V.1. Déterminations analytiques	212
V.1.1. Broyage de la matière végétale.....	212
V.1.2. Teneur en matière sèche, en eau et en Composés Organiques Volatils (COV).....	212
V.1.3. Teneur en matières minérales et en matières organiques	212
V.1.4. Teneur en huile des matières végétales	213
V.1.5. Teneur en huile des phases émulsions et « protéiques »	213
V.1.6. Teneur en huile des poudres d'azadirachtine obtenues par lyophilisation	214
V.1.7. Teneur en huile des phases «organiques » et « saturée en sel »	214
V.1.8. Teneur en fibres (constituants pariétaux) des solides	215
V.1.9. Teneur en protéines	217
V.1.10. Teneur en composés polyphénoliques.....	219
V.1.11. Teneur et composition en huile essentielle.....	220
V.1.12. Extraction, purification et quantification de l'azadirachtine	221
V.1.12.1. Extraction et purification pour la détermination des teneurs en azadirachtine des graines et des amandes	221
V.1.12.2. Extraction et purification de l'azadirachtine des amandes	222
V.1.12.3. Extraction et purification de l'azadirachtine des phases insolubles	222
V.1.12.4. Extraction et purification de l'azadirachtine des phases émulsions et « protéiques »	222
V.1.12.5. Extraction et purification de l'azadirachtine des phases liquides solvant	223
V.1.12.6. Extraction et purification de l'azadirachtine des poudres.....	223
V.1.12.7. Extraction et purification de l'azadirachtine des plaques thermopressées	223
V.1.12.8. Dosage des extraits d'azadirachtine	223
V.1.13. Détermination de la composition en acides gras des huiles.....	224
V.1.13. Détermination de la composition en stérols des huiles.....	224
V.1.15. Détermination de la composition en tocophérols des huiles.....	226

V.1.16. Détermination de la composition en glycérides des huiles.....	226
V.1.17. Détermination de la composition en acides aminés des protéines.....	227
V.1.18. Détermination de la répartition granulométrique de l'extrudât (tourteau)	227
V.1.19. Caractérisation physico-chimique des huiles.....	228
V.1.19.1. Détermination de l'indice d'acide	228
V.1.19.2. Détermination de l'indice de saponification.....	229
V.1.19.3. Détermination de l'indice d'iode.....	229
V.1.19.4. Détermination de l'indice de peroxyde.....	230
V.1.19.5. Détermination de l'indice de cétane	230
V.1.19.6. Détermination du facteur INS.....	231
V.1.19.7. Détermination de l'indice de réfraction.....	231
V.1.19.8. Détermination de la densité	232
V.1.19.9. Détermination de la viscosité	232
V.1.19.10. Détermination du pouvoir calorifique	232
V.1.19.11. Détermination du point éclair	233
V.1.19.12. Détermination du point d'écoulement et du point de congélation.....	233
V.1.19.13. Détermination du point trouble.....	233
V.2. Fractionnement aqueux des amandes de dattier du désert en contacteur agité.....	233
V.2.1. Protocole du fractionnement.....	233
V.2.2. Détermination des teneurs en lipides des phases émulsion et solide.....	234
V.3. Mise en œuvre de l'extrudeur bi-vis de type Clextral BC 21	235
V.3.1. Description de l'extrudeur bi-vis BC 21.....	235
V.3.2. Description des périphériques de l'extrudeur Clextral BC 21	236
V.3.2.1. L'armoire électrique	236
V.3.2.2. Le doseur d'alimentation en solide.....	236
V.3.2.3. La pompe d'alimentation du solvant	236
V.3.3. Mise en œuvre de l'extrudeur bi-vis de type Clextral BC 21	236
V.3.4. Lyophilisation des filtrats clarifiés	237
V.3.5. Précipitation et séparation des protéines du filtrat par la méthode de séparation triphasique ou « <i>three phase partitioning</i> »	238
V.4. Mise en forme du raffinat d'extrusion des graines de neem en agromatériaux par thermopressage.....	238
V.5. Caractéristiques physico-chimiques et mécaniques des matériaux	239
V.5.1. Densité mesurée des éprouvettes du matériau thermopressé.....	239
V.5.2. Densité apparente en immersion au cyclohexane.....	239
V.5.3. Reprise d'eau en immersion	240

V.5.4. Essais de flexion	241
V.5.5. Analyse enthalpie différentielle.....	241
V.5.6. Analyse thermique mécanique dynamique des solides	242
V.5.7. Isotherme d'adsorption.....	243
V.5.8. Analyse thermogravimétrique (ATG)	243
ANNEXES	245
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	265
LISTE DES ABREVIATIONS	289
RESUME.....	292

INTRODUCTION GENERALE

INTRODUCTION GENERALE

La disponibilité et l'accessibilité de matières premières capables de satisfaire les secteurs d'activités de l'Homme ont depuis longtemps été une préoccupation majeure. Et l'essentiel des ressources énergétiques nécessaires au fonctionnement des activités humaines (transport, production d'électricité, chauffage, etc.) provient des énergies fossiles : le pétrole, le gaz naturel et charbon.

Aujourd'hui, avec l'augmentation de la population mondiale, la demande en pétrole est devenue par conséquent de plus en plus forte. Par exemple, sa production mondiale est passée de 22 à 24 puis à 30 milliards de barils, respectivement de 1987 à 1997 puis à 2007. Cette surexploitation a entraîné la baisse notable des réserves fossiles. À ce rythme, des géologues, travaillant dans l'industrie pétrolière prévoient de sévères pénuries de pétrole et de gaz d'ici 2025. La déplétion de ces énergies fossiles constitue une véritable menace compte tenu de la dépendance mondiale vis-à-vis de celles-ci. D'ailleurs, l'épuisement de cette ressource est prévu dans 30 ans selon certains scientifiques, 40 ans selon l'ASPO (Association for Study of Peak Oil) et 60 ans selon l'USGS (Agence de Recherche Géologique Américaine).

À cette situation, s'ajoute la hausse progressive des cours du baril de pétrole qui impacte négativement les économies de nombreux pays, en particulier celles des Pays Africains Non Producteurs de Pétrole (PANPP) dont jusque-là le Sénégal, qui connaît de fortes difficultés pour satisfaire sa demande en énergie. Pour exemple, le prix du baril de pétrole, qui était de 13 \$ US en 1988 a dépassé la barre des 144 \$ US en mars 2008. Depuis 2012, le prix du baril se situe entre 85 et 95 \$ US.

L'exploitation, le transport et l'utilisation du pétrole ont des répercussions négatives sur l'environnement et la santé humaine, notamment par la pollution marine et atmosphérique, avec l'augmentation des émissions de gaz à effet de serre, qui entraînent le réchauffement de la terre et les changements climatiques.

Toutefois, le pétrole n'est pas le facteur à l'origine de la dégradation de l'environnement. En effet, pour atteindre une production suffisante, et pour une bonne protection des récoltes et des stocks, l'agriculture a très tôt développée les engrais chimiques et les moyens de lutte contre les ravageurs par l'utilisation de pesticides chimiques. Bien qu'efficaces, une grande

partie d'entre eux est dispersée dans l'atmosphère ou infiltre le sol. Ces pesticides peuvent être déplacés sur de longues distances, retombés avec les pluies et drainés jusque dans les milieux aquatiques. Ils sont aujourd'hui à l'origine d'une pollution diffuse qui contamine toutes les eaux continentales (cours d'eau et nappes souterraines). Les pesticides, en particulier organochlorés sont des Polluants Organiques Persistants (POP). Ils sont très toxiques et bioaccumulables à travers la chaîne alimentaire. D'après l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), le nombre d'intoxications accidentelles par les pesticides dans le monde s'élève à environ un million par an et à 20 000 cas de décès par an. De plus, les pesticides chimiques entraînent la mort de beaucoup d'espèces terrestres et aquatiques (vers de terre, oiseaux, mammifères, poissons, etc.).

L'emballage et les matériaux plastiques, obtenus à partir des polymères synthétiques, issus du pétrole, jusque-là beaucoup utilisés, sont connus pour être très peu ou pas biodégradables. Ils posent aujourd'hui un véritable problème environnemental du fait de leur contribution importante dans la pollution et de leur écotoxicité.

Pour apporter une solution efficace à ces nombreux problèmes, le monde s'oriente vers :

- La recherche et l'exploitation d'autres sources d'énergie, en particulier renouvelables telles que les biocarburants, les énergies solaire, éolienne, etc.
- L'exploitation des produits biosourcés qui sont éocompatibles comme substituts aux molécules ou aux polymères synthétiques, est une voie envisageable. Ainsi, l'utilisation de biofertilisants, de biomolécules actives dans la formulation des biopesticides et biopolymères peut constituer une réponse pertinente aux dommages causés par l'utilisation de pesticides chimiques et d'engrais chimiques, et aux plastiques d'origine synthétique, issus du pétrole.

Pour cela, la valorisation des ressources d'origine végétale, de leurs sous-produits et coproduits est une voie privilégiée. Cela se traduit aujourd'hui par le développement progressif des bioénergies, des bioplastiques, des biofertilisants et des biopesticides, qui ont l'avantage d'être efficaces et respectueux de l'environnement.

Ces nouvelles orientations s'inscrivent dans les stratégies de développement des pays développés et ceux en voie de développement pour un développement durable. Pour répondre à cette demande, le Sénégal dispose d'un potentiel en ressources végétales non négligeable. Et quelques plantes encore sous exploitées malgré leurs immenses potentialités peuvent faire l'objet d'étude et de valorisation vers les biocarburants, les biopesticides et les matériaux

compte tenu de leur composition. Il s'agit par exemple des graines de neem (*Azadirachta indica* A. Juss) et du dattier du désert (*Balanites aegyptiaca* L.) qui sont des plantes très répandues au Sénégal. La population de neem est estimée entre 18 et 30 millions d'arbres selon les statistiques de la Direction forestière. L'arbre de neem produit en moyenne 50 kg de fruits par an, soit 30 kg de graines par an. Quant au dattier du désert (données sur sa population non disponible), sa production annuelle est estimée à environ 100 à 150 kg de fruits.

Vu le nombre important de travaux qui ont été réalisés, notamment dans le domaine du fractionnement et du raffinage de matières végétales en vue de leur valorisations non alimentaires mais également dans le domaine des agro-matériaux, le Laboratoire de Chimie Agro-Industrielle (LCA) de Toulouse capitalise une expérience avérée dans ce domaine.

L'objectif dans ces recherches est de mettre en œuvre un procédé de fractionnement innovant et éco-compatible des graines de neem en extrudeur bi-vis selon une approche de bioraffinerie, avec une production simultanée d'huile, d'un extrait d'azadirachtine et d'un extrudât valorisable.

Dans une première partie, consacrée à l'étude bibliographique, nous présentons les généralités (description, distribution géographique et écologie), les propriétés et la composition chimique de la graine de neem et de dattier du désert. Nous décrivons également le procédé de fractionnement de matières végétales notamment en extrudeur bi-vis.

Le second chapitre est consacré à la caractérisation des deux graines (neem et dattier du désert) et au fractionnement analytique avec l'exploration de leurs perspectives de fractionnement.

Dans le troisième chapitre, nous étudions les conditions de fractionnement des graines de neem en extrudeur bi-vis. Il s'agit dans cette partie de l'étude de configurations et profils de vis adaptés et de l'extraction par des solvants aqueux et hydroalcooliques pour la mise au point d'une configuration et d'un profil de vis permettant de produire simultanément une fraction huile, un extrait (azadirachtine, protéines et lipides) en seconde zone et un raffinat.

Enfin, le quatrième et dernier chapitre porte sur le fractionnement des graines de neem pour la production d'une huile mais aussi d'un filtrat constitué d'un coextrait aqueux d'azadirachtine, d'une deuxième fraction huileuse et de protéines, et enfin d'un extrudat comme base d'agromatériau. Il s'agit ainsi de mettre en place un schéma de bioraffinage de la graine de

neem en proposant des traitements des fractions huile et extrait aqueux et des voies de valorisation des produits obtenus ainsi que la production d'agromatériau à partir de l'extrudat.

Chapitre I

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE ET ETAT DES
CONNAISSANCES

CHAPITRE I. SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE ET ÉTAT DES CONNAISSANCES

Dans ce premier chapitre, consacré à l'état des connaissances, il s'agit tout d'abord de faire la description botanique, écologique et géographique ainsi que les propriétés et utilisations du neem (*Azadirachta indica*) et du dattier du désert (*Balanites aegyptiaca*). Dans la suite de cette partie, nous décrivons les procédés de fractionnement des graines (fractionnement mécanique par broyage et classage, fractionnement thermomécanique par pressage et fractionnement physico-chimique par extraction et séparation liquide-solide). Enfin, nous présenterons le fractionnement de graines, notamment en extrudeur bi-vis.

I.1. Le neem (*Azadirachta indica* A. Juss) et le dattier du désert (*Balanites aegyptiaca* L.), deux arbres tropicaux et subtropicaux répandus au Sénégal

I.1.1. Origine, classification et description

Originaire du sub-continent indien (Chopra *et al.*, 1952), et plus précisément, de la Birmanie et/ou du Sud de l'Inde (Troup, 1921; Vartak and Ghate, 1990), et pour d'autres de la partie Sud-Est au Sud de l'Asie, allant de l'Indonésie à l'Iran (National Research Council, 1992), le neem, désigné par les botanistes sous le nom d'espèce *Azadirachta indica* A. Juss, est une plante de la famille Meliaceae (**Tableau I-1**). Il possède aussi de nombreux noms vernaculaires en fonction des régions et pays où il a été identifié (Asie) et introduit (Pacifique Sud, Australie, Amérique et Afrique) (Schmutterer, 1995).

Cependant, le dattier du désert, désigné par le nom d'espèce *Balanites aegyptiaca* L, est une plante de la famille botanique des Zygophyllaceae ou Balanitaceae (**Tableau I-1**). Il a été planté en Egypte depuis plus 4000 ans et s'est progressivement répandu dans d'autres parties d'Afrique (Chapagain, 2006). *Balanites aegyptiaca* et ses sous-espèces sont néanmoins aussi présentes dans le sous-continent indien. Plusieurs synonymes peuvent aussi être rencontrés pour le désigner [*Ximenia aegyptiaca* L. (*Balanites roxburghii* Planch), *Agialida senegalensis* Van Tiegh., *Agialida barteri* Van Tiegh., *Agialida tombuctensis* Van Tiegh., *Balanites ziziphoides* Milbr et Schlechter, *Balanites latifolia* Van Tiegh.]. Il est connu sous plusieurs

noms vernaculaires : Dattier du désert, Balanite ou Hagueleg en Français, Desert date, Soapberry tree, Thorn tree en Anglais et Soump en Wolof (langue nationale sénégalaise).

Tableau I-1 : Classification botanique du neem (Schmutterer, 1995) et du dattier du désert (Chothani et Vaghasiya, 2011)

	Neem	Dattier du désert
Sous Règne	Trachebionta	Trachebionta
Division	Magnoliophyta	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida	Magnoliopsida
Sous Classe	Rosidae	Rosidae
Ordre	Sapindales	Sapindales
Sous Ordre	Rutineae	-
Famille	Meliaceae	Zygophyllaceae (Balanitaceae)
Sous famille	Meloideae	-
Genre	<i>Azadirachta</i>	Balanites
Espèce	<i>Azadirachta indica</i> A. Juss	<i>Balanites aegyptiaca</i> (L.) Delile

Les caractéristiques morphologiques de ces deux arbres sont très différentes (**Figure I-1**), tant par leur port et leur taille que par leur feuillage ainsi que leurs fleurs et fruits (**Tableau I-2**).



a



b



c



d

a : arbre de neem

c : feuilles de neem

b : arbre de dattier du désert

d : feuilles de dattier du désert

Figure I-1 : Photographie du neem et du dattier du désert

Tableau I-2 : Description de l'arbre de neem et du dattier du désert

	Neem	Dattier du désert
Taille	<ul style="list-style-type: none"> ▪ 25 à 30 m dans son pays d'origine ; ▪ Jusqu'à 35 à 40 m dans des conditions de bon développement (Schmutterer, 1995) ; ▪ 5 à 15 m au Sénégal (Berhaut, 1979). 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Arbuste ou petit arbre pouvant atteindre 12 m de haut ; ▪ De morphologie variable.
Tronc	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Relativement court, habituellement droit, pouvant atteindre 1,5 à 3,5 m de diamètre ; ▪ Ecorce de couleur variable d'une plante à une autre, selon l'âge et la localisation, grise à noirâtre, faiblement fissuré ; ▪ Cœur du bois dur, rouge brun avec des veines rosées. 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Court, généralement droit et souvent ramifié à la base ; ▪ Ecorce de couleur brune foncée à grise, profondément fissurée ; ▪ Bois dur et résistant à l'attaque d'insectes.
Branches et feuillage	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Branches en général écartées, formant avec ses multiples feuilles une couronne assez dense, ronde ou ovale, pouvant atteindre 15 à 20 m de diamètre pour les arbres matures (National Research Council, 1992; Schmutterer, 1995); ▪ Feuillage persistant. 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Branches armées d'épines jaunes ou vertes pouvant atteindre 8 cm de long ; ▪ Réparties en général de manière irrégulière ou pendante, formant parfois une couronne ronde (Chapagain, 2006; Chothani et Vaghasiya, 2011) ; ▪ Feuillage persistant.
Feuilles	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Alternes, folioles dentées et le limbe absent à la base des folioles (Fortin <i>et al.</i>, 1997) ; ▪ Face dorsale de couleur verte-foncée, face ventrale plus claire ; ▪ 20 à 40 cm de long, plus denses à l'extrémité des branches (Puri, 1999). 	<ul style="list-style-type: none"> Alternes, de couleur verte à grisâtre, avec deux folioles subsessiles, obovales, orbiculaires et rhomboïdes ; ▪ 3 cm de long et 2,5 cm de large avec pétiole de 1 cm de long (Dial NDiaye, 1997) ; ▪ Feuillet séparés ; folioles ovales, asymétriques, de longueur 2,5 à 6 cm, vert-clair avec des poils fins lorsqu'il est jaune (Chothani et Vaghasiya, 2011).
Fleurs	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Petites blanches en panicule axillaire lâche, parfois ramifiées pouvant atteindre 25 cm de long ; ▪ Sève à odeur attirante pour les abeilles ; ▪ Inflorescences embranchées jusqu'au 3^{ème} degré, comportant jusqu'à 150 à 250 fleurs (Gruber, 1991) ; ▪ 5 à 6 mm de long et 8 à 11 mm de large pour chaque fleur (Schmutterer, 1995). 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Petites tailles, réunies en plusieurs types d'inflorescences (glomérulaires, clusters et funicules), portées par des branches latérales ; ▪ Forte odeur spécifique, hermaphrodites et pollinisées par les insectes.

Tableau I-2 (suite) : Description de l'arbre de neem et du dattier du désert

	Neem	Dattier du désert
Fruits	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Drupes de forme presque cylindrique (Fortin <i>et al.</i>, 1997) ou ellipsoïdale 1,4 à 2,8 cm de long et 1 à 1,5 cm de large (Schmutterer, 1995) ; ▪ Recouvertes d'un péricarpe de couleur verte et jaune à maturité ; ▪ Contiennent un noyau ligneux représentant le quart de leur volume (Mensier, 1957). 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Drupes de 2,5 à 7 cm de long et 1,5 à 4 cm de diamètre ; ▪ Vert devenant jaune à glabre à maturité (Chothani et Vaghasiya, 2011) ; ▪ Composé d'un épicarpe (5-9%), d'un mésocarpe (28-33%) et d'un endocarpe (graine : coque et amande) (49-54%) (Mohamed <i>et al.</i>, 2002).
Floraison et fructification	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Au bout de 3 à 5 ans, et forte productivité à partir de 10 ans ; ▪ Une à deux périodes de floraison (voire trois) : janvier-février à mai dans l'hémisphère Nord, novembre-décembre au Sud de l'Equateur ; mars-avril et juillet-août en Afrique de l'Ouest et au Sénégal (Schmutterer, 1995). 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ À partir de 5 à 7 ans et productivité maximale à 15-25 ans (Mohamed <i>et al.</i>, 2002) ; ▪ Floraison entre novembre et avril et fructification entre décembre et juillet (Bein <i>et al.</i>, 1996; El-Ghazali <i>et al.</i>, 1994).

Le neem est un arbre à croissance rapide dans de bonnes conditions climatiques et pédologiques, et est connu pour vivre jusqu'à 200 ans (Radwanski, 1977). Un seul arbre peut produire plus de 100 kg de fruits par an au Kenya (Saxena *et al.*, 1988), mais en moyenne, un arbre de 8 m de hauteur produit entre 37 et 55 kg de fruits par an (Ketkar, 1976).

Le dattier du désert est un arbre à croissance plus lente, qui peut vivre pendant 100 ans dont 75 ans de fructification, et dont la production annuelle de fruits est estimée entre 100 et 150 kg (Elamin et Satti, 2013).

Ces deux arbres sont adaptés à des conditions pédoclimatiques différentes mais largement rencontrés dans de nombreux pays tropicaux et subtropicaux, en particulier africains, dont le Sénégal.

1.1.1.1. Le neem

L'arbre de neem se développe dans des régions où les moyennes pluviométriques annuelles varient entre 250 et 2000 mm (Berhaut, 1979; Fortin *et al.*, 1997). Toutefois, son développement est possible dans des régions à haute pluviométrie (3000 à 4000 mm par an), en particulier dans l'Est de l'Equateur, dans le bassin d'Amazonie et dans l'île Tsonga (Schmutterer, 1995). Il ne nécessite pas de sol très riche. Un pH du sol compris entre 6,2 et 7 semble être meilleur pour le développement du neem. Il tolère toutefois des pH de 5,9 à 10 dans certaines conditions (Rice, 1993). Le neem, comme tout arbre tropical, vit dans des conditions de températures annuelles comprises entre 21 et 32°C. Cependant, le système racinaire du neem, constitué d'une forte racine pivotante et d'un ensemble de racines latérales bien développées qui pénètrent profondément le sol et produisent des surgeons, lui permettent de résister dans des zones arides (Schmutterer, 1995). Il peut aussi tolérer les hautes températures voire très hautes températures. C'est le cas au Nord-Est et au centre de l'Afrique où celles-ci peuvent atteindre 50°C pendant l'été. Les températures inférieures ou égales à 4°C sont défavorables et peuvent entraîner la mort des jeunes plantes. Le neem est d'habitude retrouvé dans les plaines et les petites montagnes, jusqu'à 700-800 m au-dessus de la mer et occasionnellement à 1000 m d'altitude (Schmutterer, 1995). La lumière est un autre facteur environnemental important de son développement. Bien que les jeunes plantes poussent souvent sous l'ombre, les arbres adultes exigent beaucoup de lumière. Ainsi, la vitesse de photosynthèse mesurée en Australie était de 10-17 μmol de $\text{CO}_2/\text{m}^2\text{s}$, cette valeur est supérieure à celle de la plupart des plantes tropicales (Gruber, 1991).

Aujourd'hui largement répandu dans les régions tropicales et subtropicales, notamment d'Asie, d'Amérique, d'Australie et des îles du Sud Pacifique (Schmutterer, 1995), c'est l'Afrique, avec une population estimée entre 31 et 45 millions d'arbres (Forster et Moser, 2000), qui serait le continent qui a le plus d'arbres de neem. Actuellement, il est présent un peu partout en Afrique (dans un peu moins de 30 pays), en particulier dans la frange méridionale du Sahara, où il est devenu un véritable pourvoyeur de charbon de bois et de bois de charpente (National Research Council, 1992). Il est présent le long de la côte de l'Afrique orientale (Somalie, Kenya, Tanzanie et Egypte). En Afrique centrale, le neem est présent le long du bassin du lac Tchad (Est du Niger, Nord-Est et Sud-Est du Nigéria, Sud-Ouest du Tchad et Nord du Cameroun). Le neem est aussi très présent en Afrique de l'Ouest notamment au Bénin, au Togo, au Burkina Fasso, au Ghana, en Côte d'Ivoire, au Mali, en

Mauritanie, au Sénégal, en Gambie, en Guinée Bissau, en Guinée Conakry et en Sierra Leone (Faye, 2010; Schmutterer, 1995).

Au Sénégal, sa population est estimée entre 18 et 30 millions d'arbres, affichant ainsi une des biomasses les plus importantes du continent (Fortin *et al.*, 1997). Le neem est présent partout dans le pays dans des conditions climatiques et édaphiques différentes. Et même s'il est connu pour son association avec beaucoup d'autres plantes dans leur milieu naturel (Benge, 1989), le neem est une espèce qui contient des principes inhibant la germination et la croissance de la flore environnante (Berhaut, 1979). Parfois, sous certaines conditions (forte précipitation, abondance d'oiseaux et de sauve-souris) qui occasionnent la propagation des graines, les arbres de neem peuvent devenir invasifs. Cette situation est observée en Afrique de l'Ouest, particulièrement au Sud du Sénégal (Schmutterer, 1995).

1.1.1.2. Le dattier du désert

Le dattier du désert pousse dans les savanes des régions arides et semi arides d'Afrique et d'Asie (Mohamed *et al.*, 2002). Il y est rencontré dans de nombreux types d'habitats et tolère une large variété de sols, allant du sable à l'argile dans des zones humides. Il est aussi adapté à une variété de conditions climatiques, surtout les régions arides dont les températures moyennes sont élevées (Ndoye *et al.*, 2004). Ainsi, dans le Sahel, les dattiers du désert qui fleurissent avant la saison des pluies (vers avril) et dont les fruits mûrissent et tombent en décembre-janvier, poussent sur une large variété de sols : sols lourds autour des étangs, le long des oueds, les dépressions occasionnellement inondées et les vallées fossiles quaternaires du Sahara ; sur éboulis rocheux-argileux; également sur des sols sableux (Chapagain, 2006). Le dattier du désert est une espèce qui vit en général sur les plaines, jusqu'à 1000 m d'altitude dans les régions où les températures moyennes annuelles varient entre 20 et 30°C, et celles où les précipitations moyennes annuelles vont de 250 à 400 mm (Schmidt et Jøker, 2001; The Wealth Of India, 1998). Dans les zones plus désertiques, dans le Sahel et en Afrique subsaharienne, le dattier du désert dépasse rarement 10 m de hauteur, mais dans ces conditions, les feuilles épaisses et dures avec un revêtement brillant, offrent une protection contre l'air sec (Hall et Walker, 1991). Le système racinaire s'étend verticalement et horizontalement pour trouver de l'eau jusqu'à 7 m de profondeur et dans un rayon allant jusqu'à 20 m. Ce système racinaire développé permet également à l'arbre de supporter les invasions par le sable, fréquentes dans ces régions et qui déracinent et détruisent d'autres arbres. Dans ces conditions difficiles, le revêtement de sable autour de chaque racine fournit

une couche d'air isolante, qui modère ses variations de température et réduit l'évaporation. Les longues épines vertes et les branches assurent la photosynthèse en l'absence des feuilles pour permettre la survie de la plante. C'est donc une plante bien adaptée aux conditions extrêmes du désert.

Dans le sous-continent indien, *Balanites aegyptiaca* et ses sous-espèces sont présents seulement en Inde et en Birmanie voisine (Union du Myanmar). En Inde, le Balanite est largement cultivé dans le Rajasthan et dans les pays voisins, alors que dans la Birmanie cette plante n'existe que dans la vallée de l'Irrawady et l'une des deux zones adjacentes entre Yeu (environ 22° 50' N), dans le nord et Prome (environ 18° 15' N), dans le sud (Chapagain, 2006; Sands, 2001). Il pousse aussi naturellement dans le Myanmar et est rencontré dans les régions les plus sèches du Pakistan et de l'Inde.

Les dattiers du désert ne sont pas seulement cultivés dans le continent africain, ils sont aussi cultivés au Moyen-Orient, dans la Péninsule arabique. Hors de l'Afrique, l'Israël, la Jordanie, l'Arabie Saoudite, le Nord et le Sud du Yémen, sont les pays où le dattier du désert pousse naturellement. En Israël, *Balanites aegyptiaca* est rencontré dans la vallée de l'Arava (près de la frontière jordanienne), dans l'Eilat (près de la mer Rouge), dans l'oasis d'Ein-Gedi (près de la mer Morte) et dans la vallée de Bet-Shean (près de la mer de Galilée) (Chapagain, 2006). *Balanites aegyptiaca* se développe des latitudes 35° Nord (Bet Shean-Valley, Israël) à environ 19° Sud (district Budi, Zimbabwe) (Zohary, 1973). Cependant, il est principalement rencontré dans les zones arides et semi-arides en Afrique tropicale où il est l'une des plantes ligneuses les plus répandues. Il est rencontré en Mauritanie, au Sénégal, au Bénin, au Burkina Faso, au Cameroun, au Tchad, en Djibouti, en Ethiopie, en Gambie, au Ghana, en Guinée Bissau, en Guinée, en Côte-d'Ivoire, au Kenya, au Mali, au Nigeria, au Niger, au Soudan, en Somalie, en Tanzanie, au Togo, en Ouganda, en RDC et en Zambie où il est cultivé, en plus de ceux qui poussent à l'état sauvage (Booth and Wickens, 1998). L'Algérie, l'Angola, le Burundi, la République centrafricaine, la Libye, le Maroc et le Rwanda sont les autres pays africains où se trouvent les dattiers du désert (Chapagain, 2006; Hall et Walker, 1991) (**Figure I-2**).



Figure I-2 : Répartition de la population du dattier du désert (*Balanites aegyptiaca*) en Afrique (Hall et Walker, 1991)

Au Sénégal, le dattier du désert est très abondant dans toute la zone sahélienne (vallée du Fleuve, Djolof, Cayor, Ferlo). Il pénètre profondément dans la région à climat soudanien jusqu'en Casamance maritime (à l'extrême Sud-Ouest du pays), où il reste hors des sols inondables (Dial NDiaye, 1997). Malgré qu'il soit un des arbres les plus courants au Sénégal, peu de données quantitatives concernant sa population sont disponibles.

Les caractéristiques du neem et du dattier du désert, adaptés à des conditions pédo-climatiques rencontrées au Sénégal et plus largement à de nombreux zones de l'Afrique tropicale et subtropicale, en font deux cibles de choix pour la lutte contre la déforestation et la désertification. D'ailleurs, des études récentes ont démontré les différentes possibilités en agroforesterie du neem. Au-delà d'une gestion durable des sols et des ressources hydriques menacées par les changements climatiques, leur mise en culture pourrait s'appuyer sur les nombreuses utilisations traditionnelles pour lesquelles ces deux arbres ont été et sont aujourd'hui exploités.

I.2. Utilisations traditionnelles du neem et du dattier du désert, et propriétés de leurs extraits

Au Sénégal, le neem est planté traditionnellement par les populations locales, dans de nombreuses régions du pays aussi bien dans les zones rurales qu'urbaines pour l'ombre que produit cette arbre. Il a servi pour le balisage avec les plantations le long de routes nationales et secondaires et a bénéficié de plusieurs programmes de plantation dans de nombreux pays d'Afrique, et en particulier du Département des Forêts sénégalais, et est devenu un important fournisseur de charbon de bois et de bois d'œuvre et de charpente. Le cœur du bois est dur et utilisé pour la fabrication de meubles, de bateaux, de poteaux ou d'instruments de jardinage. De même, le bois de tige du dattier du désert sert à la confection de matériel artisanal. Sa qualité de dureté et de résistance à l'attaque d'insectes lui valent d'être une matière première pour la fabrication d'ustensiles ménagers (cuillères, écuelles, battoires, etc.), d'outils et de mobilier. Il est également utilisé comme bois de chauffage et transformé en charbon de bois (Dial NDiaye, 1997).

Presque toutes les parties de ces deux plantes peuvent être exploitées, pour l'alimentation humaine et animale dans le cas du dattier du désert, mais aussi à travers les extraits que peuvent fournir les écorces, les feuilles ou les racines (**Tableau I-3**). Toutefois, ce sont les fruits et les graines qui ont fait l'objet du plus grand nombre d'études.

Tableau I-3 : Exemples d'utilisations traditionnelles et propriétés des extraits de neem et de dattier du désert

	Neem	Dattier du désert
Ecorce	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Préparation anti paludéenne, activité schizonticide contre <i>Plasmodium borghei</i> (Ekanem, 1976) ; ▪ Peu efficace en dose orale (Tella, 1976). 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Préparations pour le traitement de la syphilis, contre les infestations de vers ronds, comme poison de pêche (Zarroug <i>et al.</i>, 1988) ; ▪ Extrait méthanolique à activité antidotique contre les morsures de la vipère, <i>Echis carinatus</i> (Wufem <i>et al.</i>, 2007) ; ▪ Extrait aqueux à activité vermifuge contre <i>Albizia anthelmintica</i> (Koko <i>et al.</i>, 2000).
Racines et fleurs	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Huile essentielle est active sur de nombreux agents pathogènes à l'Homme et aux végétaux (Chopra <i>et al.</i>, 1952). 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Racines utilisées pour le traitement de douleurs abdominales (Khan, 2009). ▪ Infusions utilisées comme émétique (Beentje, 1994) ; ▪ Extrait aqueux efficace contre le paludisme (Chothani et Vaghasiya, 2011) ; ▪ Extrait aqueux à activité vermifuge et vermicide (Dwivedi <i>et al.</i>, 2009).
Feuilles	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Effet hypoglycémiant, traitement du diabète, (Luscombe et Taha, 1974; Mukherji, 1957; Shukla <i>et al.</i>, 1973) ; ▪ Effet antiviral des extraits aqueux (Rai et Sethi, 1972; Rao <i>et al.</i>, 1969) ; ▪ Effet répulsif d'insectes ; ▪ Extraits aqueux et méthanoliques insecticides (Schmutterer, 1995) ; ▪ Sans effets significatifs sur le système nerveux central (Debelmas et Hache, 1976). 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Aliment de bétail (zone aride période de sécheresse) ; ▪ Activité antibactérienne et larvicide des extraits aqueux (Doughari <i>et al.</i>, 2007), antibactérienne (Karmegam <i>et al.</i>, 2008; Karuppusamy <i>et al.</i>, 2002).

I.2.1. Le fruit et la graine de dattier du désert

■ De 100 à 150 kg de fruits peuvent être produits annuellement par un dattier du désert. Leur richesse en sucre (35 à 37%) et en acides organiques (15%) leur vaut d'être consommés sous forme de bonbons et d'être une friandise appréciée en mélange avec des gommages. Ils sont utilisés pour la préparation de boissons alcoolisées, et servent aussi pour l'alimentation des ruminants (Dial NDiaye, 1997). D'autres constituants tels que le 3-rutinoside, le 3-rhamnolactoside (Sawla et El Hadidi, 1998) et le diosgénine (Khare, 2008) y ont été isolés.

Dans la médecine traditionnelle, les fruits frais sont utilisés comme laxatifs et comme régulateur d'hypertension artérielle (Lockett *et al.*, 2000). Les mésocarpes de fruits quant à eux sont hypoglycémisants et s'utilisent pour le contrôle des escargots d'eau douce, qui sont des hôtes intermédiaires de la bilharziose, et des crustacés d'eau douce, qui sont des intermédiaires dans le cycle du ver de Guinée (Wiesman et Chapagain, 2006). Ils sont également utilisés contre les maux d'estomac et comme médicament anti diabétique (Mohamed *et al.*, 2002; Saharan *et al.*, 2011). Dans la médecine traditionnelle égyptienne, les fruits sont utilisés comme un hypoglycémiant (Kamel, 1998) et dans la médecine populaire soudanaise pour le traitement de l'ictère (Sarker *et al.*, 2000). Ainsi, les fruits sont couramment utilisés pour purger, pour éliminer les parasites intestinaux et parfois pour traiter les infestations contre *Schistosomum japonicum* (Wiesman et Chapagain, 2006); alors que ses extraits sont des agents faciolicides (Al Ashaal *et al.*, 2010). Ils présentent une activité spermicide sans irritation vaginale locale chez les femmes. L'extrait méthanolique des fruits de *B. aegyptiaca* est rapporté pour avoir une activité vermifuge contre les différentes étapes de développement de *Trichinella spiralis* chez le rat (Shalaby *et al.*, 2010) mais aussi molluscicide des jeunes et adultes de *Bulinus globosus* et de *Bulinus truncatus* (Anto *et al.*, 2005).

■ La graine est obtenue après avoir éliminé le mésocarpe du fruit du dattier du désert, de couleur brune-pâle, fibreuse et dure. Elle mesure 1,5 à 3 cm de long et est constituée d'une coque épaisse et dure qui entoure une amande. La graine représente 49 à 54% du poids du fruit (Mohamed *et al.*, 2002), ce qui correspondrait à une production de 49 à 84 kg de graines par arbre et par an.

La poudre de graines est utilisée dans le traitement traditionnel de l'asthme (Jagtap *et al.*, 2009) et pour la désinfestation de vers intestinaux (Doughari *et al.*, 2007). Par ailleurs, une activité insecticide de ses extraits a été prouvée efficace contre le trogodermite du grain

(*Trogoderma granarium*) (Elamin and Satti, 2013). Toutefois, c'est surtout l'huile contenue dans l'amande (30 à 60% pour 20 à 30% de protéines) (Aviara *et al.*, 2005) qui est la plus utilisée :

- Sa composition en acides gras palmitique (C16 : 0), stéarique (C18 : 0), oléique (C18 : 1) et linoléique (C18 : 2) qui représentent 98 à 100% des acides gras totaux, avec jusqu'à 75% d'insaturés (Mohamed *et al.*, 2002) et entre 31 et 51% d'acide linoléique (Wiesman et Chapagain, 2006) lui confère une qualité nutritionnelle comparable à celle des huiles d'arachide, de sésame ou de soja. Elle est aussi une source importante de β -carotènes et de tocophérols (FAO, 1993).

- Au-delà de son utilisation alimentaire, elle est connue pour ses usages dans la médecine traditionnelle. En effet, l'huile de *Balanites aegyptiaca* a une activité anti-cancéreuse pour le poumon et le foie. Elle présente également une activité antimutagène contre *Fasciola gigantica* mais aussi vermifuge contre les vers hépatiques (*Schistosoma mansoni* et *Fasciola gigantica*) et antivirale contre le virus *Herpes simplex*. Elle est par ailleurs connue pour son activité antimicrobienne contre des souches de bactéries à Gram-positif et à Gram-négatif, et les espèces du genre *Candida* (Al Ashaal *et al.*, 2010). Ainsi, elle est utilisée dans la médecine traditionnelle notamment dans le traitement des maladies de la peau, des rhumatismes (Obidah *et al.*, 2009), des tumeurs et des blessures. Elle est également utilisée comme laxatif ou dans le traitement des hémorroïdes, des maux d'estomac, de la jaunisse, de la fièvre jaune, de la syphilis, de l'épilepsie (Ojo *et al.*, 2006) et des plaies (Breyer et Brandwijk, 1982).

Les propriétés des extraits de dattier du désert sont attribuées aux nombreux métabolites secondaires qu'il contient, tels que des stéroïdes, des alcaloïdes, des flavonoïdes, de la coumarine et en particulier des saponines (Wiesman et Chapagain, 2003). En effet, les saponines sont des métabolites secondaires de haut poids moléculaire, présentes dans une variété de plantes supérieures et dans quelques espèces de plantes marines (Hostettmann et Marston, 2005; Price *et al.*, 1987). Ces composés amphiphiles sont constitués d'une partie aglycone (non sucre), liée à un fragment de sucre hydrophile. Selon la structure de l'aglycone, les saponines sont classées comme des triterpénoïdes, des stéroïdes ou des alcaloïdes stéroïdes. Étant donné que l'aglycone est très hydrophobe et les chaînes de sucre très hydrophiles, ce caractère amphiphile confère aux saponines d'excellentes propriétés moussantes, émulsifiantes et tensio-actives (Liener, 1994). Leur premier rôle est de protéger les plantes contre l'attaque d'un large éventail d'agents pathogènes (Mansfield, 1983). Les

saponines possèdent des propriétés cytotoxiques, antifongiques, antibactériennes, larvicides et anti-inflammatoires (Chapagain et Wiesman, 2007) et jouent un rôle important dans le métabolisme et dans la biosynthèse. Elles sont considérées comme les principaux composés actifs à propriétés thérapeutiques (Chapagain et Wiesman, 2007; Liu *et al.*, 2005). Ainsi, plusieurs saponines ont été isolées sur différentes parties de *Balanites aegyptiaca* : feuilles, racines (Pettit *et al.*, 1991), écorces, fruits et graines (Hosney *et al.*, 1992).

Les graines contiennent différents types de saponines telles que les balanitine 1 (A), balanitine 2 (B) (Figure I-3), balanitine 3, balanitine 4, balanitine 5, balanitine 6 et balanitine 7 (Chapagain, 2006). Les balanitines 6 et 7 sont des saponines obtenues à partir de l'amande. Elles sont connues pour leurs vertus anticancéreuses et sont responsables de l'activité molluscicide de l'huile. Mais la présence de saponines a aussi été le principal obstacle à l'utilisation des protéines des graines pour l'alimentation humaine et animale (Mohamed *et al.*, 2002).

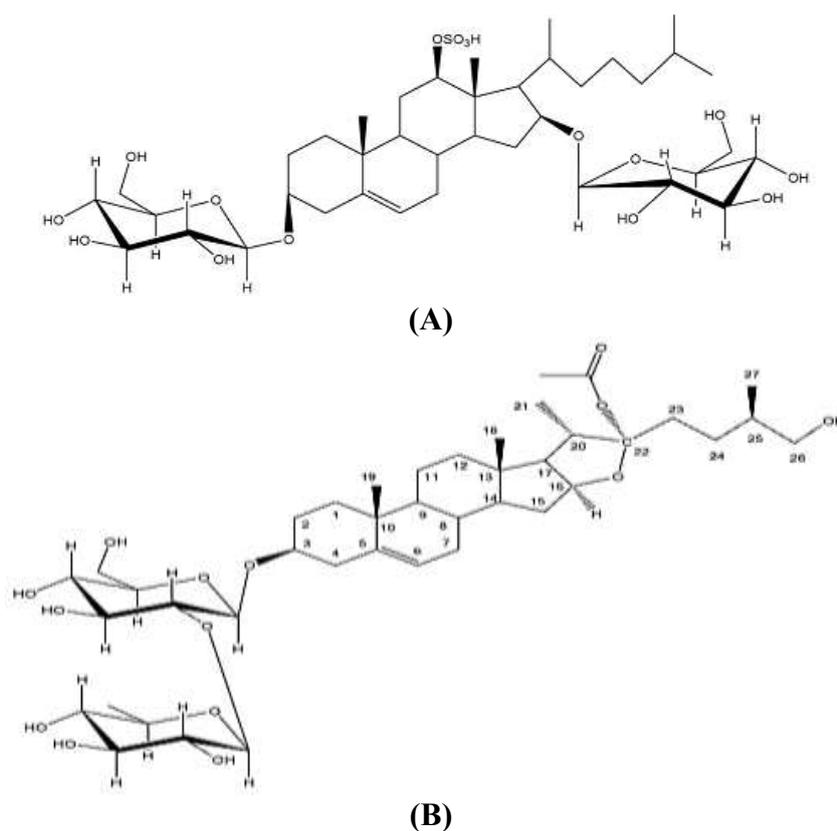


Figure I-3 : Structure des saponines, balanitine 1 (A) et balanitine 2 (B) isolées des graines de *Balanites aegyptiaca* (Speroni *et al.*, 2005)

I.2.2. Le fruit et la graine de neem

Bien que comme les autres plantes, la fructification du neem puisse varier d'une année à l'autre, selon l'âge de l'arbre et les conditions climatiques, près de 50 kg de fruits par an peuvent être produits à maturité (Roger, 1992; Schmutterer, 1990). Bien qu'il soit connu comme pour donner une huile essentielle médicinale, peu de données sont disponibles sur les usages traditionnels du fruit entier ou de la pulpe, à l'inverse de ses graines qui ont fait l'objet de très nombreuses études.

La graine de neem loge à l'intérieur du fruit. La partie externe de la graine est constituée d'une enveloppe appelée coquille (exocarpe) qui mesure de 0,9 à 2,2 cm de long et 0,5 à 0,8 cm de large (Schmutterer, 1995). De couleur blanche, assez dure, la graine renferme en son sein un, rarement deux et très rarement trois noyaux (ou amandes) ovales de couleur brune et de 0,8 à 1,0 cm de long et 0,4 à 0,5 cm de large. L'amande représente à peu près le quart du volume du fruit (Mensier, 1957). Cette amande est obtenue en brisant la coque après avoir extrait les graines des fruits. En moyenne un arbre mature produirait 30 à 60 kg de graines (Roger, 1992; Saxena *et al.*, 1988; Schmutterer, 1990) dont près de la moitié en amandes.

Au-delà des plus de 100 composés actifs appartenant au groupe des triterpénoïdes (Addeah-Mensah, 1998), dont l'azadirachtine, la graine contient une huile essentielle (Kurose et Yatagai, 2005) et une forte proportion de lipides.

La teneur en huile de la graine peut varier selon les conditions environnementales et le génotype de l'arbre (Ermel *et al.*, 1987; Singh, 1986) et selon leur origine géographique (**Tableau I-4**).

De 20 à 32 % d'une huile de couleur noirâtre à jaune-pâle pourrait être obtenue à partir de la graine (Faye, 2010; Gossé *et al.*, 2005; Kaura *et al.*, 1998; Munoz-Valenzuela *et al.*, 2007) et de 30 à 52% à partir de l'amande (Faye, 2010; Kaura *et al.*, 1998; Kaushik, 2002; Kaushik et Vir, 2000; Sidhu *et al.*, 2003, 2004).

Tableau I-4 : Teneur en huile des graines de neem de différentes origines

Teneur en huile (%)	Localité	Références
20 - 32,62	Inde	Kaura <i>et al.</i> , 1998
30	Cote d'Ivoire	Gossé <i>et al.</i> , 2005
32	Sénégal	Faye, 2010
15,4 - 23,8	Mexique	Munoz-Valenzuela <i>et al.</i> , 2007

L'huile de neem est commercialisée pour ses multiples utilisations, allant des usages insecticides aux finalités industrielles (Anon, 1985). Impropre à la consommation à cause des nombreuses biomolécules actives qu'elle contient, à l'origine de son odeur âcre et de son amertume, l'huile de neem est également connue pour ses propriétés biocides (insecticides, antibactériennes, antifongiques, spermicides, antiseptiques, etc.) (**Tableau I-5**). Néanmoins, elle est inoffensive contre les animaux à sang chaud et l'Homme (Barrek *et al.*, 2002).

Tableau I-5 : Quelques espèces sensibles à l'action de l'huile de neem

Espèces	Références
<i>Nilaparvata lugens</i>	Heyde <i>et al.</i> , 1984)
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	Oliver-Bever, 1986)
<i>Vibrio cholera</i>	Oliver-Bever, 1986
<i>Bacillus subtilis</i>	Eppler, 1993; Jain <i>et al.</i> , 1987
<i>Salmonella typhi</i>	Chaurasia, 1978
<i>R. solani</i> , <i>S. rolfsii</i> , <i>S. sclerotiorum</i>	Singh <i>et al.</i> , 1980
<i>Heminthosporium nodulosum</i> ,	Jaganathan et Narasimhan, 1988
<i>Pyricularia oryzae</i>	Jaganathan et Narasimhan, 1988
<i>Meloidogyne incognita</i>	Devarkumar <i>et al.</i> , 1985
<i>Callosobruchus spp.</i>	Yadaw, 1985

De nombreuses applications thérapeutiques ont été décrites pour cette huile notamment dans le traitement traditionnel de maladies (Kaushik, 2002; Luo *et al.*, 1999; Morgan, 2009; Tewari, 1992). L'huile de neem est utilisée par exemple dans le traitement des troubles digestifs, des inflammations oculaires et auriculaires et des infections des voies respiratoires du type bronchite, des maladies liée aux parasites intestinaux, des problèmes respiratoires, de la constipation, du rhumatisme et des ulcères. Elle soigne également les infections de la peau (Schmutterer, 1995). Elle a été prouvée efficace dans la stabilisation du taux de sucre dans le sang (Kaushik, 2002) et pourrait aussi stimuler le système immunitaire (Schmutterer, 1995). L'huile de neem est aussi utilisée dans l'hygiène ou les soins vétérinaires (Kaushik, 2002; Schmutterer, 1995; Vijayalakshmi *et al.*, 1995).

L'huile de neem est très utilisée comme matière première dans la production des savons. Elle entre dans la fabrication et la formulation d'une variété de produits cosmétiques tels que les

shampoings antipelliculaires ou contre les poux, les pâtes dentifrices, les huiles corporelles, les répulsifs, les protecteurs solaires, les lotions antiseptiques pour lutter contre l'acné, l'eczéma, etc. (National Research Council, 1992). Outre son utilisation dans l'industrie pharmaceutique, l'huile de neem a aussi été étudiée en lipochimie pour la production d'esters méthyliques d'huile de neem comme biodiesel par transestérification (Radha et Manikandan, 2011) ou pour la fabrication de lubrifiants (Tewari, 1992). Cependant, ce sont surtout les propriétés insecticides associées à cette huile qui sont bien connues et exploitées.

En Inde, l'huile de neem est utilisée depuis très longtemps pour la lutte contre les insectes ravageurs de cultures et de stocks (Barrek *et al.*, 2002; Schmutterer, 1995). Et de nos jours, elle est utilisée dans la formulation de biopesticides surtout ceux à base d'azadirachtine (Schiffers *et al.*, 1997).

I.2.3. Les composés actifs de la graine de neem

Les propriétés thérapeutiques des extraits de graines et de l'huile de neem sont attribuées aux très nombreux métabolites de la famille des limonoïdes (**Figure I-4**) qu'ils contiennent (Addea-Mensah, 1998; Mordue et Blackwell, 1993; Schmutterer, 1990; Zongo *et al.*, 1993). Plusieurs triterpénoïdes porteurs d'un noyau furanique ont été isolés à partir des graines de neem (**Tableau I-6**) et leurs activités biologiques testées (**Tableau I-7**).

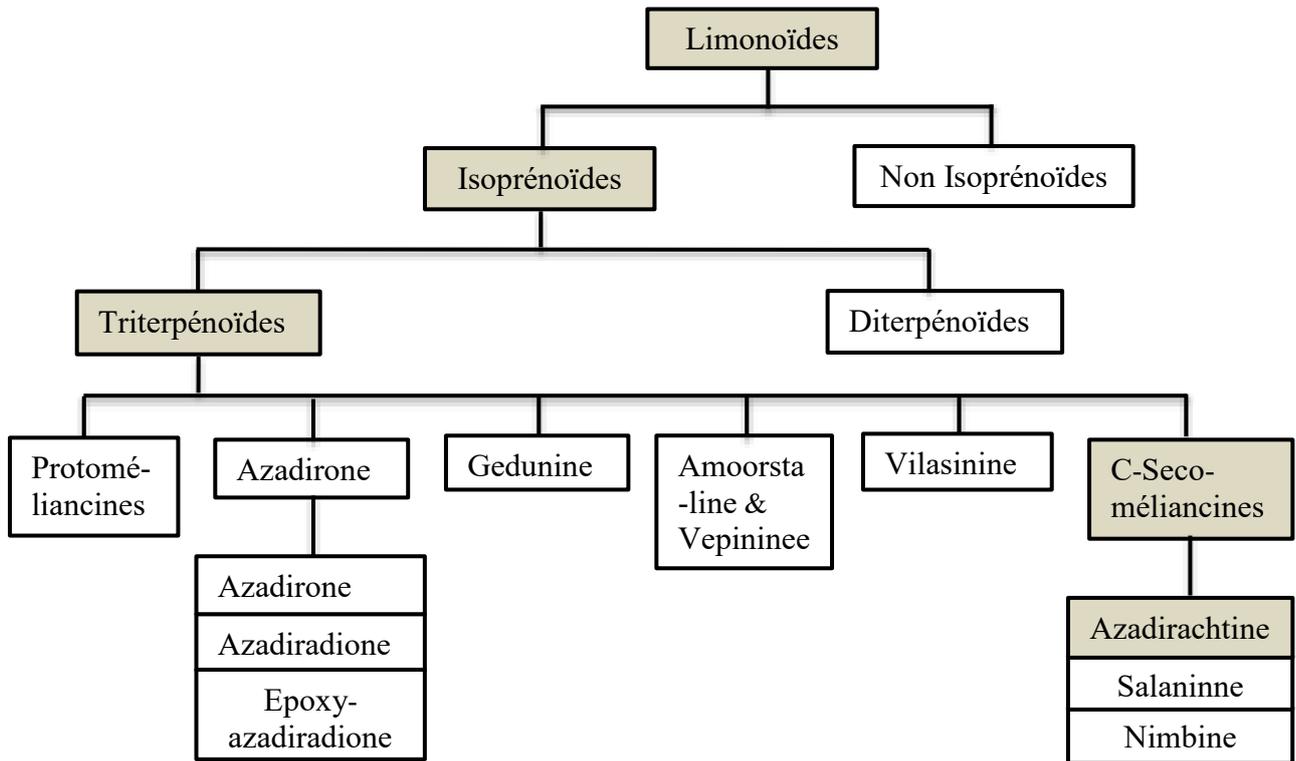


Figure I-4 : Diagramme de classification des composés du neem (Dai, 1999)

Tableau I-6 : Quelques limonoïdes isolés des graines de neem

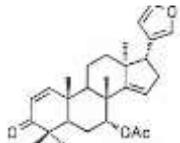
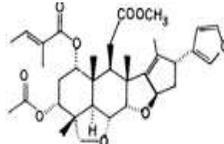
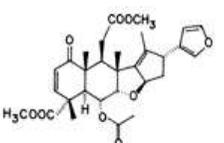
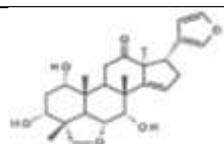
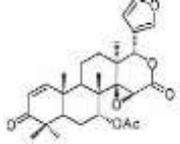
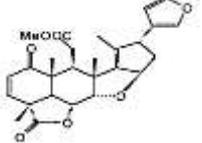
Nom du composé	Formule	Source	Activités biologiques	Références
Azadirone		Huile	Anorexique Antibactérien	Lavie et Jain, 1967 Lavie <i>et al.</i> , 1971
Salannine		Graine Huile	Anorexique Insecticide	Meisner <i>et al.</i> , 1981 Kubo <i>et al.</i> , 1986
Nimbine		Huile	Spermicide Antiinflammatoire, Antipyrétique Antiarthritique Antibactérien	Sharma and Saxsena, 1959 Okpanyi and Ezeuhwa, 1981 Pillai and Santhakumari, 1981
Nimbidine		Graine, Huile	Anorexique Antibactérien Antifongique	Siddiqui, 1942 (Kraus, 1995) Murthy and Sirsi, 1958
Gedunine et ses dérivés (7-diacétylgedunine, 7-benzoylgedunine)		Graine	Insecticide Antifongique Antipaludéen	Ishida <i>et al.</i> , 1992 Rao and Rao, 1977 MacKimon <i>et al.</i> , 1997
Nimbolide		Huile	Antibactérien Antipaludéen	Khalid <i>et al.</i> , 1989 Rojanapo <i>et al.</i> , 1985

Tableau I-6 (suite) : Quelques limonoïdes isolés des graines de neem

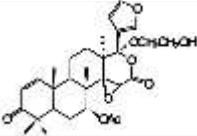
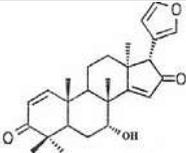
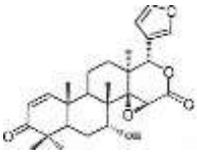
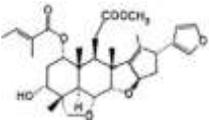
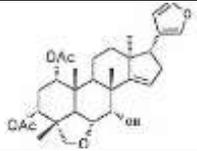
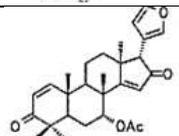
Nom du composé	Formule	Source	Activités biologiques	Références
Mahmoodine		Graine	Antibactérien	Siddiqui <i>et al.</i> , 1992
Déacétylazadirone		Graine Huile	Anorexique	Cramer, 1979
Déacétylguedunine		Graine	Anorexique Inhibiteur de croissance	Lavie et Jain, 1967 Lavie <i>et al.</i> , 1971
Déacétylsalannine		Graine	Anorexique Insecticide	Kraus et Bokel, 1981 Ishida <i>et al.</i> , 1992
Déacétylvilasinine		Graine Huile	Anorexique	Kraus et Bokel, 1981 Kraus, 1984 Kraus <i>et al.</i> , 1987, 1993
Azadiradione		Huile	Antibactérien	Lavie et Jain, 1967 Lavie et Levy, 1971

Tableau I-7 : Activités biologiques de limonoïdes des graines de neem

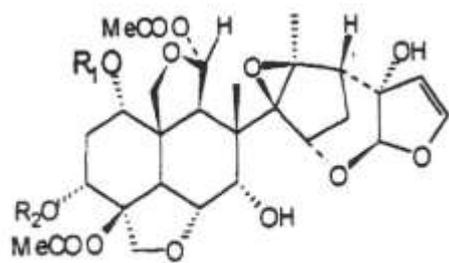
Composés et organismes testés	Activités biologiques	Références
Salannine		
<i>Earias insulana</i>	A 0,01%	Meisner <i>et al.</i> , 1981
<i>Epilachna varivestis</i>	A EC ₅₀ = 14 ppm	Schwinger, 1985
<i>Heliothis virescens</i>	G EC ₅₀ = 170 ppm	Kubo <i>et al.</i> , 1986
<i>Musca domestica</i>	A 100% à 1000 ppm	Warthen, 1979
<i>Popillia japonica</i>	A EC ₅₀ = ~280 ppm	Schwinger, 1985
<i>Acalymma vittatum</i>	A EC ₅₀ = 20 ppm	Reed, 1981
<i>Spodoptera frugiperda</i>	A ED ₅₀ = 13 µg.mL ⁻¹	Rajab <i>et al.</i> , 1988
<i>Spodoptera littroralis</i>	A EC ₅₀ = 0,01%	Meisner <i>et al.</i> , 1981
3-Déacétylsalannine		
<i>Epilachna varivestis</i>	A EC ₅₀ = 20 ppm	Schwinger, 1985
<i>Heliothis virescens</i>	A EC ₅₀ = 170 ppm	Kubo <i>et al.</i> , 1986
<i>Popillia japonica</i>	G EC ₅₀ = ~390 ppm	Schwinger, 1985
<i>Reticulitermes speratus</i>	A EC ₅₀ = 55,2 µg.mL ⁻¹	Ishida <i>et al.</i> , 1992
Guédunine		
<i>Epilachna varivestis</i>	A EC ₅₀ = 930 ppm	Lavie <i>et al.</i> , 1971
<i>Helicoverpa zea</i>	G EC ₅₀ = 50 ppm	Kubo <i>et al.</i> , 1986
<i>Ostrinia nubilalis</i>	A EC ₅₀ = 500 ppm	Arnason <i>et al.</i> , 1987
<i>Pectinophora gossypiella</i>	G EC ₅₀ = 32 ppm	Kubo <i>et al.</i> , 1986
<i>Popillia japonica</i>	A EC ₅₀ = 500 ppm	Schwinger, 1985
<i>Reticulitermes speratus</i>	A EC ₅₀ = 49 µg.mL ⁻¹	Kubo <i>et al.</i> , 1986
<i>Spodoptera frugiperda</i>	G EC ₅₀ = 47 ppm	Ishida <i>et al.</i> , 1992
Déacetylgedunine		
<i>Helicoverpa zea</i>	G EC ₅₀ = 165 ppm	Kubo <i>et al.</i> , 1986
<i>Spodoptera frugiperda</i>	G EC ₅₀ = 60 ppm	Kubo <i>et al.</i> , 1986
<i>Pectinophora gossypiella</i>	G EC ₅₀ = 22 ppm	Kubo <i>et al.</i> , 1986
Nimbine		
<i>Epilachna varivestis</i>	A EC ₅₀ = 50 ppm	Siddiqui, 1942 Narayanan <i>et al.</i> , 1964 Schwinger, 1985 Kraus <i>et al.</i> , 1993
6-Déacetylnimbine		
<i>Epilachna varivestis</i>	A EC ₅₀ = 50 ppm	Narayanan et Iyer, 1967 Schwinger, 1985
<i>Popillia japonica</i>	A EC ₅₀ = 100 ppm	Schwinger, 1985
<i>Reticulitermes speratus</i>	A EC ₅₀ = 28 µg.mL ⁻¹	Ishida <i>et al.</i> , 1992

Tableau I-7 (suite) : Activités biologiques de limonoïdes des graines de neem

Composés et organismes testés	Activités biologiques	Références
Azadirone		
<i>Epilachna varivestis</i>	A EC ₅₀ = 5500 ppm	Schwinger, 1984 Lavie et Jain, 1967 Schwinger, 1985
<i>Popillia japonica</i>	A EC ₄₅ = 5000 ppm	Schwinger, 1985
7-deacetylazadirone		
<i>Epilachna varivestis</i>	A EC ₅₀ = 500 ppm	Lavie et Jain, 1967 Cramer, 1979 Schwinger, 1985
Azadiradione		
<i>Epilachna varivestis</i>	A EC ₅₀ = 320 ppm	Lavie <i>et al.</i> , 1971 Schwinger, 1985 Schwinger, 1984
<i>Helicoverpa zea</i>	A EC ₅₀ = 250 ppm	Kubo et Klocke, 1986
<i>Heliothis virescens</i>	A EC ₅₀ = 560 ppm	Lee <i>et al.</i> , 1988
<i>Musca domestica</i>	A LC ₅₀ = 0,85 µg.mL ⁻¹	Siddiqui <i>et al.</i> , 1990b
<i>Spodoptera frugiperda</i>	A EC ₅₀ = 130 ppm	Lee <i>et al.</i> , 1988
<i>Pectinophora gossypiella</i>	A EC ₅₀ = 42 ppm	Kubo <i>et al.</i> , 1986
<i>Popillia japonica</i>	A EC ₅₀ = 5000 ppm	Schwinger, 1985
<i>Reticulitermes speratus</i>	A EC ₅₀ = 238 ppm	Ishida <i>et al.</i> , 1992

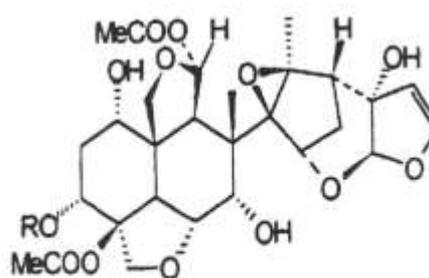
A = Activité Anorexique ; G = Inhibiteur de la Croissance ; EC = Concentration Effective ; ED = Dose Effective

Mais ce sont les triterpénoïdes et en particulier l'azadirachtine qui ont fait l'objet du plus grand nombre de travaux, tant du point de vue de leurs structures (**Figure I-5**) que de leurs activités biologiques (**Tableau I-8**).



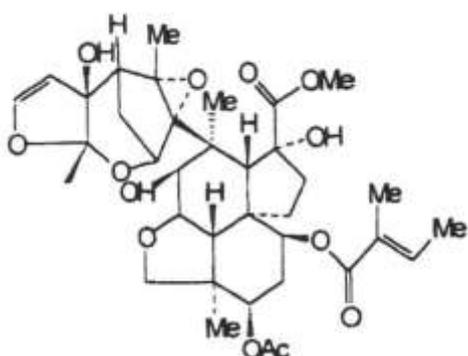
R1 = Tig; R2 = Ac

(1)

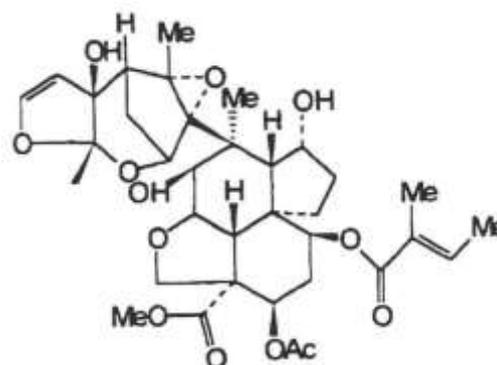


R = Tigloyl

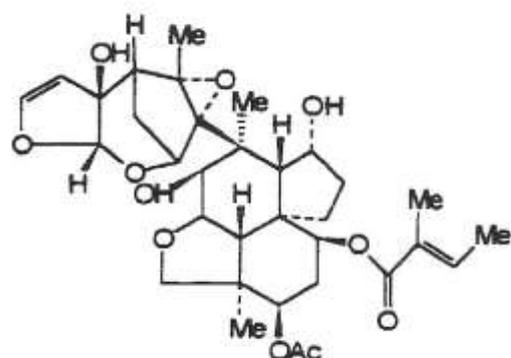
(2)



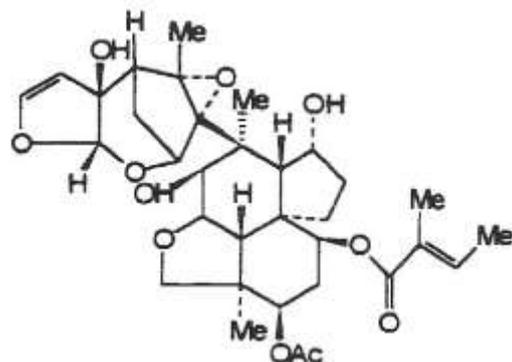
(3)



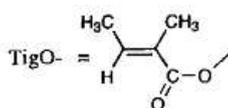
(4)



(5)



(6)



AcO- = CH₃COO-

Figure I-5 : Structure de l'azadirachtine A (1) et de ses dérivés [azadirachtine B (2), azadirachtine C (3), azadirachtine D (4), azadirachtine H (5) et azadirachtine I (6)] (Dai, 1999)

Tableau I-8 : Activités biologiques de l'azadirachtine A et de ses dérivés (Dai, 1999; Kraus, 1995)

Composés	Activités biologiques		Références
Azadirachtine A			
<i>Acricotopus lucidu</i>	G	100% à 1µg/mL	Butterworth et Morgan, 1968
<i>Epilachna varivestis</i>	A	EC ₅₀ = 13 ppm	Kraus <i>et al.</i> , 1985, 1987
	G	LC ₅₀ = 1,66 ppm	Kraus <i>et al.</i> , 1993; Schwinger, 1984, 1985
<i>Helicoverpa zea</i>	G	EC ₅₀ = 0,7 ppm	Rembold, 1989
<i>Heliothis virescens</i>	G	ED ₅₀ = 0,7 ppm	Kubo et Klocke, 1982
<i>Oncopeltus fasciatus</i>	G	EC ₅₀ = 0,07 ppm	Kubo et Klocke, 1982
	(T) G	ED ₅₀ = 3,5 ng	Yamasaki et Klocke, 1987
<i>Peridroma saucia</i>	A	EC ₅₀ = 8,0 ng/cm ²	Isman <i>et al.</i> , 1990
<i>Schistocerca gregaria</i>	(F) G	ED ₅₀ = 0,26 ppm	Isman <i>et al.</i> , 1990
	(F) A	100% à 0,07 ppm	Butterworth et Morgan, 1968
<i>Spodoptera frugiperda</i>	G	EC ₅₀ = 0,08 ppm	Kubo et Klocke, 1982
	L	LC ₅₀ = 1,00 ppm	Lee <i>et al.</i> , 1991
<i>Spodoptera littoralis</i>	A	EC ₅₀ = 0,07 ppm	Klinge, 1985
Azadirachtine B			
<i>Epilachna varivestis</i>	(T) G	70% à 0,01 µg	Schwinger, 1985
	(F) G	85% à 2 ppm	Schwinger, 1985
<i>Heliothis virescens</i>	L	LC ₅₀ = 0,80 ppm	Kubo <i>et al.</i> , 1986
<i>Spodoptera littoralis</i>	G	EC ₅₀ = 0,17 ppm	Kubo <i>et al.</i> , 1986
	FI	97% à 1 ppm	Kraus, 1995
Azadirachtine E			
<i>Epilachna varivestis</i>	(T) G	EC ₅₀ = 0,57 ppm	Rembold, 1989
Azadirachtine G			
<i>Epilachna varivestis</i>	G	EC ₅₀ = 7,69 ppm	Kraus, 1995
Azadirachtine L			
<i>Epilachna varivestis</i>	(F) G	EC ₅₀ = 0,25 ppm	Kraus, 1995

EC = Concentration Effective ; LC = Concentration Limite ; (F) = Application sur l'Appétit ;
 FI = Inhibiteur de l'Appétit ; G = Inhibiteur de la Croissance ; A = Activité Anorexique ;
 L = Activité Larvicide ; (T) = Application Tropicale ; ED = Dose Effective

Parmi les 11 structures moléculaires isolées et identifiées (Butterworth et Morgan, 1968, 1971; Govindachari *et al.*, 1991; Rembold *et al.*, 1984), c'est l'azadirachtine A qui est majoritaire 85% (Dai, 1999) et c'est à elle qu'on fait référence lorsque l'on parle d'azadirachtine (Dai, 1999). Sa teneur dans les graines de neem varie considérablement selon les régions, les conditions climatiques, les conditions du sol et le génotype de l'arbre (Ermel *et al.*, 1987; Singh, 1986). Kraus, (1995) a étudié la teneur en azadirachtine dans les amandes de graines de neem de 27 pays : la plus forte teneur en azadirachtine est celle des échantillons provenant du Sud et du Sud-Est de l'Asie tels que l'Inde, le Myanmar et la Thaïlande. Les échantillons provenant de pays comme le Soudan, la Somalie, le Mali, le Niger, dont les températures sont extrêmement élevées pendant l'été contiennent moins d'azadirachtine. Il a été suggéré par Ermel *et al.*, (1987) que la combinaison de hautes températures et d'humidités relatives élevées avait la plus forte influence négative aussi bien sur la qualité des graines que sur leur teneur en azadirachtine.

Considéré depuis la mise en évidence de ses propriétés inhibitrices de la croissance chez les insectes en 1972, comme le composé le plus actif du neem, l'azadirachtine possède des activités insecticides et répulsives sur plus de 200 espèces d'insectes de 6 ordres différents (Schmutterer, 1995). Ses propriétés inhibitrices de la croissance ont été prouvées pour la première fois par Schmutterer et Rembold (1980).

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 leur métamorphose, c'est-à-dire le passage du stade larvaire à l'âge adulte. Il affecte le *corpus cardiacum*, qui contrôle la sécrétion des hormones. Le changement morphologique requiert une synchronisation aiguë des nombreuses hormones et d'autres changements physiologiques. L'azadirachtine bloque l'ecdysone, la sécrétion des hormones vitales et la croissance des insectes. Il bloque ainsi la mue des insectes, et c'est ce qui freine leur cycle de vie. Ces effets ont été observés chez plusieurs familles d'insectes à savoir les Lépidoptères (papillons), les Diptères (mouches, taons, moustique, etc.), les Orthoptères (sauterelles, criquets, etc.), les Hyménoptères (très faibles pour les abeilles) et certaines espèces de pucerons (Mouffok *et al.*, 2008). La DL₅₀ varie selon les espèces de 1 à 4 µg d'azadirachtine par gramme d'insectes (Mordue et Blackwell, 1993). D'autres études de relation structure-activité ont prouvé l'activité anorexique de l'azadirachtine, inhibant la croissance des insectes et conduisant à des

malformations ou à la mort (Barrek *et al.*, 2002). L'effet de ce composé sur les insectes se résume en trois points essentiels :

- il bloque la sécrétion hormonale et arrête le développement morphogénétique de l'insecte ;
- il agit par le biais de la respiration sur pratiquement tous les tissus de l'insecte (tissus musculaires, nerveux, glandulaires) et en conséquence l'insecte perd la coordination de ses mouvements et le contrôle de son corps ;
- il agit comme un agent anorexique, et dans ce cas l'insecte ne mange pas et meurt (Barrek *et al.*, 2002).

Cependant, même si l'azadirachtine possède une grande activité insecticide, il ne montre pas de phytotoxicité apparente et est considéré comme non toxique pour la plupart des êtres vivants (Ley *et al.*, 1993).

En conclusion, le neem et le dattier du désert sont deux arbres complémentaires offrant de multiples perspectives pour une exploitation écoraisonnée de la ressource qu'ils pourraient constituer, au Sénégal en particulier, et plus généralement en Afrique subtropicale :

- Leur adaptation à des conditions pédoclimatiques difficiles en fait des cibles de choix pour lutter contre la désertification et la déforestation, promouvoir la stabilisation des sols et une meilleure gestion de l'eau sur des territoires arides ou propices à une agriculture productive pour l'alimentation humaine. Déjà implantés dans des zones d'habitats, ces deux arbres font partie de la culture des populations locales et sont exploités pour des usages traditionnelles voire artisanales.
- L'intensification de leur sylviculture, comme cela a déjà été fait pour le neem, en particulier en Afrique dans les régions de la frange méridionale du Sahara (National Research Council, 1992) fournira au long court du bois d'œuvre et du charbon de bois. Mais ce sont les fruits, dans le cas des deux arbres qui pourraient constituer une ressource annuelle dans le cas de vergers extensifs, organisés pour leur récolte, comme le sont par exemple les oliveraies.
- Aussi, si l'exploitation des fruits n'a fait l'objet que sur des travaux en dehors d'usages traditionnels, voire artisanaux dans le cas du dattier du désert, celle des graines de neem a été longtemps développée, en raison des propriétés insecticides de l'azadirachtine qu'elles contiennent. En effet, considérée comme l'une des biomolécules les plus prometteuses dans la lutte contre les insectes ravageurs (Mordue et Blackwell, 1993; Schmutterer, 1990; Zongo *et*

al., 1993), l'azadirachtine est déjà présente sur le marché commercial sous forme de formulation biopesticide (**Tableau I-9**).

Tableau I-9 : Quelques formulations de biopesticides à base d'azadirachtine

Nom commercial	Teneur en azadirachtine	Fabriquant	Pays	Références
Azatin®	0,1%	W.R. Grace Co.	USA	Dai, 1999
Align™	3%	Agridyne Technologies Inc.	USA	Dai, 1999
RH 99	20%	Rhom and Hass Co.	USA	Dai, 1999
Limonool®	0,03%	Bio Multi-tech (Pvt) Ltd.	Inde	Kumar <i>et al.</i> , 2003
Neem-EC	4%	Phero Tech Inc.	Canada	Dai, 1999
Fortune Aza®	3%	Fortune Biotech Lab	Inde	Kumar <i>et al.</i> , 2003
NeemAzal TM-F	5%	EID Parry Ltd.	Inde	Kumar <i>et al.</i> , 2003
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	Faye, 2010
NeemAzal Technical	25%	EID Parry Ltd.	Inde	Dai, 1999
Green Gold	0,3-90%	-	Australie	Dai, 1999
NeemAzal-F	5%	Trifolio-M	Allemagne	Dai, 1999

Cependant, comme pour de nombreuses autres biomasses, malgré la valeur ajoutée que peuvent apporter les composés actifs des graines, leur proportion très minoritaire dans la matière première impose d'intégrer leur extraction et leur purification dans un schéma de fractionnement permettant la valorisation des autres constituants pour assurer le développement d'une filière de transformation économiquement et écologiquement durable.

I.3. Les procédés de fractionnement des graines

Il existe de nombreux exemples de procédés de fractionnement de graines sont adaptés à leur structure morphologique et à leur composition , en fonction des extraits et des raffinats ciblés pour leurs applications. Leurs domaines d'applications sont aussi variés que l'agroalimentaire (farines et amidons de céréales, huiles d'oléagineux, concentrés et isolats protéiques de protéagineux, fibres de son et tourteaux pour l'alimentation animale, etc.), la chimie (synthèse pour la sucrochimie, la lipochimie ou la protéochimie), la parachimie (huiles essentielles et extraits aromatiques, gommes et résines, composés actifs, antioxydants, colorants, etc.) pour la cosmétique et la pharmacie, l'énergie (huiles et esters méthyliques carburants) et les matériaux (biopolymères thermoplastiques et résines thermodurcissables). En général, ces procédés mettent en œuvre une succession d'opérations élémentaires, réalisées dans des appareillages spécialisés (**Tableau I-10**), dont l'enchaînement définit le schéma du fractionnement de la graine aux différentes échelles, de ses organes à ses contenues moléculaires (**Figure I-6**)

Tableau I-10 : Opérations de fractionnement des graines (Amalia Kartika, 2005 ; Colas, 2012 ; Evon, 2008 ; Faye, 2010 ; Lacaze-Dufaure, 1998 ; Maréchal, 2001 ; Raynal-Ioualalen, 1996 ; Sriti, 2011 ; Vandebossche, 1998)

Etape du fractionnement	Echelle	Nature des actions	Opérations élémentaires	Appareillages types	Objectif	Produits	Exemples types
Primaire	Macroscopique, organes et tissus cellulaires	Mécanique	Broyage, Classage	Broyeurs à marteaux, à meule, à couteau, tamis, cyclones	Séparation des enveloppes amandes, Réduction et sélection taille et forme des particules	Farine d'amande granulats fibreuses	Meunerie des graines de céréales
Secondaire	Microscopique, parois et contours cellulaires	Thermo-mécanique	Pressage	Presse hydraulique, Meule, Presse à vis	Expression des phases liquides incluses dans le solide	Jus sucré, huile, tourteau, pulpe	Trituration des graines oléagineuses
Tertiaire	Moléculaire, Assemblages constituants moléculaires	Physico-chimique	Extraction solide/liquide	Contacteur et séparation liquide-solide	Extraction et séparation en extrait liquide et raffinat solide	Extraits métaboliques, glucidiques, protéiques, lipidiques	Amidonnerie graines de céréales, Huilerie oléagineuse, Protéinerie, Huile essentielle

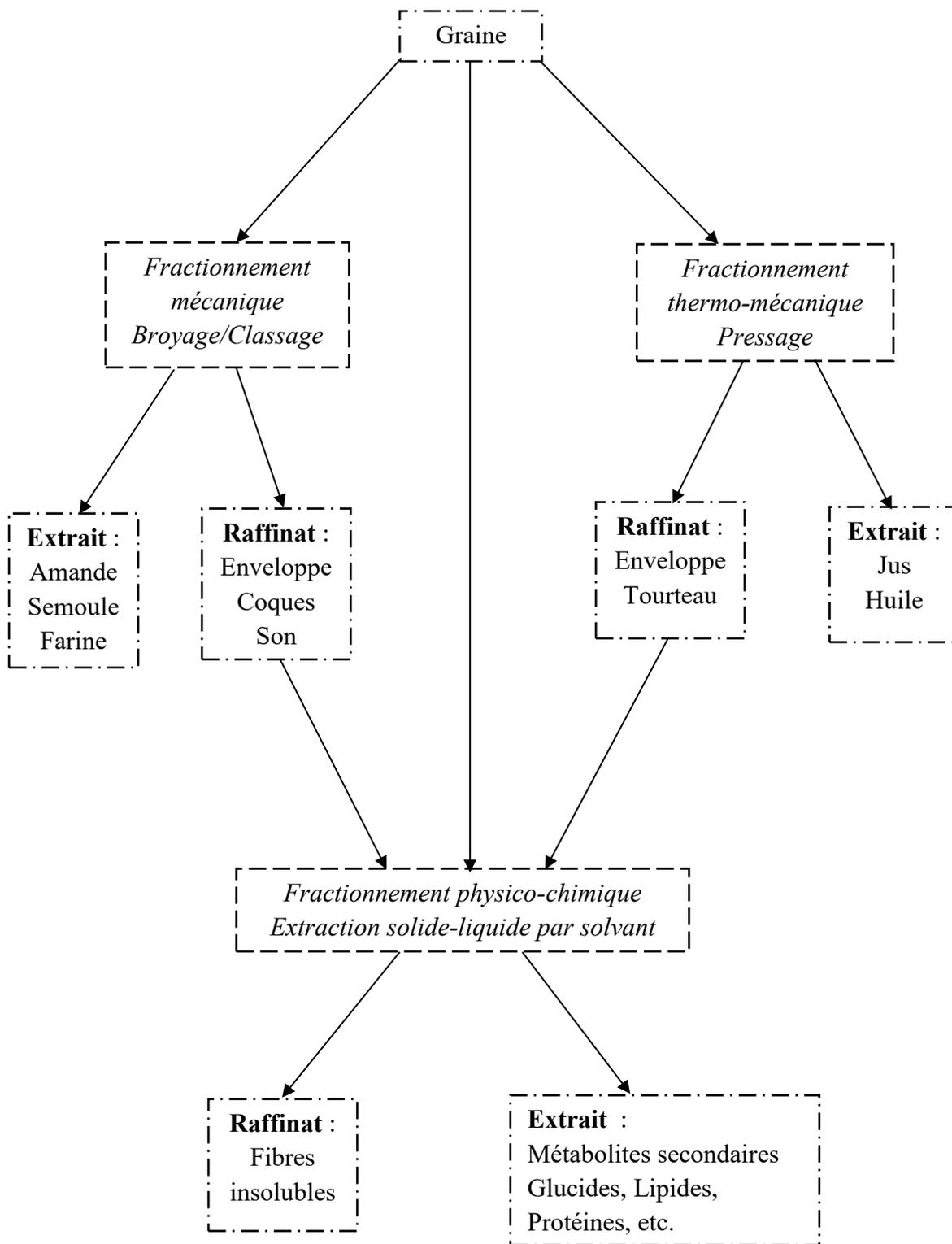


Figure I-6 : Schéma de fractionnement de graines

I.3.1. Le fractionnement mécanique par broyage et classification

C'est une étape de fractionnement primaire qui permet la séparation des fractions fibreuses que constituent les enveloppes des graines avec leurs amandes. Un exemple est celui du décorticage des graines de tournesol sous lequel les amandes, riches en lipides et protéines sont séparées des coques, essentiellement ligno-cellulosiques, dans des broyeurs à friction ou percussion (Bazus, 1991). Un autre exemple bien connu est celui de la meunerie des graines de céréales dans lequel le broyage par compression et cisaillement entre des cylindres en rotation est couplé à la sélection des particules par tamisage, conduisant à la séparation des sons et des semoules, et des farines riches en amidon. Ce fractionnement mécanique, agissant à l'échelle macroscopique des tissus cellulaires des graines pour séparation, peut aussi être une étape de préparation pour l'extraction des constituants en réduisant la taille des particules pour favoriser les échanges avec le solvant d'extraction.

I.3.2. Le fractionnement thermomécanique par pressage

Le fractionnement thermomécanique permet d'exprimer à travers les parois cellulaires, les constituants des contenus cellulaires présents sous forme liquide, comme les triglycérides et les lipides associés dans les inclusions lipides et/ou solubilisés dans l'eau cellulaire à la température de la compression, comme les sucres, les protéines hydrosolubles ou certains métabolites secondaires. Traditionnellement pratiquée dans des moulins à meules rotatives exerçant la compression des graines sur un sol fixe collectant le liquide exprimé, le fractionnement thermomécanique est l'étape de la trituration des graines oléagineuses dans les huileries industrielles réalisée dans des presses monovis à fourreau filtrant (Amalia Kartika, 2005). L'apport thermique qui peut résulter d'une étape de pré-cuisson des graines, est surtout lié aux forces de friction dans la presse, pouvant même nécessiter son refroidissement pour contrôler la température de pressage. Il produit alors un extrait sous forme d'huile de pressage, dont le rendement et la pureté sont fonction des conditions de température et de pression, de l'humidité des graines (co-entraînement d'hydrosolubles) et de la sélectivité du système filtrant (entraînement des particules solides) et un raffinat solide, sous forme d'un tourteau enrichi en protéines et qui contient les fractions pariétales insolubles de l'amande et les fibres des enveloppes des graines lorsqu'elles n'ont pas été décortiquées au préalable. Bien qu'il existe des presses à haute performance, permettant d'atteindre des rendements en huile de l'ordre de 95%, les tourteaux obtenus ne sont en général pas totalement délipidés dans les

huileries industrielles, dans lesquelles l'étape de pressage est réalisée avec des prépresses à haut débits minimisant l'énergie consommée, en préalable à l'extraction solide-liquide en solvant des tourteaux contenant encore 15 à 20% de lipides. Le fractionnement thermomécanique, agissant à l'échelle microscopique de la cellule et de ses contenus, peut donc être considéré comme une étape de fractionnement secondaire des graines ou de leurs amandes, conduisant à un extrait liquide concentré de constituants liquides et un raffinat solide, sans nécessiter un apport de solvants. Cependant, la teneur en eau des graines étant en général faible, de l'ordre de 10% pour une bonne conservation, l'extraction de composés hydrosolubles par pressage est limitée, et ce fractionnement est essentiellement appliqué aux graines oléagineuses. Dans le cas de la graine de neem non décortiquée et séchée à 91% de matière sèche, le pressage monovis du type OMEGA 20 a permis d'obtenir une huile avec un rendement de 47% par rapport à la matière sèche de la graine, correspondant à 65% de sa teneur en lipides, déterminée par extraction au cyclohexane (Faye, 2010). Lorsque la teneur en lipide est faible, comme par exemple dans le cas du soja, l'extraction par solvant est menée directement, sans pressage.

I.3.3. Le fractionnement physico-chimique par extraction et séparation solide-liquide

Ce fractionnement permet, par diffusion d'un solvant à travers l'assemblage de tissus cellulaires constitutifs de la graine et des parois, et membranes de leurs cellules, de solubiliser des constituants moléculaires, de les extraire de l'édifice insoluble dans le solvant et de les séparer du solide résiduel. Le choix du solvant est déterminant pour le rendement et la sélectivité de l'extraction du ou des constituants ciblés dans la graine, mais aussi sur les cinétiques de leur diffusion dans le solide et les conditions de mise en œuvre du procédé d'extraction solide-liquide :

- La polarité du solvant, traduite par sa constante diélectrique ϵ , et plus précisément ses paramètres de solubilité de Hansen (Chemat, 2011) reliés aux interactions dispersives δ_d , polaires δ_p et aux liaisons hydrogènes δ_h , permettent d'apprécier son affinité pour les familles des agroconstituants et d'orienter la sélectivité de l'extraction (**Figure I-7**). Les paramètres de solubilité d'une molécule à extraire peuvent être théoriquement calculés par modélisation à partir de la méthode des contributions de groupes (Hansen, 1967a, 1967b) et l'aptitude d'un solvant à la solvatisation des groupements chimiques peut être évaluée par la proximité des paramètres de solubilité. Toutefois, de nombreux autres facteurs interviendront sur la

solubilité des constituants comme la masse molaire, le degré de polymérisation des biopolymères, leur configuration et leurs interactions avec les autres constituants.

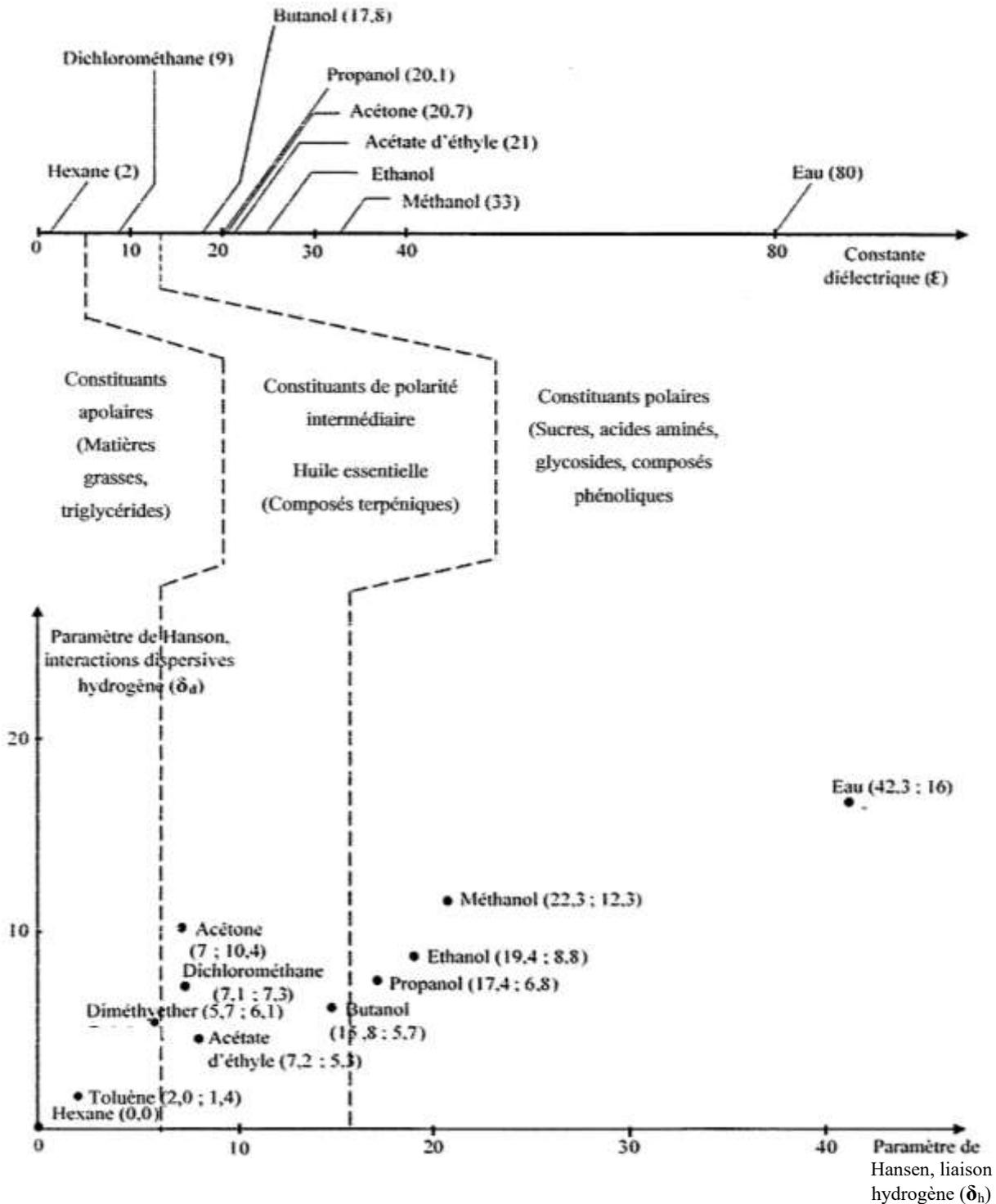


Figure I-7 : Polarité et paramètre de solubilité de Hansen (Hansen, 2007) des principaux solvants utilisés en extraction solide-liquide du végétal

- La viscosité du solvant et du système soluté-solvant conditionne la diffusion dans le solide et les équilibres de partage solide-liquide. En plus de la viscosité, sensible à la température, les interactions solvant-solide, en particulier du type hydrophobe-hydrophile, agissent aussi sur les cinétiques de diffusion dans le solide et les rendements de séparation liquide-solide.
- La température d'ébullition du solvant est aussi un critère de sélection par rapport aux conditions opératoires de l'extraction solide-liquide. Et dans la perspective de la mise en œuvre du procédé à plus grande échelle, la recyclabilité du solvant (coût énergétique et impact en émission de C.O.V), sa dangerosité (inflammabilité et explosivité) ainsi que sa toxicité sont autant de critères qui devront être pris en considération pour la récupération des extraits concentrés ou sèches et des raffinats solides désolvantés. Ces contraintes sur la mise en œuvre des solvants d'extraction du végétal, renforcées aujourd'hui par une forte législation et la prise en compte des Analyses de Cycle de Vie (ACV) au niveau des procédés et produits pour un développement durable, ont motivé la recherche de nouveaux solvants alternatifs aux solvants d'origine pétrochimique les plus utilisés (hexane, cyclohexane, méthanol, dichlorométhane et acétone) en raison de la large gamme de polarité et de paramètres de solubilité qu'ils recouvrent, de leur disponibilité industrielle et de leur coût modéré. Les agrosolvants ainsi appelés car ils sont obtenus à partir d'une matière première renouvelable (**Tableau I-11**), les liquides ioniques et les fluides ou liquides à l'état sub ou supercritique ont ainsi été étudiés dans une démarche d'éco-extraction du végétal (Vian *et al.*, 2011). Mais outre l'eau et à l'exception de l'éthanol, déjà largement utilisé pour l'extraction de composés bioactifs polaires dans l'industrie agroalimentaire et cosmétique du fait de sa moindre toxicité que le méthanol, la mise en œuvre des agrosolvants pour le fractionnement par extraction des graines est peu décrite et reste pénalisée par leur coût.

Tableau I-11 : Exemples d'agrosolvants substituables aux solvants pétrochimiques

Agrosolvant	Origine	Polarité et équivalence solvant	Remarques
• Eau	▪ Naturelle	▪ Polaire ($\delta_p = 16$) ▪ Très protique ($\delta_h = 42,3$)	▫ Sans équivalent ▪ Température d'ébullition assez élevée (100°C). ▪ Très disponible.
• Bioéthanol	▪ Fermentation des hexoses et pentoses.	▪ Polaire ($\delta_p = 8,8$) ▪ Protique ($\delta_h = 19,4$)	▫ Méthanol ▪ Température d'ébullition peu élevée (78,4°C). ▪ Miscible à l'eau, azéotrope eau (4,4%), éthanol (95,6%). ▪ Disponible
• Butanol (Acétone, Ethanol). • Acétate d'éthyle. • Esters d'acide lactique (ex Lactate d'éthyle).	▪ Fermentation ABE. ▪ Rectification mélange. ▪ Fermentation lactique et estérification. ▪ Fermentation glucose et estérification.	▪ Faiblement polaire ($\delta_p = 5,7$) ▪ Protique ($\delta_h = 15,8$) ▪ Faiblement polaire et protique ($\delta_p = 5,3$; $\delta_h = 7,2$). ▪ Peu polaire ($\delta_p = 5,3$) ▪ Peu protique ($\delta_h = 12,5$)	▫ Propanol ▫ Dichlorométhane ▫ Hexanol ▫ Décanol ▪ Coût de production et disponibilité. ▪ Température d'ébullition peu élevée (77°C). ▪ Coût de production et disponibilité. ▪ Température d'ébullition (154°C).
• Esters d'acide succinique (ex Diméthylsuccinate)	▪ Fermentation et estérification.	▪ Polaire ($\delta_p = 11,3$) ▪ Peu protique ($\delta_h = 9$)	▫ Acétone ▪ Coût de production et disponibilité. ▪ Température d'ébullition élevée.
• Esters d'acides gras (ex Oléate de méthyle)	▪ Hydrolyse des triglycérides et estérification (purification).	▪ Apolaire ($\delta_p = 3,8$) ▪ Aprotique ($\delta_h = 4,5$)	▫ Hexane ▪ Coût de production, acides gras purifiés. ▪ Température ébullition très élevée (218°C).
• Furfural	▪ Cyclodeshydratation des pentoses.	▪ Polaire ($\delta_p = 14,5$) ▪ Peu protique ($\delta_h = 5$)	▫ Acétone ▪ Toxicité ▪ Point d'ébullition élevé (162°C).
• Térébinthines (pimènes)	▪ Distillation résine du bois.	▪ Peu polaire ($\delta_p = 4,3$) ▪ Aprotique ($\delta_h = 0$)	▫ Hexane ▪ Disponibilité (usages courants) ▪ Température d'ébullition élevée (155°C). ▪ Toxicité milieux aquatiques.

Tableau I-11 (suite) : Exemples d'agrosolvants substituables aux solvants pétrochimiques

Agrosolvant	Origine	Polarité et équivalence solvant		Remarques
• d-Linomènes	▪ Extraits d'huiles essentielles d'agrumes.	▪ Apolaire ($\delta_p = 1,8$). ▪ Aprotique ($\delta_n = 4,3$).	▫ Hexane	▪ Température d'ébullition élevée (176°C). ▪ Toxicité milieux aquatiques. ▪ Disponibilité (usages courants).
• Glycérol	▪ Co-produit de transestérification de triglycérides.	▪ Polaire ($\delta_p = 12,1$). ▪ Protique ($\delta_n = 29,3$).	▫ Méthanol ▫ Eau	▪ Température d'ébullition élevée (290°C). ▪ Disponibilité (usages courants). ▪ Non toxique. ▪ Miscible à l'eau.
• Liquides ioniques	▪ Synthèses organiques.	▪ Modifiable en fonction des besoins).	▫ Variable	▪ Température d'ébullition élevée et variable. ▪ Toxicité mal connue. ▪ Disponibilité (usages courants).

- Le bioéthanol est en plein développement avec des procédés de deuxième génération (éthanol et cellulose) et est considéré comme non concurrent de la filière alimentaire (éthanol à partir de sucres).
- Les esters méthyliques d'acides (acide lactique, succinique et acides gras) ne devraient pas être considérés comme de vrais agrosolvants dans la mesure où le méthanol n'est pas agrosourcé (pas de filière de production de biométhanol).
- Les Esters Méthyliques d'Huiles Végétales (EMHV) peuvent être considérés comme des agrosolvants, mais peu de données chiffrées sont disponibles sur leur polarité (ce sont des mélanges) et par ailleurs leur séparation (point d'ébullition élevé) est difficile. Les EMHV ont très peu d'exemples d'utilisation en tant que solvant. Il existe peu de données toxicologiques publiées sur les EMHV, généralement considérés de part leur structure comme étant de faible toxicité. Il semblerait cependant qu'ils puissent irriter de façon légère à modérée la peau et les yeux (Diallo *et al.*, 2010).
- Le furfural peut donner d'autres molécules dérivées (THF, alcool furfurique) mais le coût de transformation risque de pénaliser la fonction solvant. Et ces molécules sont réputées toxiques.
- Le glycérol peut être considéré comme un agrosolvant, mais il n'y a pas de données sur sa polarité ; c'est un solvant très hygroscopique et difficile à séparer de l'eau, visqueux et de point d'ébullition élevé.
- Les esters d'acide citrique pourraient être intéressants mais sont peu cités.
- Les liquides ioniques sont devenus des agrosolvants utilisés dans le génie des procédés en tant que thermofluides ou comme solvants de séparation ou d'extraction par la nécessité de mettre au point des procédés plus respectueux de l'environnement (Gutel, 2007). Ils présentent un risque de toxicité considérablement réduit.

Le CO₂ supercritique, qui peut se substituer à l'hexane pour l'extraction des composés polaires, possède d'excellentes propriétés de transport et présente l'avantage d'une séparation facile d'avec le solide, mais aussi des solutés. Il est déjà largement utilisé pour des applications industrielles en agroalimentaire, en cosmétique et pharmacie (Reverchon, 1997) (**Tableau I-12**).

Tableau I-12 : Principales applications agroalimentaires, cosmétiques et pharmaceutiques de l'extraction solide par CO₂ supercritique (Chemat, 2011)

Applications	Matières premières	Objectifs
Agroalimentaire	Café vert/torréfié	Décaféination
	Thé en feuille	Déthéination
	Houblon	Principes amérisants de la bière
	Epices broyés	Extraction d'épices, de pigments et d'arômes naturels, de colorants, de corps gras
	Plantes aromatiques	
	Algues	
	Cellules végétales	
	Orge, avoine, blé, riz	Mélanges de corps gras
	Graines oléagineuses	Huiles à haute valeur ajoutée
Liège	Désodorisation	
Pharmacie	Plantes médicinales	Récupération de biomolécules
Cosmétique	Principes actifs	Purification, élimination de solvants

Toutefois, il nécessite la mise en œuvre d'extracteurs spécifiques sous haute pression ayant des coûts d'investissement élevés. L'eau à l'état subcritique, dont la polarité peut être modulée en fonction du couple température-pression, permet d'extraire efficacement des constituants métaboliques comme certains composés terpénoïdes ou phénoliques (Celhay, 2013; Ozel *et al.*, 2003; Yang *et al.*, 2007), mais outre les coûts d'investissement liés à la pressurisation de l'eau, les températures élevées de l'extraction s'avèrent inadaptées aux composés thermolabiles.

L'opération d'extraction solide-liquide est menée dans différents types de contacteurs adaptés au dimensionnement des installations industrielles, fonctionnant en continu ou en séquence à co-courant ou contre-courant du solide et du liquide, en immersion totale du solide dans le liquide, ou en percolation du liquide sur un lit de solide (Lalou, 1995; Leybros et Frémeaux, 1990). La séparation liquide-solide est alors obtenue par simple décantation ou filtration, assistée mécaniquement ou non (décantation centrifuge, filtration centrifuge, filtration pressage, etc.). La granulométrie du solide et le ratio liquide-solide sont alors deux facteurs importants pour les cinétiques de diffusion, mais aussi pour le choix de la technologie du contacteur et du séparateur liquide-solide. Plusieurs techniques d'intensification des procédés d'extraction pour illustrer les différents types d'extracteur du végétal sont aujourd'hui accessibles pour minimiser les volumes de solvant, accélérer les processus de diffusion et

minimiser les coûts énergétiques (Kassing *et al.*, 2009; Lalou, 1995; Leybros et Frémeaux, 1990).

L'intensification des échanges de matières pour l'extraction de constituants est obtenue par déstructuration du solide (détente instantanée contrôlée, flash détente, explosion à la vapeur, champs électriques pulsés) et/ou par un mode de transfert d'énergie spécifique (ultrasons, microondes, induction électromagnétique direct) (**Tableau I-13**).

Une alternative à ces méthodes d'intensification des procédés de fractionnement par extraction solide-liquide est la mise en œuvre de la technologie bi-vis.

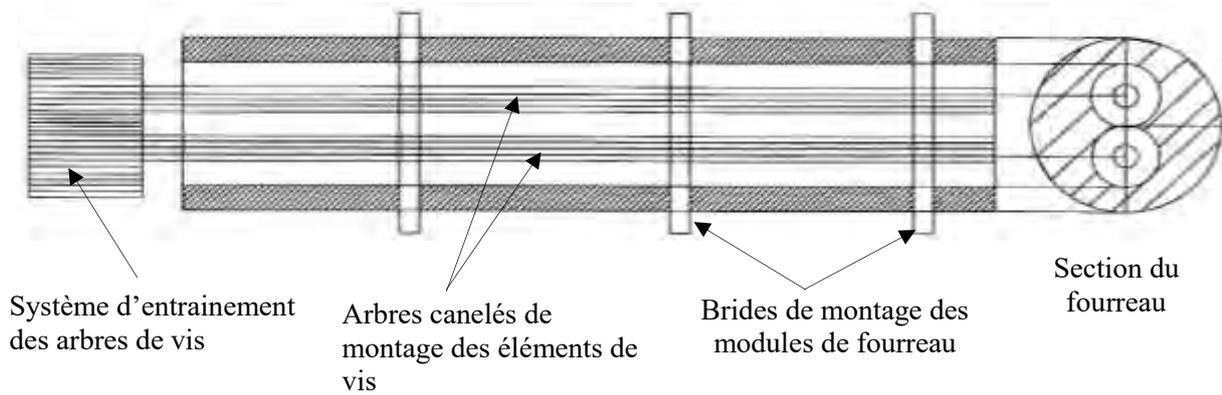
Tableau I-13 : Principales techniques d'intensification de l'extraction solide-liquide du végétal (Ben Amor, 2008; Chemat, 2011; Lagunez Rivera, 2006; Mellouk, 2009; Michel, 2011; Penchev, 2010)

Techniques	Principe	Effets sur le solide	Exemples d'application
Extraction assistée par ultrasons	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Envoyer des ondes ultrasoniques (16 kHz à 1 GHz) dans le solide ou mélange (S-L), générant des vibrations au sein de celui-ci. 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Perce les parois cellulaires, facilitant le transfert de matière et la libération de leur contenu. 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Extraction de carvone et limonène dans des graines de carvi. ▪ Extraction d'huile des graines de soja.
Extraction assistée par micro-ondes	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Envoyer des microondes (0,3 GHz à 30 GHz, généralement 2,45 GHz) dans le solide ou mélange (S-L). 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Entraîne le chauffage de la matrice solide, favorisant la rupture des cellules et facilitant la libération des solutés de la matrice solide. 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Extraction d'huile des graines de tournesol. ▪ Extraction d'huile des graines d'arachide.
Extraction assistée par Induction Thermo-Magnétique Directe (ITMD)	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Chauffer le milieu d'extraction solide-liquide par du courant induit. 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Augmente la perméabilité des parois cellulaires du solide par dénaturation. 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Extraction par hydro distillation de l'huile essentielle des graines de carvi.
Extraction par Détente Instantanée Contrôlée (DIC)	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Traitement thermique de courte durée sous haute pression et haute température suivie d'une détente très rapide vers le vide. 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Produit une force mécanique capable de causer des déformations structurales du solide, augmentant sa perméabilité. 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Extraction d'oligosaccharides des graines de <i>Tephrosia purpurea</i>. ▪ Extraction d'anthocyane d'<i>Hibiscus sabdariffa</i>.
Extraction par fluide (CO ₂) supercritique	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Porter le CO₂ d'extraction aux conditions supercritiques, au-delà du point critique (31°C, 74 bar). 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Augmente la pénétrabilité des pores du solide et par conséquent le transfert de matière. 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Extraction d'huile des graines oléagineuses.
Extraction par eau subcritique	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Porter l'eau d'extraction au-delà du point d'ébullition (100°C à 1 bar) et en-dessous de son point critique (22,1 MPa et à 374°C). 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Augmente la perméabilité du solide vis-à-vis du solvant et facilite la solubilisation des solutés. 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Extraction d'huiles essentielles des fruits. ▪ Extraction de polyphénols des nœuds et des écorces de pin maritime et de peuplier.
Extraction par solvant accéléré (ASE)	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Température élevée, habituellement entre 50 et 200°C et pression entre 10 et 15 MPa. Le solvant est au-dessous de son état critique. 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Augmente la diffusivité du solvant dans la matrice solide, améliorant par conséquent la cinétique d'extraction. 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Extraction des composés phénoliques dans la chènevotte et la poudre organique de chanvre (<i>Cannabis sativa</i>).

I.4. Le fractionnement bi-vis des graines

À la différence des extrudeurs monovis mis en œuvre pour la plasturgie des polymères ou des presses monovis pour l'expression des huiles de graines oléagineuses, les extrudeuses bi-vis se caractérisent par un système vis-fourreau constitué par deux vis parallèles en rotation dans un fourreau. Bien qu'il existe plusieurs agencements des vis, selon leur sens relatif de rotation (co-rotatives ou contra-rotatives) et leur géométrie (copénétrantes ou non copénétrantes), ce sont les extracteurs bi-vis à vis co-rotatives et co-pénétrantes qui font l'objet du plus grand nombre d'innovations techniques et de transfert de technologies (Bouvier, 2006) en vue d'élargir le champ d'application à d'autres domaines que l'extrusion des matières plastiques (mélange de polymères, formulation et compoundage de charges, formage par extrusion en filière, etc.), vers le domaine de l'agroalimentaire (cuisson-extrusion de produits amylacés, déstructuration des protéines, formulation d'aliments pour animaux, etc.) et de la fabrication papetière (cuisson thermomécanique et blanchiment des pâtes). En effet, le caractère modulaire des éléments constitutifs d'un extrudeur bi-vis (**Figures I-8 et I-9**) permet, par l'agencement de la configuration et des profils de vis du système fourreau-vis, de réaliser les opérations unitaires de schémas de fractionnement de la matière végétale (Rigal, 1996) en continu, dans un seul appareillage (**Figure I-10**). L'intensification des transformations de la matière végétale obtenue par compaction des opérations menées dans des conditions de couplage contrôlé des actions thermiques, mécaniques et chimiques a été étudiée pour la mise au point de nouveaux procédés de fractionnement (**Tableau I-14**).

MONTAGE DU FOURREAU ET DES VIS



FOURREAU MODULAIRE : l'agencement des modules définit la configuration du fourreau

	<p>Module d'introduction de solides</p>	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Convoyage de la matière première ▪ Introduction d'autres solides
	<p>Module d'introduction de liquides</p>	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Contact liquide-solide ▪ Malaxage ▪ Convoyage
	<p>Module thermorégulé</p>	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Broyage ▪ Malaxage ▪ Compression-détente à profil de température
	<p>Module de filtration</p>	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Séparation liquide-solide

PROFIL DE VIS MODULABLE : l'agencement des éléments de vis définit les contraintes de cisaillement et de compression exercées sur la matière

Figure I-8 : Schéma d'un extrudeur bi-vis et de ses différents types de module

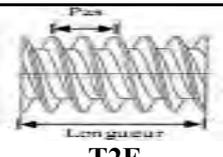
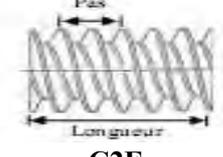
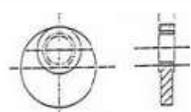
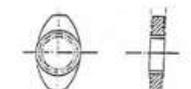
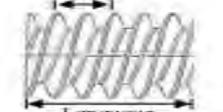
Schéma	Description	Désignation standard	Fonction principale	
Vis à pas direct		Vis de convoyage à simple (1) ou double (2) filet de forme trapézoïdale	T1F T2F	▪ Avalement du solide à l'introduction dans le fourreau. ▪ Peu d'effet de mélange et de cisaillement.
		Vis de convoyage à simple (1) ou double (2) filet de forme conjuguée	C1F C2F	▪ Transport du solide et mélange liquide-solide dans le fourreau.
	<ul style="list-style-type: none"> • La conjugaison des filets des vis parallèles minimise les volumes morts et donc l'accumulation de matière : les vis sont autonettoyantes. • Dans la zone d'interpénétration des vis à pas direct, le mélange radial sous cisaillement est favorisé. • Les vis à simple filet favorisent le transport et la poussée du solide. Les vis à double filet favorisent le mélange et augmentent le cisaillement de la matière. • La diminution du pas des vis de convoyage augmente la mise en compression de la matière. 			
		Disques malaxeurs de forme monolobe	MAL 0 (ou DM)	▪ Compression radiale sur les parois du fourreau et entre les disques parallèles. ▪ Broyage et cisaillement intense.
	Disques malaxeurs de forme bilobe	MAL 2 (ou BB)	▪ Mélange et malaxage sous cisaillement.	
<ul style="list-style-type: none"> • La succession de disques malaxeurs peut être montée avec un pas direct (favorise le convoyage), neutre ou un pas inverse (favorise le mélange). • Les disques malaxeurs sont des éléments restrictifs dans lesquels la matière s'accumule (augmentation du temps de séjour). 				
Vis à pas inverse		Contre-filet à simple filet (1) de forme conjuguée.	CF1C	▪ Transport de la matière dans le sens inverse des vis de convoyage à pas direct.
		Contre-filet à double filet (2) de forme conjuguée.	CF2C	▪ Cisaillement et compression de la matière.
<ul style="list-style-type: none"> • Les contre-filets sont des éléments restrictifs dans lesquels la matière s'accumule (forte augmentation du temps de séjour). • La succession de vis à pas direct/vis à pas inverse provoque la compression de la matière, plus forte avec les contre-filets à simple filet. La diminution des pas de vis augmente la contre-poussée. • Le bouchon dynamique de matière formé dans les contre-filets s'écoule par l'espace libre créée par l'ajournement des contre-filets. 				

Figure I-9 : Modularité de la technologie bi-vis pour le fractionnement de la matière végétale

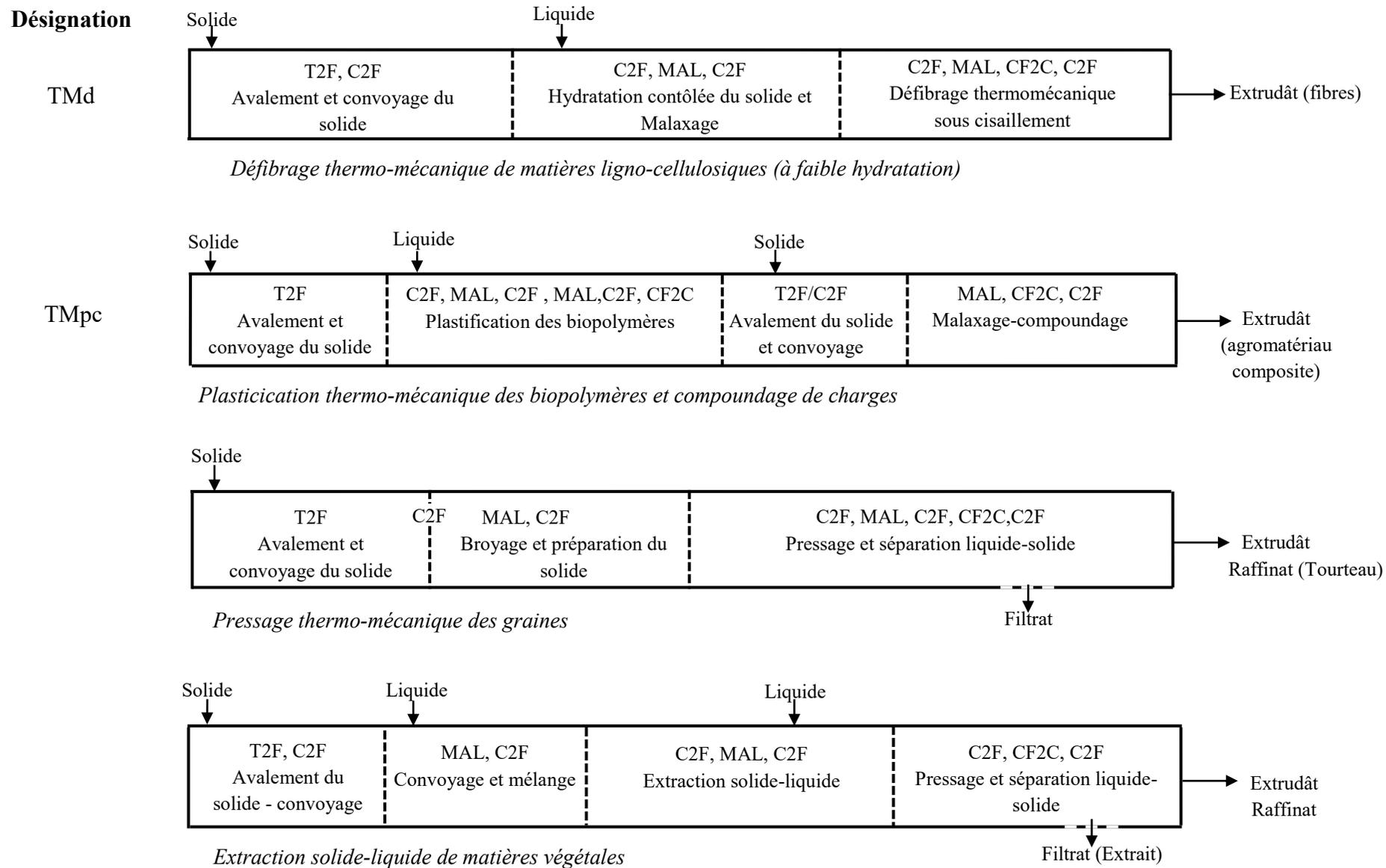


Figure I-10 : Exemples d'opérations unitaires, configurations et de profils de vis mis en œuvre dans le fractionnement de matières végétales

Tableau I-14 : Exemples de fractionnement bi-vis de matières végétales

Matière végétale	Opération de fractionnement bi-vis	Configuration, profil de vis et conditions opératoires	Produits/Application	Références
Matières ligno-cellulosiques : pailles, tiges feuilles, blé, maïs, sorgho, kénaf, chanvre, lin, roseau, pulpe de betterave, tourteau de tournesol, ...	▪ Défibrage	▪ Fractionnement thermo-mécanique à faible hydratation.	▪ Fibres et particules/panneaux	Rigal, 2015; Manolas <i>et al.</i> , 1995; Marechal et Rigal, 1999; Vandebossche, 1998
	▪ Pulpage	▪ Fractionnement thermo-mécano-chimique alcalin.	▪ Pulpe papetière/cotons	N'Diaye et Rigal, 2000
	▪ Hydrolyse	▪ Fractionnement acide H ⁺ ou hémicellulose/cellulose.	▪ Pentoses, hexoses/hydrolysât fermentescible (Ethanol 26).	Rigal <i>et al.</i> , 1998
	▪ Plastification ▪ Compoundage ▪ Fonctionnalisation	▪ Fractionnement thermo-mécanique : plastification biopolymères, compoundage et mélange.	▪ Granulats agromatériaux/matériaux composites therm durcissables ou thermoplastiques.	Evon <i>et al.</i> , 2009; Geneau, 2006; Humbert, 2008; Leyris, 1998; Leyris <i>et al.</i> , 1998; Marechal et Rigal, 1999; Nenonene, 2009; Orliac, 2002; Peyrat, 2000; Rouilly, 2002
Graines oléagineuses	Tournesol	▪ Fractionnement thermo-mécanique et séparation solide-liquide.	▪ Huile et Tourteau	Amalia Kartika, 2005; Evon, 2008; Isobe <i>et al.</i> , 1992; Lacaze-Dufaure <i>et al.</i> , 1996
	Colza			Guyomard, 1994
	Coriandre			Sriti, 2011; Sriti <i>et al.</i> , 2012
	Neem			Faye, 2010
Sorgho	▪ Extraction hémicellulose et raffinage de fibres.		▪ Hémicelluloses	Manolas, 1993
Peuplier				N'Diaye <i>et al.</i> , 1996
Paille et son de blé				Maréchal, 2001; Zeitoun, 2011
Coques de tournesol				Lalou, 1995
Nœuds et écorce de pin et peuplier	▪ Extraction de composés phénoliques	▪ Extraction et séparation solide-liquide.	▪ Antioxydants	Celhay, 2013
Luzerne	▪ Extraction de protéines		▪ Protéines	Colas, 2012
Tournesol	▪ Extraction de lipides et de protéines		▪ Emulsion	(Amalia Kartika, 2005; Evon <i>et al.</i> , 2007; Evon, 2008; Silvestre <i>et al.</i> , 1999)
Neem				Faye, 2010

I.5. Principaux résultats du fractionnement bi-vis des graines de neem

Outre sa mise en œuvre pour le pressage des graines dont celles du neem, l'extrudeur bi-vis a été utilisé pour le fractionnement des graines (*Paragraphe I-4*, Tableau I-14). Dans le cas des graines de neem, les principaux résultats sont consignés dans le **Tableau I-15**.

Tableau I-15 : Principaux résultats du fractionnement aqueux de graines de neem en extrudeur bi-vis (Faye, 2010)

Objectif	Type d'extrudeur bi-vis	Configuration et vitesse de rotation des vis	Débits de graines et d'eau	Résultats
Influence des principaux facteurs sur l'extraction aqueuse simultanée de l'azadirachtine et de l'huile	Co-rotatives et co-pénétrantes de type Clextral BC 21	<p>Composé de :</p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ une zone d'alimentation (Molude 1); ▪ une zone de broyage et préparation des graines (Modules 2 et 3) ; ▪ une zone d'extraction solide-liquide (Modules 4 et 5) ; ▪ une zone de filtration (Module 6 et 7) contenant le ou les contre-filets. ▪ Vitesse des vis: 200, 250 et 300 rpm. ▪ Température du fourreau : 60°C. 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Graines : 8 kg.h⁻¹ ▪ Eau : 8, 11, 13 et 17 kg.h⁻¹ 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ 45 à 50% d'huile, 22 à 35% de protéines et 41 à 56% d'azadirachtine contenus dans la graine, extraits sous forme d'une émulsion contenant 35 à 46% d'eau et 48 à 60% d'huile. ▪ 13 à 22% de l'azadirachtine se retrouvant dans les phases aqueuses et 23 à 30% restant dans les phases solides. ▪ 9 à 20% des protéines se retrouvant dans les phases aqueuses et de 56 à 68% dans les phases solides. ▪ L'augmentation du débit d'eau lorsque le débit de graines est élevé (8 kg.h⁻¹) et à vitesse de rotation des vis (250 rpm) constantes, favorise le rendement d'extraction de l'huile et de l'azadirachtine.
Optimisation du fractionnement aqueux de la graine de neem en extrudeur bi-vis : étude de l'influence des facteurs vitesse de rotation des vis, débits de graines et d'eau sur la distribution des temps de séjour du solide et du liquide dans les différentes zones de l'extrudeur bi-vis.	Co-rotatives et co-pénétrantes de type Clextral BC 45	<p>Composé de :</p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ une zone d'alimentation (Molude 1); ▪ une zone de broyage et préparation des graines (Modules 2 et 3) ; ▪ une zone d'extraction solide-liquide (Modules 4 et 5) ; ▪ une zone de filtration (Module 6 et 7) contenant le ou les contre-filets. ▪ Vitesse des vis : 50 et 100 rpm ▪ Température du fourreau : 60°C 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Graines : 20, 30 et 40 kg.h⁻¹ ▪ Eau : 20 kg.h⁻¹ 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Dans la zone de broyage, le temps de séjour du solide n'est sensible qu'à la vitesse de rotation des vis, de même que des débits de graine croissants. ▪ Dans la zone de séparation liquide-solide, le temps de séjour du solide est peu sensible à la vitesse de rotation des vis, très sensible au débit de graines aux faibles valeurs (<20 kg.h⁻¹), puis relativement peu sensible au-delà de 30 kg.h⁻¹ et croissant avec l'augmentation du débit de liquide. ▪ Dans la zone d'extraction, le temps de séjour de la phase liquide est sensible aux trois paramètres.

Tableau I-15 (Suite) : Principaux résultats du fractionnement aqueux de graines de neem en extrudeur bi-vis (Faye, 2010)

Objectif	Type d'extrudeur bi-vis	Configuration et vitesse de rotation des vis	Débits de graines et d'eau	Résultats
Optimisation du fractionnement aqueux de la graine de neem en extrudeur bi-vis : étude de la répartition de la matière et de la distribution des temps de séjour dans l'extrudeur bi-vis.	Co-rotatives et co-pénétrantes de type Clextral BC 45.	<p>Composé de :</p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ une zone d'alimentation (Module 1); ▪ une zone de broyage et préparation des graines (Modules 2 et 3) ; ▪ une zone d'extraction liquide-solide (Modules 4 et 5) ; ▪ une zone de filtration (Module 6 et 7) contenant le ou les contre-filets. ▪ Vitesse des vis : 50 et 100 rpm. ▪ Température du fourreau : 60°C. 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Graines : 7, 20, 30 et 40 kg.h⁻¹ ▪ Eau : 20 kg.h⁻¹ 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Rendements d'extraction en huile (63 à 72%) et en azadirachtine (80 à 83%). ▪ Rendement en huile et azadirachtine extrait dans l'émulsion est sensible à l'augmentation du ratio liquide/solide (55% pour l'huile et 48% pour l'azadirachtine, pour un ratio de 2 à fort débit de graines, 20 kg.h⁻¹ et pour une vitesse de vis de 100 rpm). ▪ À faible débit de graines (7 kg.h⁻¹), la dispersion axiale du liquide et du solide dans l'extrudeur apparaît très importante. ▪ La diminution de la vitesse de rotation des vis (50 rpm) contribue au remplissage des malaxeurs en solide et augmente les temps de séjour moyens des liquides et les solides. ▪ À fort débit de graines (20 kg.h⁻¹), les courbes de distribution des temps de séjour sont plus régulières et moins étalées, et les temps de séjour moyen du liquide et du solide, tout comme le remplissage en solide des différents éléments de vis sont sensibles à la vitesse de rotation des vis et au débit d'eau injectée. ▪ À taux de remplissage en solide identique, les meilleurs rendements d'extraction d'huile (71,76%) et d'azadirachtine (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.

I.6. Conclusion

Dans une dynamique actuelle de développement durable, motivée par la pollution et l'épuisement des ressources fossiles avec les risques environnementaux liés à leur exploitation (transformation et utilisation) encourage de s'orienter vers les matières premières biosourcées, renouvelables et disponibles. Ces matières premières issues de la biomasse qui constituent la base de la chimie verte sont une alternative à celles d'origine pétrochimique.

Les agroressources sont une composante essentielle des matières premières issues de la biomasse, leur valorisation est à l'origine de l'essor de la bio-raffinerie et des filières de l'agro-industrie.

Les graines protéo-oléagineuses disposent de potentialités énormes liées à leur teneur en huile et protéines utilisables pour des finalités chimiques, agroalimentaires et cosmétiques mais également de biomolécules recherchées pour la pharmacie et l'agrochimie. L'exploitation et la transformation de ces graines en vue de valoriser leurs constituants doivent s'appuyer sur un fractionnement efficace et éco-compatible.

Le neem et le dattier du désert sont deux arbres qui produisent des graines d'une importante valeur ajoutée compte tenu de leur composition (huile, protéines, molécules actives aux propriétés intéressantes). La graine de neem présente la particularité de contenir des limonoïdes à activité insecticide dont le principal responsable est l'azadirachtine, classé de nos jours comme un des biopesticides les plus prometteurs d'un point de vue économique (Mouffok *et al.*, 2008).

L'extraction et la valorisation des constituants de ces deux graines nécessitent la maîtrise des procédés d'extraction au solvant et/ou par fractionnement qui prennent en compte aussi bien les exigences actuelles en matière de protection de l'environnement et celles de la raffinerie du végétal.

La technologie bi-vis mise en œuvre pour le fractionnement de matières végétales (graines et autres parties végétales), le pressage d'huile et/ou l'extraction solide-liquide de constituants, et pour la déstructuration de matières et la plastification des biopolymères, peut être une solution originale. Elle permettra de mettre au point un procédé innovant de fractionnement des graines avec une production simultanée d'huile, d'un extrait d'azadirachtine et d'un extrudât en vue de leur valorisation intégrée.

Chapitre II

FRACTIONNEMENT ANALYTIQUE DES GRAINES
DE NEEM (*Azadirachta indica* A. Juss) ET DU
DATTIER DU DESERT (*Balanites aegyptiaca* L.)

CHAPITRE II. FRACTIONNEMENT ANALYTIQUES DES GRAINES DE NEEM (*Azadirachta indica* A.Juss) ET DU DATTIER DU DESERT (*Balanites aegyptiaca* L.)

II.1. Introduction

La caractérisation des graines de neem et de dattier du désert est le préalable à l'élaboration des schémas de leur fractionnement. Dans ce chapitre, nous nous attacherons à déterminer la répartition des principaux constituants de ces graines et la composition chimique des fractions extractibles. Les différents schémas du fractionnement seront ensuite évalués en fonction des bilans matières théoriques et des perspectives de valorisation des extraits et des raffinats obtenus.

II.2. Caractérisation physique des graines

Les graines de neem étudiées dans ce chapitre proviennent d'un lot (lot n°1) collecté en août 2012 sur des arbres de la région du Sud-Ouest du Sénégal (Casamance). Elles sont séchées à l'air libre puis à l'étuve à 40°C pendant 7 jours avant d'être nettoyées et triées. Les graines du dattier du désert sont obtenues à partir d'un lot de fruits secs récoltés en février 2013 dans les régions du centre et nord du Sénégal.

Les caractéristiques physiques de ces lots de graines sont conformes aux données relevées dans la littérature (*Paragraphes I.2.1 et I.2.2*) et leur décorticage manuel fait apparaître une très nette différence de répartition coque/amande (**Tableau II-1**). Ainsi, bien qu'une graine de neem pèse près de 7 fois moins qu'une graine de dattier du désert, la proportion d'amande y est près de deux fois plus élevée (près de la moitié), alors qu'elle n'est que proche du quart dans la graine de dattier du désert. Ainsi, le décorticage de 100 kg de graines fournira près de 51 kg d'amandes de neem et 27,5 kg d'amande de dattier du désert.

Tableau II-1 : Caractéristiques physiques des graines de neem et du dattier du désert

	Neem			Dattier du désert		
	Graine	Amande	Coque	Graine	Amande	Coque
Aspect						
Dimensions moyennes						
Longueur (cm)	1,65	1,32	1,65	2,27	1,58	2,27
Largeur (cm)	0,67	0,47	0,67	1,27	0,80	1,27
Masse moyenne (g)	0,28	0,15	0,13	2,04	0,56	1,44
Répartition massique (g % 100 g de graine)	100	50,90	49,10	100	27,50	72,50

II.3. Caractérisation chimique des graines

En dehors de nombreux composés minoritaires, en particulier d'origine métabolique qu'elles contiennent et qui leur valent d'être utilisées en médecine traditionnelle (*Paragraphe I.2.1 et I.2.2*), trois fractions principales représentent 85 à 90% de la matière sèche des graines de neem et de dattier du désert :

- **La fraction fibreuse** qui correspond aux constituants pariétaux insolubles des tissus cellulaires. Bien que certaines parois cellulaires puissent contenir aussi des pectines et des protéines (Bazus, 1991; Briffaud et Melcion, 1986; Dekker et Wallis, 1983; Vandebossche, 1998), cette fraction sera caractérisée comme la somme des biopolymères (cellulose, hémicellulose et lignine) qui constituent majoritairement des fibres.
- **La fraction lipidique** qui est constituée par l'ensemble des lipides extractibles par un solvant apolaire du type cyclohexane. Elle sera caractérisée par l'extrait sec obtenu après évaporation du solvant, qualifié d'huile, et la nature des composés lipidiques qu'elle contient.
- **La fraction protéique** qui est constituée par l'ensemble des protéines et polypeptides, qu'ils soient de réserve, de structure (membranes ou parois) ou d'origine métabolique (enzymes). Elle sera caractérisée par la teneur en azote protéique et la composition en acides aminés.

II.3.1. La fraction fibre

La fraction fibre de la matière végétale représente l'ensemble des biopolymères insolubles dans l'eau, constitutifs des parois des cellules. Elles forment l'élément structural de l'édifice végétal constitué par les assemblages de cellules dans les tissus cellulaires des différents organes de la plante. Bien que certaines parois de cellule puissent contenir d'autres biopolymères comme des pectines et des protéines, en particulier dans la phase de croissance, les parois sont constituées principalement par une association de cellulose, d'hémicellulose et de lignine, en proportion dépendante de la nature du tissu cellulaire et de sa fonction dans les organes de la plante. Ainsi, du point de vue du fractionnement du végétal, les fibres se définissent comme l'ensemble du matériau insoluble dans l'eau, constitué de cellulose, d'hémicellulose et de lignine à l'exclusion de tous les autres constituants. Elle forme le raffinat solide du procédé de fractionnement visant à extraire les contenus cellulaires des matières végétales. Mais elles peuvent aussi faire l'objet d'un fractionnement sélectif visant à extraire l'hémicellulose ou la lignine pour raffiner la cellulose.

La teneur en fibres des graines de neem et de dattier du désert est déterminée par gravimétrie différentielle des résidus obtenus après solubilisation des constituants non pariétaux (lipides, protéines et hydrosolubles, etc.), des hémicelluloses et des lignines (**Figure II-1**).

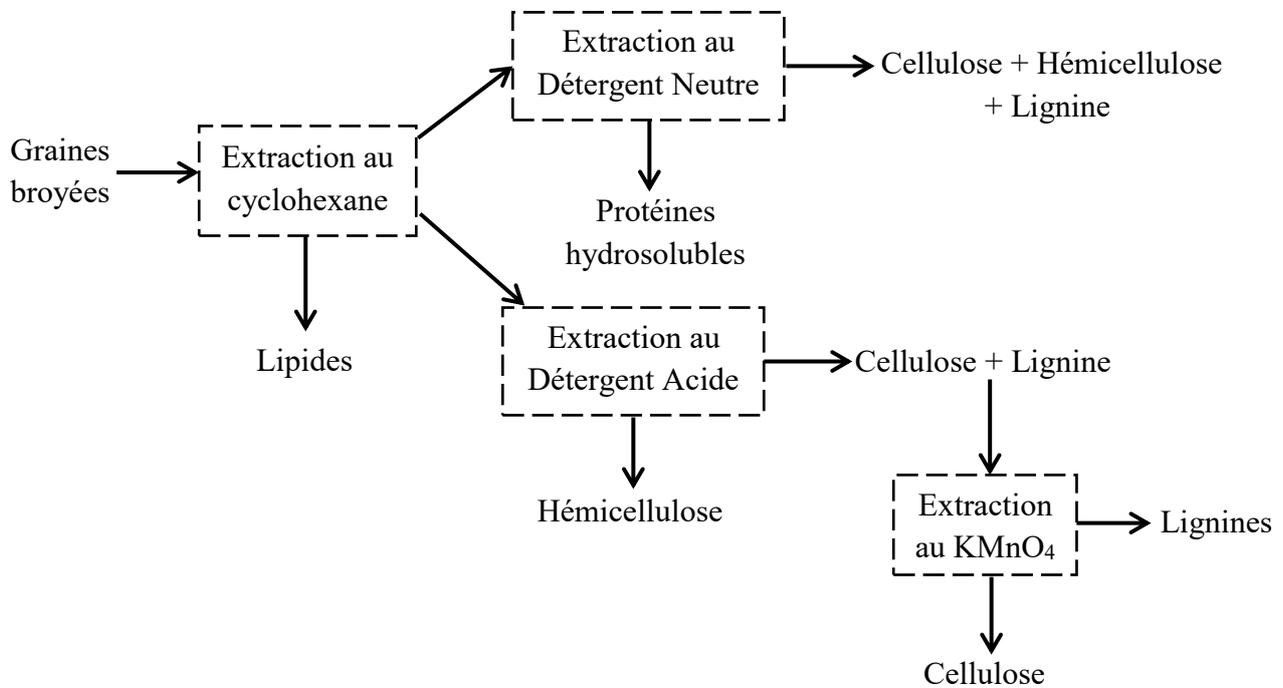


Figure II-1 : Schéma de fractionnement analytique des graines pour la détermination de la teneur en fibres

Le protocole détaillé des différentes étapes de ce fractionnement analytique est rapporté dans la *Partie Expérimentale V.1.8*.

Les résultats obtenus pour les graines, amandes et coques de neem et de dattier du désert (**Tableau II-2**) montrent que :

- La fraction fibre des graines de dattier du désert (68% de la matière sèche) est nettement plus importante que celle des graines de neem (44% de la matière sèche), correspondant à la plus grande proportion de coque dans la première (72,5%) que dans la seconde (49%). Les coques sont de nature essentiellement fibreuse, respectivement 90% et 80% pour le dattier du désert et le neem, et 85,5% et 92% des fibres de la graine proviennent des coques. Par comparaison, dans la graine de tournesol, la coque qui ne représente que 23,5% de la matière

sèche, est constituée de 80% de fibres, qui correspondent à 83% de la fraction fibre de la graine (Geneau, 2006).

■ Les fibres de coque et d'amande sont de compositions différentes, plus lignifiées dans les premières que dans les secondes (9 et 15% de lignine dans les fibres de coque pour 3 et 7% dans les fibres d'amande, respectivement pour le dattier du désert et le neem). Majoritairement cellulosique dans tous les cas, la proportion cellulose-hémicellulose y est cependant différente. La fibre de coque de neem, la plus ligneuse (15%), contient une proportion équivalente d'hémicellulose (16%) pour près de 69% de cellulose. Par contre la fibre d'amande de neem, bien que relativement lignifiée par comparaison avec celle des fibres d'amande de dattier du désert, contient beaucoup plus d'hémicellulose (36%) pour 57% de cellulose. Dans le cas des fibres de dattier du désert, la répartition des biopolymères est inversée : ce sont les fibres de coques, plus lignifiées (9%) pour 60% de cellulose, alors que celles d'amande très peu lignifiées, contiennent 22% d'hémicellulose.

Tableau II-2 : Répartition et composition des fractions fibres dans les graines de neem et de dattier du désert

	Matière Sèche (%)	Fraction fibre (g % g MS graine)	Répartition constituants (g % g MS graine)			Composition fibres (g % g MS fibres)			Bilan matière	
			Cellulose	Hémicellulose	Lignine	Cellulose	Hémicellulose	Lignine	Matière sèche (g%g MS)	Fibres (% MS Fibres)
Neem										
Graine	95,7	44	30	10	4	68	23	9	100	100
Amande	97,1	7	4	2,5	0,5	57	36	7	51	12
Coque	95,3	80	55	13	12	69	16	15	49	88
Dattier du désert										
Graine	91,4	68	42	20	6	62	29	9	100	100
Amande	95,3	16	12	3,5	0,5	75	22	3	27,5	15
Coque	89,9	90	54	28	8	60	31	9	72,5	85

Aussi déterminée par la même méthode (Van Soest et Wine ou ADF-NDF), la composition en fibres d'autres graines de neem (lot2007 et lot2008) d'origine sénégalaise (Faye, 2010) est globalement comparable à celle obtenue dans ce travail, aussi bien du point de vue des teneurs en fibres totales (cellulose + hémicellulose + lignine) et individuelle (cellulose, hémicellulose et lignine) dans la graine entière que de leur répartition dans la coque et l'amande (**Tableau II-3**).

Tableau II-3 : Composition en fibres des graines, amandes et coques de neem (Faye, 2010)

Fibres (% MS)	Graine entière		Amande		Coque	
	lot2007	lot2008	lot2007	lot2008	lot2007	lot2008
Cellulose	29,52	27,86	1,85	1,72	54,03	51,33
Hémicelluloses	14,36	14,64	2,56	2,25	24,18	28,22
Lignines	5,96	5,64	2,15	2,18	8,61	6,69
Total	49,84	48,47	6,57	6,14	86,83	83,25

Sous l'hypothèse [généralement admise (Vandenbossche, 1998)] que dans l'édifice pariétal, les hémicelluloses sont les biopolymères qui apportent la souplesse à la structure composite des fibres et que les lignines peuvent être assimilées à l'élément de rigidification de l'assemblage cellulose-hémicellulose (**Figure II-2**), il apparaît que les fibres de coque de neem seront plus rigides que celles de coque de dattier du désert, qui seraient plus souples. Par extension au matériau qu'elles forment à plus de 80%, le broyage par percussion des coques de neem devrait être plus efficace que celui des coques de dattier du désert, qui nécessitera plus d'effet de cisaillement. Le comportement des amandes sous l'effet de ces contraintes est plus délicat à prévoir car les fibres qu'elles contiennent sont nettement minoritaires et que les contenus moléculaires des cellules qui forment leur tissus seront surtout sensibles aux effets de compression et d'écrasement. En conclusion, un décorticage efficace des graines de neem pourra être obtenu avec un broyeur à marteaux privilégiant les effets de percussion et de choc sur les graines, la séparation des fibres de coque et des morceaux d'amande étant réalisée par tamisage (**Figure II-3**).

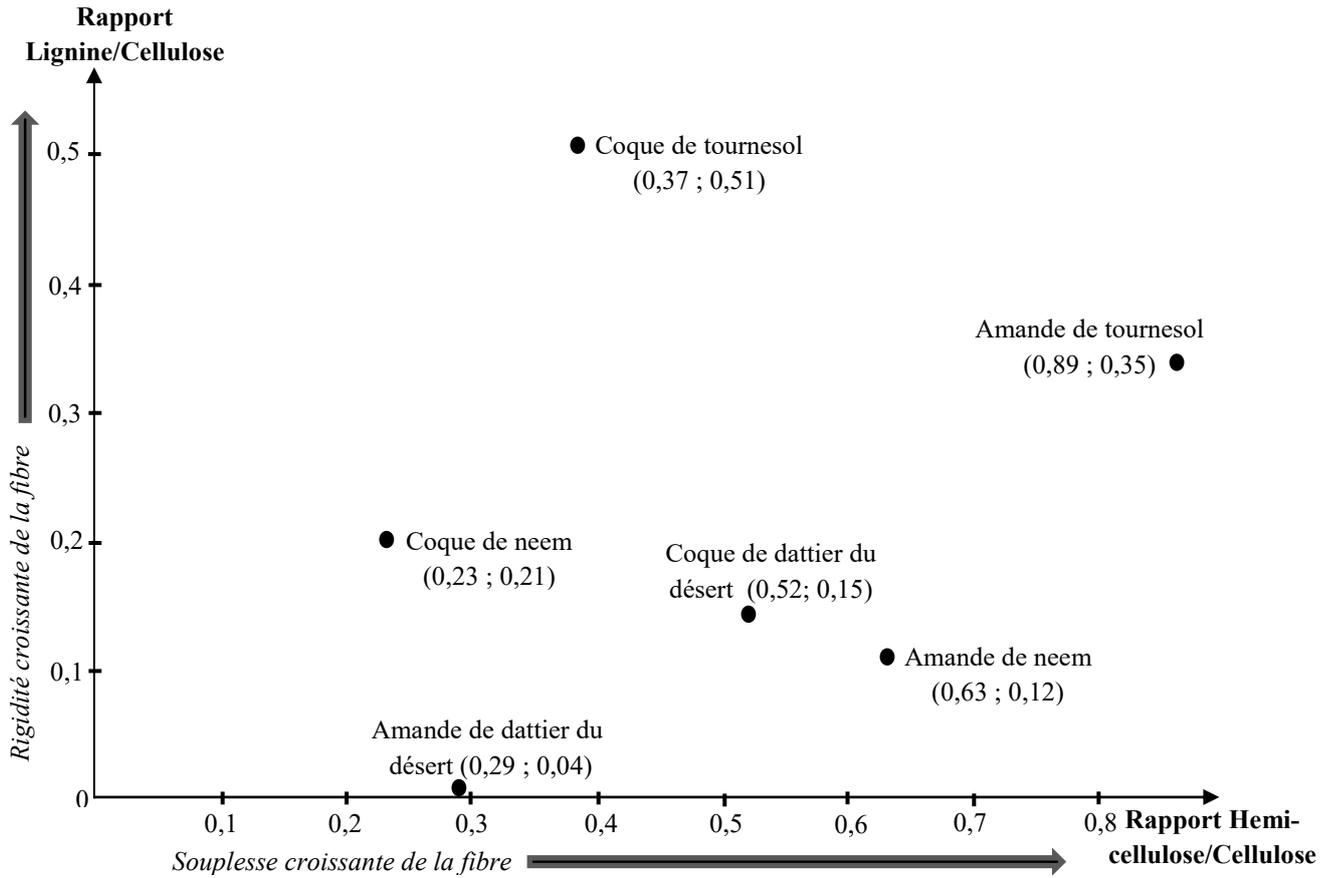


Figure II-2 : Représentation de la rigidité et de la souplesse des fibres en fonction des rapports hémicellulose/cellulose et lignine/cellulose

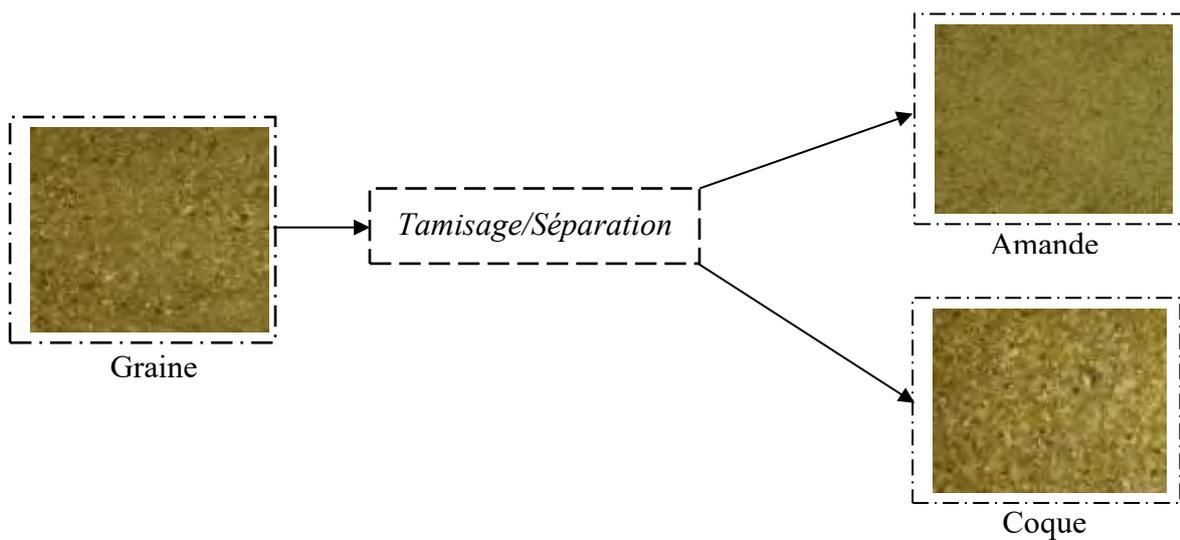


Figure II-3 : Broyât de la graine entière et celui de l'amande et de la coque obtenus après tamisage

Dans le cas des graines de dattier du désert, l'effet de cisaillement du broyeur devra être intensifié, comme c'est par exemple le cas dans les broyeurs à rouleaux ou à meules cannelées. Et bien que ces prévisions n'aient pu être validées par des essais mettant en œuvre les technologies de broyage et séparation appropriées, elles permettront de projeter les bilans matières de l'opération de fractionnement mécanique et d'évaluer son intérêt pour le fractionnement des graines (**Figure II-4**). Il y apparaît que le décorticage des graines de neem permet de produire près du double de broyat de l'amande que la graine du dattier du désert ; contenant 85 à 90% de constituants non fibreux qui pourront faire l'objet d'un fractionnement secondaire. Près de la moitié de la masse de graine de neem et des trois quart de celle de graine de dattier du désert pourraient être converties en granulat fibreux utilisable comme combustible pour des usages domestiques ou pour produire l'énergie nécessaire au fonctionnement dans une chaudière à biomasse. En se basant sur le pouvoir calorifique des principaux constituants (cellulose, hémicelluloses et lignines), nous pouvons estimer une importante production d'énergie : une tonne de coque (soit 2,04 tonnes des graines) fournira une quantité de chaleur égale à 18 835,5 MJ dans le cas du neem et une tonne de coque (soit 1,38 tonnes de graines) fournira une quantité de chaleur égale à 18 285,3 MJ dans le cas du dattier du désert. Même si nous remarquons que les composés organiques de la coque des graines de dattier du désert sont plus importants que ceux de la coque de neem compte tenu de leur très faible teneur en matière minérale (0,84 g % g MS pour la coque de dattier du désert et 5,1 g % g MS pour la coque du neem), le pouvoir calorifique des coques de neem est légèrement supérieur à celui des coques de dattier du désert du fait de la teneur en lignine plus élevée dans la coque de neem, sachant que le pouvoir calorifique de la lignine (26,63 MJ/kg) est supérieur à ceux de la cellulose et de l'hémicellulose (17,46 MJ/kg). D'autres applications des fractions fibreuses des coques pourraient être envisagées et étudiées dans le domaine des matériaux, en particulier des panneaux de particules et de fibres, mais ce sont surtout les amandes qui fourniront les extraits apportant le plus de valeur ajoutée.

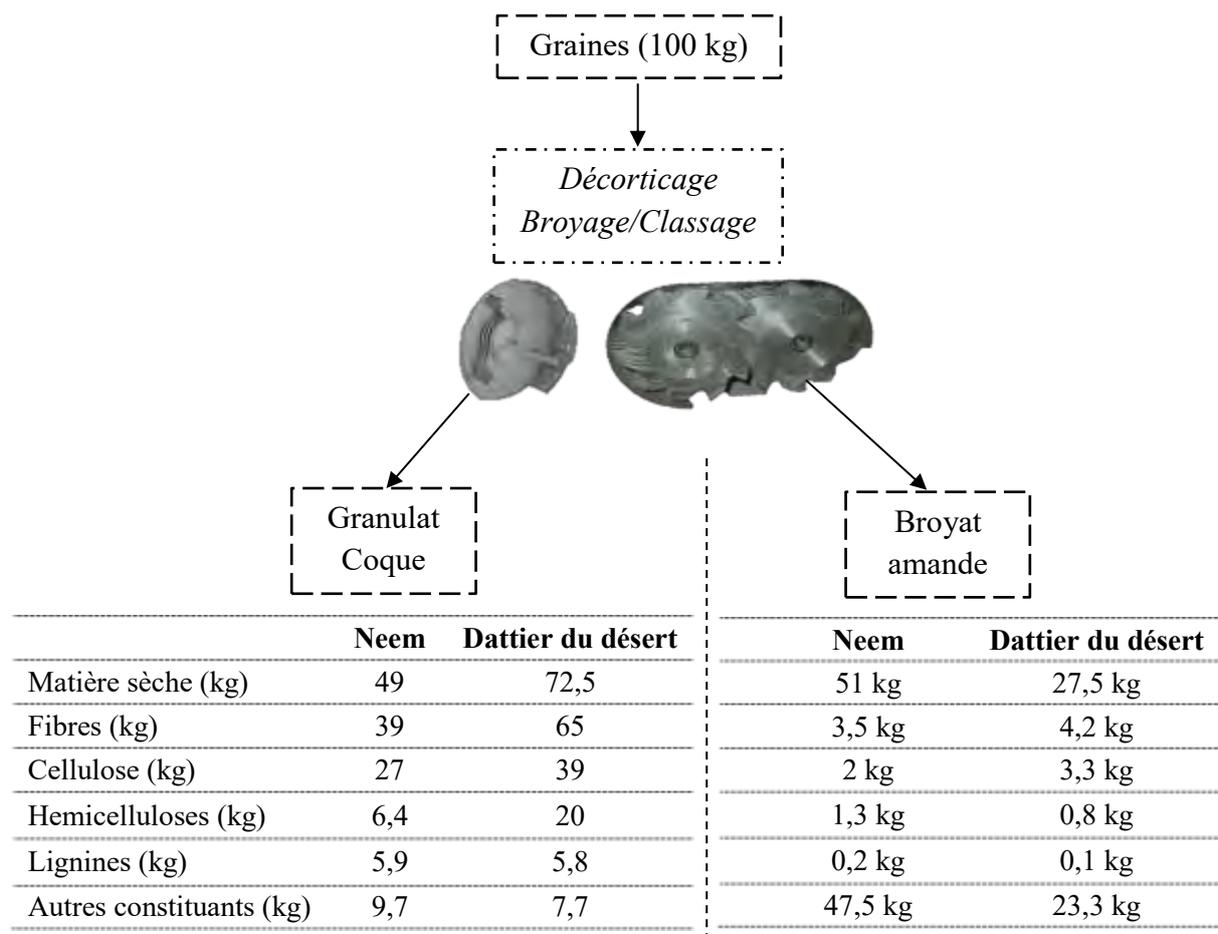


Figure II-4 : Bilan théorique du fractionnement mécanique des graines de neem et de dattier du désert

II.3.2. La fraction lipidique

La teneur en lipides des graines, coques et amandes est déterminée par extraction au cyclohexane en extracteur de type Soxhlet, selon la norme NF ISO 374-1, dont le protocole détaillé est rapporté en *Partie Expérimentale V.1.4*. La quantité de lipide sec obtenue après évaporation totale du solvant est considérée comme le potentiel en huile extractible par gramme de matière sèche.

Les résultats obtenus (**Tableau II-4**) pour le neem sont cohérents avec ceux obtenus pour les graines collectées dans les différentes zones géographiques du Sénégal (Diedhiou *et al.*, 2010). Il montre que l'essentiel des lipides de la graine (près de 97%) proviennent de l'amande, bien que le décorticage de la graine se traduise par une perte de près de 12% d'huile par rapport au potentiel lipidique obtenu par extraction directe des graines. Il en est de

même pour le dattier du désert, dont la graine contient deux fois moins de lipides que celle de neem, dont 80% proviennent de l'amande, la teneur en lipide des coques étant plus élevée (3,4 et 1,6 g % g MS respectivement pour le dattier du désert et le neem). La perte élevée au décorticage peut être estimée à 15% par rapport au potentiel d'huile extractible de la graine.

À la différence des huiles extraites des amandes, qui sont jaune-claires, les huiles extraites des coques sont blanches et plus visqueuses, traduisant la présence de cires, comme dans le cas des coques de tournesol (Briffaud et Melcion, 1986; Brisson, 1996; Dekker et Wallis, 1983; Evon, 2008; Thibault *et al.*, 1989). Mais la contribution de ces esters d'alcools et d'acides gras (Kanya *et al.*, 2007; Lecomte, 2009) à la composition des huiles extraites de graine restera très minoritaire comme le montre leur caractérisation.

Tableau II-4 : Teneur en lipide et répartition dans l'amande et la coque des graines de neem et de dattier du désert

	Neem			Dattier du désert		
	Graine	Amande	Coque	Graine	Amande	Coque
Teneur en lipides (g % g MS)	29,3	49	1,6	14,1	34,5	3,4
Masse d'huile potentielle (g % g de matière sèche de graine)	-	25	0,8	-	9,5	2,4

II.3.2.1. Caractérisation chimique des huiles des graines de neem et de dattier du désert

II.3.2.1.a. La composition en acides gras des huiles extraites au solvant est déterminée par analyse de leurs esters méthyliques en Chromatographie en Phase Gazeuse selon la norme NF ISO 5508 (*Partie Expérimentale V.1.14*). L'huile de neem révèle la présence de 4 acides gras majoritaires : l'acide oléique C18:1 (41,91%), suivi de l'acide linoléique C18:2 (19,59%), de l'acide stéarique C18:0 (18,71%) et de l'acide palmitique C16:0 (15,59%) (**Tableau II-5**). Cette composition en acides gras est comparable à celles obtenues dans la littérature (Djenontin *et al.*, 2012; Faye, 2010; Gossé *et al.*, 2005; Kaushik, 2002; Kaushik et Vir, 2000; Momchilova *et al.*, 2007). Le ratio acides gras insaturés/acides gras saturés, de l'ordre de 3/5 confirme le caractère insaturé de l'huile.

L'huile de dattier du désert présente les mêmes acides gras majoritaires, mais dans des proportions différentes : l'acide linoléique C18:2 (37,58%), l'acide oléique C18:1 (34,35%), l'acide palmitique C16:0 (13,74%) et l'acide stéarique C18:0 (13,34%) (**Tableau II-5**). Ces résultats sont comparables à ceux obtenus par d'autres études antérieures (Chapagain *et al.*, 2009; Deshmukh et Bhuyar, 2009; Gutti *et al.*, 2012; Mohamed *et al.*, 2002).

Tableau II-5 : Composition en acides gras des huiles de neem et de dattier du désert (en %)

Acides gras	Neem	Dattier du désert
C14:0 Acide Myristique	-	0,19
C16:0 Acide Palmitique	15,59	13,74
C16:1 Acide Palmitolique	0,12	0,18
C17:0 Acide Heptadécanoïque	-	0,12
C18: 0 Acide Stéarique	18,71	13,34
C18:1n9c Acide Oléique	41,91	34,35
C18:2n6c Acide Linoléique	19,59	37,58
C20: 0 Acide Arachidique	1,33	0,4
C18:3n3a Acide Linoléique	0,44	0,04
C20:1n9c Acide Gadoléique	0,08	-
C22:0 Acide Béhénique	0,86	-
Acides gras saturés	37,00	27,45
Acides gras insaturés	63,00	72,55

Ces compositions en acides gras en font des huiles originales, la présence simultanée des acides gras insaturés oléiques et linoléiques en forte proportion (63% dans l'huile de neem et 72% dans l'huile de dattier du désert) associée à celles des acides saturés, palmitique et stéarique en proportions élevées et équivalentes (34% dans l'huile de neem et 27% dans l'huile de dattier du désert) n'étant pas rencontrées ni dans les principales huiles produites industriellement (coprah/coco, coton, arachide, palme, colza, soja, tournesol), ni dans les huiles mineures (Gustone et Pandley, 1997). Seule l'huile de sésame (C16:0 = 9% ; C18:0 = 6% ; C18: 1 = 38% ; C18:2 = 45%) et l'huile de noix du Brésil (*Bertholletia myrtaceae* : C16:0 = 14% ; C18 : 0 = 9% ; C18 : 1 = 29% ; C18 : 2 = 47%) par exemple, présentent des profils similaires.

II.3.2.1.b. La composition en glycérides de ces huiles, déterminée selon la méthode décrite en *Partie Expérimentale V.1.17* révèle que les triglycérides représentent 97,69% dans l'huile de

neem et 98,01% dans celle de dattier du désert (**Tableau II-6**). Ces teneurs en triglycérides sont en cohérence avec celles de la plupart des huiles de graines et des corps gras d'origine animale, en général supérieure à 98% (Gustone et Pandley, 1997). Les diglycérides C16 et C18 sont en proportion faible (1,45% dans l'huile de neem et 1,28% dans celle de dattier du désert). Les acides gras libres (AGL), responsables de l'acidité, représentent 0,76% dans l'huile de neem et 0,70% dans celle de dattier du désert.

Tableau II-6 : Proportion des glycérides des huiles de neem et de dattier du désert (en %)

	Neem	Dattier du désert
Triglycérides	97,69	98,01
Diglycérides (C16 et C18)	1,45	1,28
Monoglycérides C18	0,10	0,00
AGL (C16 et C18)	0,76	0,70

AGL : Acides Gras Libres

L'analyse des triglycérides montre que ces huiles sont constituées principalement de deux triglycérides majoritaires, SOL (52,93% dans l'huile de neem et 61,31% dans l'huile de dattier du désert) et POL (36,61% dans l'huile de neem et 33,87% dans l'huile de dattier du désert) (**Tableau II-7**). Ces deux triglycérides (SOL+POL) représentent respectivement 89,54% et 95,18% des triglycérides totaux du neem et du dattier du désert. Ce profil triglycéridique est cohérent avec la composition en acides gras des huiles. L'ensemble de ces résultats confirme bien que ces huiles sont constituées par des lipides de réserve. Mais elles contiennent aussi une fraction minoritaire des lipides métaboliques.

Tableau II-7 : Proportion des triglycérides (en %) des huiles de neem et de dattier du désert

	Neem	Dattier du désert
PPPI	0,46	-
PPIL	7,1	4,83
POL	36,61	33,87
SOL	52,93	61,31
SAO	2,9	-

P : acide Palmitique C16 : 0 ; Pl : acide Palmitolique C16 : 1 ; L : acide Linoléique C18 : 1 ; O : acide Oléique C18 : 1 ; S : acide Stéarique C18 : 0 ; A : acide Arachidique C20 : 0

II.3.2.1.c. La teneur en phytostérols est déterminée par analyse chromatographique en Phase Gazeuse (*Partie Expérimentale V.1.15*). L'huile de neem possède une teneur élevée en stérols (3,34 g/kg d'huile). Ils constituent 10,54% de la fraction insaponifiable et sont plus concentrés que dans l'huile de dattier (2,11 g/kg) (**Tableau II-8**). Dans l'huile de neem, le β -Sitostérol, avec 2,04 g/kg, soit 61,08% des phytostérols totaux est le composé majoritaire, suivi de très loin par le stigmastérol 0,43 g/kg (12,87%), le Δ^5 -Avenastérol, 0,28 g/kg (8,38%) et le campestérol 0,21 g/kg (6,92%). Ces résultats sont comparables à ceux relevés dans la littérature (Djenontin *et al.*, 2012; Momchilova *et al.*, 2007, Faye, 2010). Ces stérols sont connus pour être les plus abondants dans la plupart des huiles végétales (Berger *et al.*, 2004; Kritchevsky et Chen, 2005; Moreau *et al.*, 2002). Le β -Sitostérol est également le composé majoritaire dans l'huile de dattier du désert, avec 0,75 g/kg, soit 35,54%, suivi par le stigmastérol, 0,6 g/kg (28,43%) et du cycloartérol 0,24 g/kg (11,37%).

Tableau II-8 : Composition en phytostérols des huiles de neem et de dattier du désert

Composition	Neem			
	g/kg	%	g/kg	%
Cholestérol	-	-	0,09	4,26
24-met. cholestérol	0,08	2,4	-	-
Campestérol	0,21	6,29	0,03	1,42
Stigmastérol	0,43	12,87	0,6	28,43
β -Sitostérol	2,04	61,08	0,75	35,54
Δ^5 -Avenastérol	0,28	8,38	0,2	9,47
Cycloartérol	0,07	2,1	0,24	11,37
Mét. cycloartérol	0,08	2,39	-	-
Citrostadiénol	0,02	0,6	0,02	0,95
Non identifié	0,02	0,6	0,18	8,53
Non identifié	0,11	3,29	-	-
Total	3,34	100	2,11	100

Ces teneurs en stérols sont proches de celles, moyennes, des huiles de tournesol (3,4%) ou de soja (3,2%) pour l'huile de neem, et d'arachide (1,6%) pour le dattier du désert, mais inférieures à celle d'huiles de colza (7,3%) ou de germe de maïs (13,8%) connues pour leur richesse en phytostérols (Gustone et Pandley, 1997).

Comme dans ces deux huiles, des teneurs élevées en β -sitostérol sont trouvées dans la plupart des phytostérols d'huiles végétales telles que l'huile d'olive (84,3%), l'huile d'arachide

(62,3%), l'huile de tournesol (61,9%), l'huile de colza (45-61%), l'huile de soja (47-59%) et de l'huile de sésame (59-62%) (Besbes *et al.*, 2004; Feinberg *et al.*, 1987; Merrien *et al.*, 1992). Rappelons que le β -sitostérol est le stérol le plus étudié du fait de son importance et de ses effets physiologiques sur la santé (Yang *et al.*, 2001). De nombreuses études cliniques ont montré que la consommation d'environ 2 g par jour de β -sitostérol abaisse le cholestérol d'environ 10% (Lütjohann *et al.*, 1995) et plusieurs publications scientifiques ont porté sur les effets anti tumoraux des phytostérols et tout particulièrement du β -sitostérol (Awad *et al.*, 2000). Ainsi, il a été prouvé que les phytostérols pouvaient réduire le risque de certains types de cancers notamment celui du poumon (Mendilaharsu *et al.*, 1998), du sein (Ronco *et al.*, 1999), de l'œsophage (Stefani *et al.*, 2000a), de l'estomac (McCann *et al.*, 2000), du colon (McCann *et al.*, 2003) et de l'ovaire (Stefani *et al.*, 2000b). Ils pourraient aussi stimuler les réactions immunitaires chez les personnes infectées par le VIH (Breytenbach *et al.*, 2001).

II.3.2.1.d. La teneur en tocophérols est déterminée par Chromatographie Liquide Haute Performance (*Partie Expérimentale V.1.16*). Dans l'huile de neem, elle est de 338,70 mg/kg ; ce qui représente 1,06% de la fraction insaponifiable (**Tableau II-9**). Avec une teneur de 233,30 mg/kg, le γ -tocophérol est le composé majoritaire (68,88% des tocophérols totaux). Ce résultat est comparable à celui obtenu dans l'huile de graines de neem du Togo (Djenontin *et al.*, 2012). Dans l'huile de dattier du désert la teneur en tocophérols est de 512,40 mg/kg, et l' α -tocophérol est le composé majoritaire avec une teneur égale à 343,4 mg/kg. Il représente à lui seul 67,18% des tocophérols totaux.

Cette teneur en tocophérols de l'huile de dattier du désert est proche de celle rencontrée dans l'huile de tournesol (546 mg/kg) alors que celle de l'huile de neem est plus faible que celle de l'huile d'arachide (363 mg/kg). Toutefois, les deux restent très inférieures à celle de l'huile de colza (1153 mg/kg) ou de germe de blé (2571 mg/kg) (Gustone et Pandley, 1997).

Tableau II-9 : Teneur en tocophérols des huiles de neem et de dattier du désert

	Neem		Dattier du désert	
	mg/kg	%	Mg/kg	%
α -tocophérol	65,70	19,38	343,4	67,18
β -tocophérol	2,00	0,59	51,00	9,95
γ -tocophérol	233,30	68,88	73,00	14,25
δ -tocophérol	37,60	11,13	45,00	8,78
Total	338,70	100	512,40	100

Du fait de leur activité anti-oxydante, les tocophérols jouent un rôle important dans la stabilisation de l'huile lors de sa conservation (Demir et Cetin, 1999). Ils sont également réputés pour leurs effets positifs sur la santé. En effet, ils préviennent l'oxydation des acides gras poly-insaturés dans le réseau sanguin et protègent les lipoprotéines de basse densité ou *Low Density Lipoproteins* (LDL) de l'oxydation induite par les radicaux libres provoquant le développement des lésions artériosclérotiques (Morris *et al.*, 2005; Schneider, 2005). Ils peuvent également participer à la réduction des maladies cardiovasculaires et présentent certaines propriétés anti-cancéreuses (Beardsell *et al.*, 2002; Bramley *et al.*, 2000).

Outre leur composition chimique, plusieurs propriétés physico-chimiques de ces huiles sont souvent étudiées en vue de leurs applications.

II.3.2.2. Caractéristiques physico-chimiques des huiles de neem et de dattier du désert

Les caractéristiques physico-chimiques des huiles sont déterminées selon des méthodes normalisées (*Partie Expérimentale V.1.20 à V.1.32*). Les résultats obtenus sont rassemblés dans le **Tableau II-10**.

Tableau II-10 : Propriétés physico-chimiques des huiles de neem et de dattier du désert

Caractéristiques	Neem	Dattier du désert	Méthodes
Indice d'acide (mg/g)	10,2	0,55	AFNOR T60-204
Indice de saponification (mg/g)	200,0	182,2	AFNOR T60-206
Indice d'iode (g/100g)	72,82	66,77	AFNOR T60-203
INS	127	116	-
Indice de cétane	82,22	-	NF 07013
Indice de peroxyde (meq O ₂ /kg)	1,49	-	AFNOR T60-220
Densité à 25°C	0,919	0,908	AFNOR T60-214
Indice de réfraction à 25°C	1,465	1,468	-
Viscosité à 37,8°C (mm ² /s)	49,79	-	NF ISO 30104
Pouvoir calorifique (MJ/kg)	39,61	40,32	-
Point éclair (°C)	227	-	NF EN ISO 2719
Point de congélation (°C)	10	-	ASTM D 97
Point d'écoulement (°C)	12	-	ASTM D 97
Point trouble (°C)	20	-	NF EN 23015

Pour l'huile des graines de neem, l'indice d'acide (10,2 mg/g) est en phase avec la faible teneur en acides gras libres (0,70%). L'indice de saponification élevé (200 mg/g) révèle une grande proportion de composés saponifiables. Cette valeur de l'indice de saponification voisine de celle de l'huile de palme (198 - 208,2) (Edem, 2002), confirme sa bonne qualité pour la production de savon. Le facteur INS (*Iodine Number Saponification value*) obtenu (127), est une caractéristique très importante dans la classification des huiles végétales destinées à la savonnerie. Cet INS moyen confère à l'huile de neem une bonne capacité à produire du savon, même sans mélange avec d'autres huiles ou corps gras. D'ailleurs, l'utilisation de l'huile de neem comme matière première dans la production de détergent est déjà connue (Ameh *et al.*, 2010).

L'indice d'iode qui est de 72,82 g/100g, traduit la proportion élevée en acides gras insaturés.

La valeur élevée du point éclair (227°C) indique l'absence de composés volatils dans l'huile et les faibles risques d'inflammation ou d'explosion lors de sa manipulation ou de son stockage dans les conditions normales de température et de pression.

La valeur du pouvoir calorifique (39,61 MJ/kg), relativement élevée n'est pas éloignée de celui du gazole qui est 43,8 MJ/kg (Vaitillingom, 2006). Ce résultat confirme que l'huile de neem serait une matière première intéressante pour la production de biodiesel, sachant que

l'utilisation des huiles végétales ou graisses animales comme biocarburant est liée à 80% à leur pouvoir calorifique inférieur (PCI) (Kulkarni *et al.*, 2007; Stavarache *et al.*, 2007). Précisons que l'utilisation de l'huile de neem dans la production de biodiésel par transestérification est déjà réalisée (Radha et Manikandan, 2011).

L'huile des graines de dattier du désert présente une faible acidité (0,5 mg/g) et un indice de saponification de 182,2 mg/g, un peu plus faible que celui de l'huile de neem. Tandis que son *INS* élevé (116) confirme sa qualité pour la production de savon. Son indice d'iode, un peu plus faible que celui de l'huile de neem (66,77 g/100g) est en relation avec le caractère insaturé de l'huile (72,55%). Le pouvoir calorifique (40,32 MJ/kg), est aussi légèrement inférieur à celui de l'huile de neem, mais indique toujours son intérêt pour la production de biocarburant.

Le fractionnement de ces deux graines par extraction avec un solvant aprotique apolaire comme le cyclohexane conduira donc à deux huiles originales, valorisables dans plusieurs domaines (savonnerie, biocarburant), avec le bilan matière théorique rapporté dans la **Figure II-5**.

L'extraction par solvant des graines laisse un raffinat solide qui représente 71 et 86% de la matière sèche, constitué majoritairement de fibres (62% et 79% respectivement pour le neem et le dattier du désert). Le décorticage préalable des graines permettrait de diminuer la teneur en fibres du tourteau, mais se traduira aussi par une perte en huile obtenue à partir des amandes séparées (**Figure II-6**).

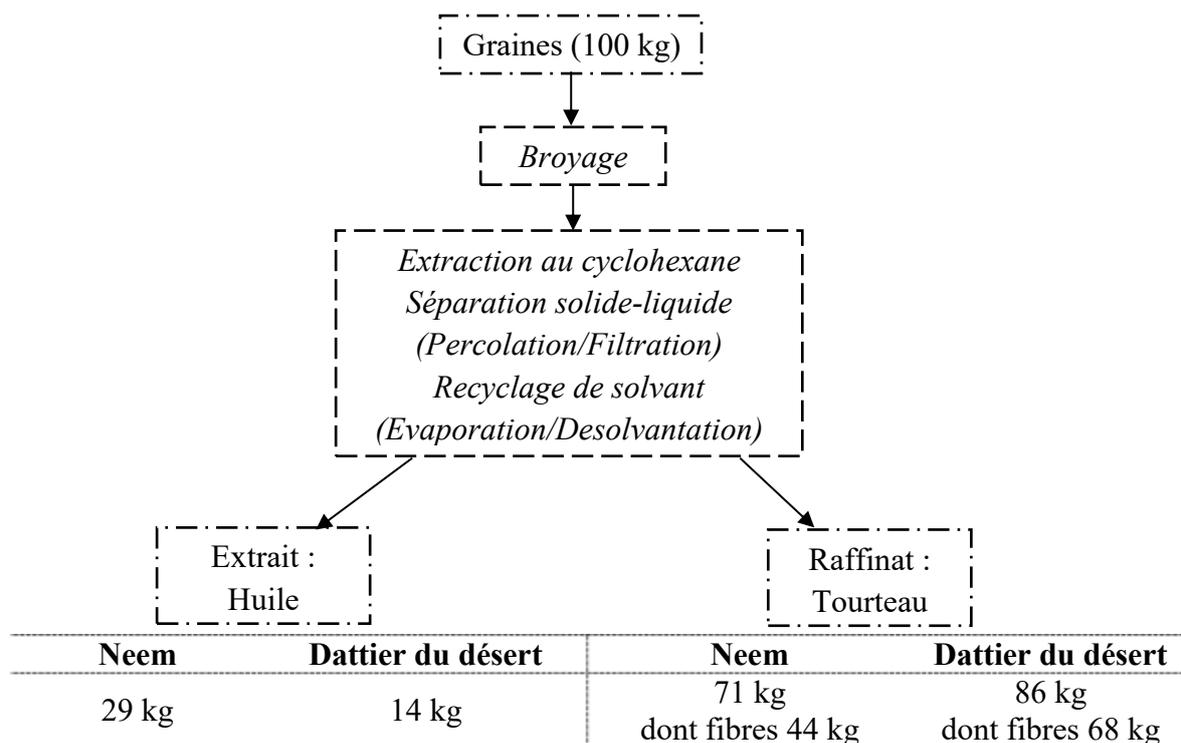


Figure II-5 : Bilan matière théorique du fractionnement par extraction au cyclohexane des graines de neem et de dattier du désert

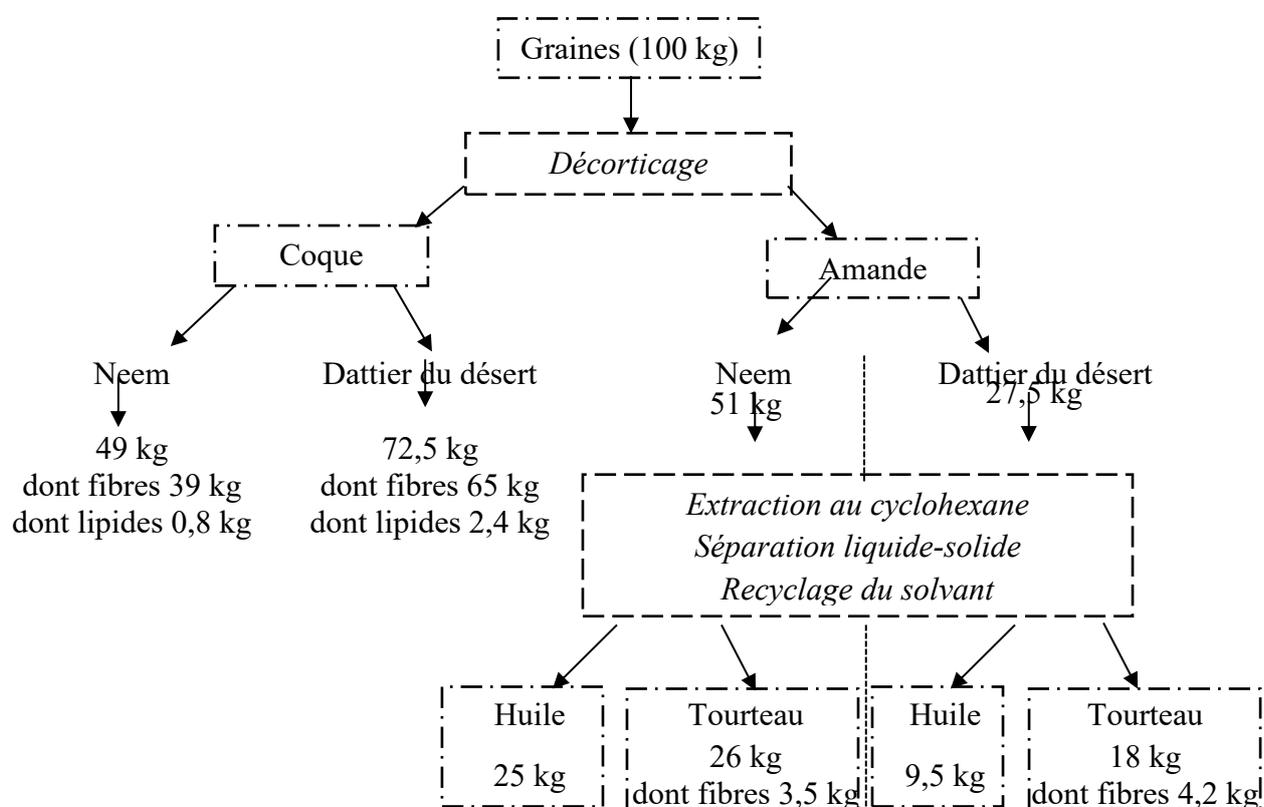


Figure II-6 : Bilan matière théorique du fractionnement par décorticage des graines et extraction au cyclohexane des amandes de neem et de dattier du désert

II.3.3. La fraction protéique

Les fractions protéiques des graines de neem et de dattier du désert sont estimées à partir de leur teneur en azote organique déterminée par la méthode de Kjeldahl selon la norme française NF V 18-100 (*Partie Expérimentale V.1.10*). La comparaison des teneurs azote dans la graine, l'amande et la coque (**Tableau II-11**) montre que comme pour la fraction lipidique, la majorité des protéines provient de l'amande.

Tableau II-11 : Répartition des protéines dans les graines de neem et de dattier du désert

	Neem			Dattier du désert		
	Graine	Amande	Coque	Graine	Amande	Coque
(MAT) NTK (g % MS)	2,03	4,07	0,35	1,45	4,60	0,36

Sur la base d'une teneur moyenne en azote dans les protéines, de 16% (correspondant au facteur de conversion 6,25, est de 6,03 pour les graines de neem), la teneur en protéines de la graine de neem peut être estimée à 12,2 et à 24,5% dans son amande. Ces valeurs sont proches de celles relevées dans la littérature (Faye, 2010). Elles sont plus élevées que dans la graine de dattier du désert (8,7%) mais un peu plus faible que dans son amande (27,8%), du fait principalement de la plus forte proportion de coque dans cette dernière.

L'analyse de la composition en acides aminés de la fraction protéique des graines (*Partie Expérimentale V.1.18*) montre leur proximité à celle des graines d'oléo-protéagineux comme le tournesol, le colza ou le soja, exception faite d'une teneur un peu plus élevée en acide glutamique, glycine et alanine dans le neem, en arginine dans le dattier du désert, et plus faible en méthionine de ces deux graines (**Tableau II-12**).

Tableau II-12 : Composition en acides aminés des graines de neem et du dattier du désert, et comparaison avec des graines oléagineuses

Acides aminés	Neem	Dattier du désert	Godon, 1985		
	% MAT	% MAT	Tournesol % MAT	Soja % MAT	Colza % MAT
Acide Aspartique (Asp)	9,62	11,01	8,2	10,6	7,1
Thréonine (Thr)	4,15	3,27	3,7	4	4,8
Serine (Ser)	7,19	4,46	4,5	5,6	6,5
Acide Glutamique (Glu)	23,65	19,87	15,9	18,9	14,9
Glycine (Gly)	8,64	7,16	5,9	4,3	4,6
Alanine (Ala)	7,14	4,08	4,7	4,5	4,3
Cystéine (Cys)	2,67	3,14	1,8	0,2	2,5
Valine (Val)	6,48	4,76	4,6	5	5,2
Méthionine (Met)	0,08	0,56	2,3	1,5	2,2
Isoleucine (Ile)	3,62	3,64	4,1	4,7	4
Leucine (Leu)	8,09	6,60	5,9	9,8	6,4
Tyrosine (Tyr)	1,47	2,24	2,8	3,9	2,9
Phénylanine (Phe)	3,36	6,25	4,3	4	3,8
Histidine (His)	2,23	2,19	2,5	3,1	2,7
Tryptophane (Trp)	1,06	-	1,2	-	1,3
Lysine (Lys)	4,14	3,64	3,9	6,3	6,2
Arginine (Agr)	6,41	13,96	7,9	7,8	6
Proline (Pro)	-	4,71	4,3	3,5	6,3

Toutefois, la composition en acides aminés essentiels reste très proche de celle des tourteaux de tournesol, de colza, de soja (Godon, 1985), d'arachide et de sésame (Babiker, 2012) obtenus après extraction des lipides (**Tableau II-13**). Ces tourteaux sont largement utilisés en alimentation animale, et plusieurs auteurs ont aussi proposé l'exploitation des amandes des graines de neem comme source de protéines dans l'alimentation animale (Anandan *et al.*, 1996; Aruwayo et Maigandi, 2013; Musalia *et al.*, 2000; Reddy, 1992; Uko et Kamalu, 2006), voire humaine.

Tableau II-13 : Composition en acides aminés essentiels des protéines de tourteaux utilisés en alimentation animale (Babiker, 2012; Godon, 1985)

Acides aminés	Soja	Colza	Tournesol	Arachide	Sésame
	% MAT	% MAT	% MAT	% MAT	% MAT
Thréonine (Thr)	4,10	4,80	3,70	1,42	1,54
Valine (Val)	5	5,20	4,60	1,98	1,84
Méthionine (Met) + Cystéine (Cys)	1,70	4,70	4,10	0,49	1,29
Isoleucine (Ile)	4,70	4,00	4,10	1,70	1,52
Leucine (Leu)	9,80	6,40	5,90	3,36	2,92
Phénylanine (Phe)	4,00	3,80	4,30	2,80	2,01
Lysine (Lys)	6,30	6,20	3,90	1,82	1,09
Tryptophane (Trp)	-	1,30	1,20	-	-

Le fractionnement par décorticage des graines et extraction des huiles de l'amande conduira à un tourteau riche en protéines, respectivement 48% et 42% pour le neem et le dattier du désert, dont la valorisation pour l'alimentation animale serait intéressante, au regard du critère de leur teneur en protéines, pour le neem supérieure et pour le dattier du désert comparable à celle de la plupart des tourteaux industriels disponibles sur le marché (**Tableau II-14**).

Tableau II-14 : Teneur en protéines de tourteaux industriels de graines oléagineuses (Evrard, 2005 ; Guillaume *et al.*, 1999 ; Leclerc *et al.*, 2016 ; Peyronnet *et al.*, 2012 ; Tran, 1994)

Tourteau	Tournesol décortiqué	Colza	Soja décortiqué	Coton décortiqué	Arachide décortiqué
Protéines (%)	33 – 40,5	34	45	42	48 - 50

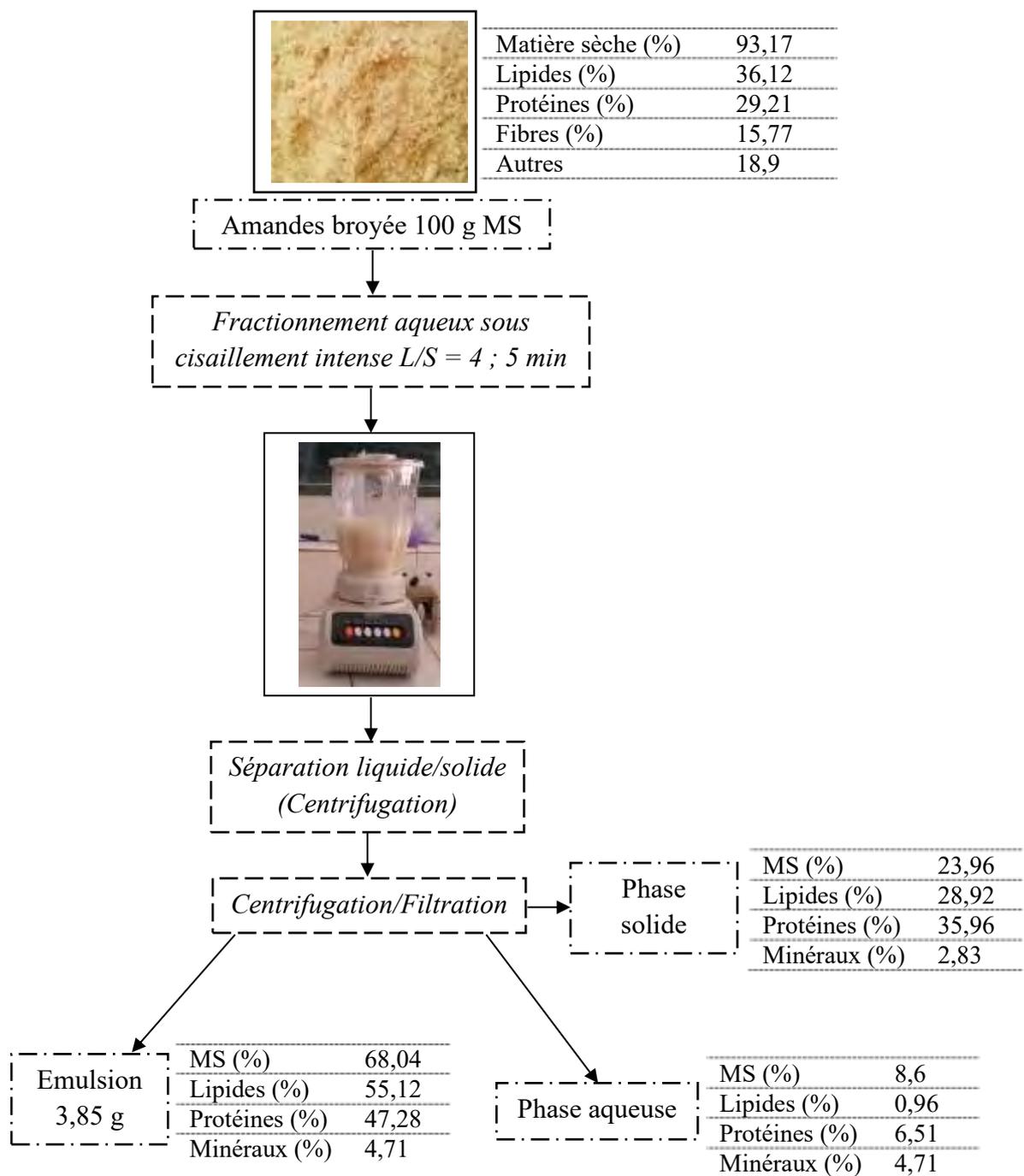
À ce stade des résultats de caractérisation par fractionnement analytique des graines de neem et de dattier du désert, plusieurs remarques s'imposent dans la perspective des schémas de fractionnement :

a.) Dans le cas du dattier du désert, les rendements maximum théoriques en protéines et en huile (respectivement inférieurs à 10 et 15% de la matière sèche de la graine) obtenus sans décorticage des graines et extraction par cyclohexane sont faibles, du fait de la très forte proportion de coque (supérieure à 70%). Dans le cas d'une extraction directe de la graine,

sans décorticage, le rendement maximum en huile ne serait que de 14%, et le tourteau obtenu, beaucoup plus riche en fibres (près de 79%), perdrait de sa valeur en apport protéique pour l'alimentation animale (10% en protéines).

Pour une production annuelle de 100 à 150 kg de fruits et 50 à 75 kg de graines par arbre (*Paragraphe I.1.1*), 1 million d'arbres seraient nécessaires pour alimenter une unité industrielle d'extraction produisant de l'ordre de 45 000 tonnes de coques (équivalent à 228 562 500 kW), 8 800 tonnes d'huile et 11 000 tonnes de tourteaux décortiqués. Et le dimensionnement d'une telle unité de capacité de 200 tonnes de graines par jour (62 000 tonnes/an) est petit par comparaison à celui des huileries modernes (jusqu'à 2 200 tonnes de graines/jour), permettant l'amortissement (16 554 à 21 520 €/tonne d'une huile brute) sur le marché des huiles alimentaires et des tourteaux (300 à 380 €/tonne de tourteau) pour l'alimentation animale, d'installations répondant aux critères de sécurité et d'impact environnemental (extraction et recyclage du solvant). Une alternative permettant de mieux adapter le dimensionnement des installations de fractionnement aux contraintes de la récolte et d'écartier celles de la mise en œuvre du solvant organique serait :

- Le fractionnement mécanique des amandes par pressage en absence de solvant. Cette voie devra faire l'objet d'une étude pour l'optimisation des rendements en huile exprimée ; mais bien qu'ils restent probablement inférieurs à ceux obtenus par extraction par solvant, le dimensionnement d'une presse permettant son amortissement sur le marché des huiles vierges (19 865 à 24 832 €/tonne), de qualité alimentaire ou cosmétique est plus compatible avec la récolte des fruits de dattier du désert (3 000 tonnes/an de graines traitées correspondraient à 50 000 arbres en moyenne). Par ailleurs, l'énergie produite par combustion des coques contribuera à minimiser les coûts énergétiques du décorticage et du pressage, et les tourteaux de pressage conserveront leur haute teneur en protéines, sans être pénalisés par la teneur en lipides résiduels.
- Le fractionnement aqueux des amandes dans lequel l'eau se substitue aux solvants organiques. Les essais préliminaires réalisés au laboratoire dans un contacteur à haut pouvoir cisailant (**Figure II-7**) ont montré que 61% des lipides et 52% des protéines de l'amande peuvent être extraits sous forme d'une émulsion (composée de 40% de lipides et 45% des protéines de la graine).



Bilan matière	Amande (g)	Phase solide (%)	Emulsion (%)	Phase liquide (%)
MS	100	41	29	30
Lipides	36,12	29	40	31
Protéines	29,21	48	45	7

Figure II-7 : Fractionnement aqueux des amandes de dattier du désert (*Partie Expérimentale V.2*)

Cette technique de fractionnement, déjà étudiée dans le cas des graines de tournesol (Evon, 2008) et de neem (Faye, 2010) devra faire l'objet d'étude approfondie tant du point de vue des composés minoritaires extraits de l'amande du dattier du désert, et en particulier des saponines (*Paragraphe I.2.1*), que du point de vue des technologies mises en œuvre par le transfert du procédé. Néanmoins, l'obtention de nouvelles émulsions à fortes valeurs ajoutées dans le domaine des cosmétiques, voire la nutraceutique et la pharmacie traditionnelle ouvre d'ores et déjà de nouvelles perspectives pour un fractionnement complémentaire des graines, d'autant plus qu'il serait intégré dans une filière de transformation des fruits de dattier de désert (**Figure II-8**).

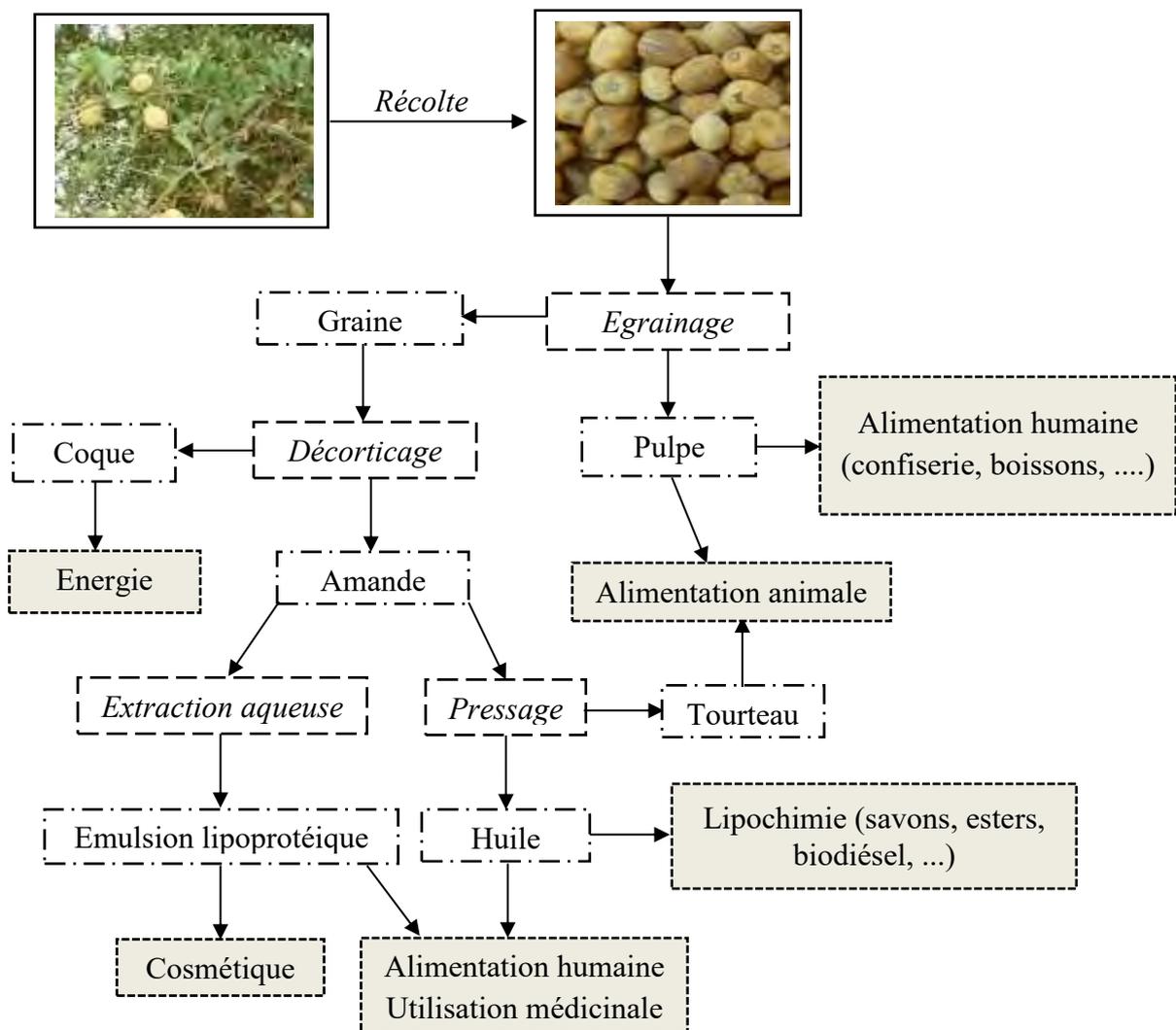


Figure II-8 : Extraits et raffinats du fractionnement du dattier du désert et domaines d'application

b.) Dans le cas de la graine de neem, les rendements théoriques maximum en huile sont plus élevés (29% de la matière sèche de la graine), et le décorticage des graines (49% de coque) permet d'obtenir un tourteau d'extraction de l'huile (26% de matière sèche de la graine) riche en protéines (48%) et pauvre en fibres pariétales (14%). En tenant compte de la valorisation des coques pour la production d'énergie et de la meilleure valeur ajoutée des tourteaux à haute teneur en protéines sur le marché de l'alimentation animale, cette répartition des constituants de la graine de neem pourrait être favorable pour un dimensionnement d'une unité de production de 100 000 tonnes/an d'huile, plus compatible avec l'amortissement des installations d'extraction par solvant. Cependant, une telle unité devrait traiter 345 000 tonnes/an de graines, correspondant à la récolte de 11,5 millions d'arbres produisant en moyenne 30 kg de graines par an, ce qui représenterait 40 à 60% de la population des arbres au Sénégal et pose évidemment la question de l'aire de récolte (0,9 à 1,5 arbre/ha) et du coût de transport des graines.

Comme dans le cas du dattier du désert, le fractionnement mécanique des graines de neem par pressage permettra de minimiser le dimensionnement des installations de trituration et de mieux s'adapter à la contrainte de l'aire de collecte. Toutefois, les rendements en huile exprimée à partir des graines sont plus faibles (55 à 65% de la fraction lipidique) comme l'ont montrés les travaux de Faye (Faye, 2010), même si le décorticage préalable de la graine et le pressage de l'amande pourraient permettre d'améliorer le bilan.

Dans un cas comme dans l'autre, la valorisation de la fraction minoritaire des constituants de la graine permettent d'améliorer le bilan du procédé.

II.3.4. La fraction des composés minoritaires des graines de neem

Le bilan matière établi à partir de l'analyse des principaux constituants de la graine de neem (44% de fibres pariétales, 29% de lipides et 12% de protéines, soit 85% de la matière sèche) fait apparaître 15% matière sèche non identifiée, soit si l'on exclut la matière minérale (4,7% de la matière sèche), près de 10% de matière organique, parmi lesquels de nombreux constituants d'origine métabolique ont été identifiés en relation avec les activités des extraits de graine (*Paragraphe I.2.3*).

II.3.4.1. L'huile essentielle de graine de neem

L'huile essentielle de la graine de neem est extraite par hydro distillation selon la méthode préconisée par la pharmacopée française. Sa composition est déterminée par l'analyse de sa fraction volatile en GC-FID et GC-MS (*Partie Expérimentale V.I.12*). Elle représente 0,076% de la matière sèche des graines. L'identification de ses composés a permis de mettre en évidence la présence de 34 composés. Le composé majoritaire est le 5,6-dihydro-2,4,6-triethyl-(4H)1-3,5-dithiazine ou thialdine (39,1%) (**Figure II-9**).

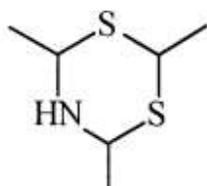


Figure II-9 : 5,6-dihydro-2,4,6-triethyl-(4H)1-3,5-dithiazine (Thialdine)

Les autres composés en proportion élevée sont 1,2,4-trithiolane, 3,5-diethyl (7,9%), 1H-indole 2,3-dione (7,9%), trans 1,2,4-trithiolane, 3,5-diethyl (6,2%), et éthyl thioisobutyrate (4%) (**Tableau II-15**). Ce résultat est proche de celui obtenu sur l'huile essentielle des graines de neem collectées en Inde (Kurose et Yatagai, 2005), dont le composé majoritaire est aussi le 5,6-dihydro-2,4,6-triethyl-(4H)1-3,5-dithiazine. Cette composition est caractéristique de celle des huiles essentielles de graines, qui en général ont une composition spécifique, différente les unes des autres.

Remarquons que l'huile essentielle des graines de neem comporte quelques composés assez souvent rencontrés dans des huiles essentielles de graines, comme le δ -cadinene (Ajaiyeoba et Ekundayo, 2007; Elzaawely *et al.*, 2007; Gao *et al.*, 2011; Jain *et al.*, 2001; Prakash *et al.*, 2006), l' α -cadinol (Ajaiyeoba et Ekundayo, 2007; Elzaawely *et al.*, 2007; Jain *et al.*, 2001) et l' α -longipinene (Hajhashemi *et al.*, 2004; Singh *et al.*, 2005).

Tableau II-15 : Composition de l'huile essentielle des graines de neem

Composés	%	IR ^a	IR _{th}	Identification
2-Methyl-1-D1-aziridine	0,3	665	690	MS, RI
Tiirane methyl	0,3	854		MS, RI
3,4-Dimethylthiophene	1,3	887	884	MS, RI
Thiophene, 2,5-dimethyl	0,4	914	884	MS, RI
Disulfide, dipropyl	0,2	1117	1119	MS, RI
Ethyl thioisobutyrate	4	1131		MS, RI
2-Methyl-2-ethyl-1,3-dithiolane	0,3	1153	1116	MS, RI
Benzene 1-methyl 2-(propylthio)	0,8	1256	1356	MS, RI
1,1,2-Tri (methylthio) ethene	0,8	1264	1256	MS, RI
N-Formyl-3-methyl-3,4-dihydro-2H-1,4-benzoxazine	0,3	1311		MS, RI
Ethane 1,1'-[[methylthio] methylene] bis (thio)] bis	0,7	1321	1306	MS, RI
NI	0,5			MS, RI
NI	0,3			MS, RI
NI	0,3			MS, RI
Trans 1,2,4-Trithiolane, 3,5-diethyl	6,2	1354	1344	MS, RI
Cis 1,2,4-Trithiolane, 3,5-diethyl	7,9	1363	1373	MS, RI
β-Cubebene	0,6	1387	1388	MS, RI
2-propanamide 1-propene-1(1-methoxy)	2,6	1397		MS, RI
1H-indole 2,3-dione	7,5	1408	1381	MS, RI
(±) 3,5-Diethyl-1,2,4-trithiolane	0,7	1424	1378	MS, RI
NI	1,6			MS, RI
α-Cedrene	0,6	1432	1411	MS, RI
NI	0,4			MS, RI
α-Bergamotene	0,5	1438	1435	MS, RI
α-Longipinene	0,7	1450	1403	MS, RI
Bicyclo [4.4.0] dec-1-en 2-isopropyl-5-methyl-9-methylene	0,4	1462	1503	MS, RI
Italicene	0,7	1478	1405	MS, RI
5,6-dihydro-2,4,6-triethyl-(4H)1-3,5-dithiazine (Thialdine)	39,1	1498		MS, RI
Valencene	1,2	1507	1496	MS, RI
β-Bisabolene	1	1513	1509	MS, RI
δ-Cadinene	0,5	1527	1523	MS, RI
6,10,11,11-Tetramethyl tricyclo [6.3.0 (2,3)] undec-1 (7)-ene	2	1533		MS, RI
3H-1,2,4-triazole-3-thione 2,4-dihydro-5-methyl	1			MS, RI
Trans 3-hexanedioic acid, bis (trimethylsilyl) ester	1,5	1613	1586	MS, RI
1,3,4-Trithiane 2,2,4,4,6,6-hexamethyl	1,4	1619	1547	MS, RI
2-isopropoxyphenyl N-methylcarbamate	2,1	1661	1598	MS, RI
α-Cadinol	1,6	1669	1653	MS, RI
Hexanoic acid 4-(1-pyrrolidinylmethyl methyl ester)	1,6	1683	1561	MS, RI
4 (1H)-pyrimidinone 2-amino 6-(methylamino)	1	1774	1552	MS, RI
Total	94,9			

IR^a : Indices de Rétention en MS ; IR_{Th} : Indice de rétention théorique ; NI : Non identifié ;
RI : Retention index ; MS : Mass Spectrometry

L'huile essentielle des graines de neem est constituée pour l'essentiel de composés soufrés et/ou azotés (**Tableau II-16**). Des études sur ses potentialités antioxydantes, antibactériennes ou antifongiques doivent toutefois être réalisées pour mieux orienter ses voies de valorisation.

Tableau II-16 : Composition par groupes de composés de l'huile essentielle des graines de neem

Groupes de composés	%
Azotés et Soufrés	40,1
Soufrés	25,3
Azotés	15,1
Sesquiterpènes	7,4
EAG	1,5
Hydrocarbures	0,4
Total	89,8

EAG : Esters d'Acides Gras

II.3.4.2. Les composés phénoliques des graines de neem

L'origine des composés phénoliques dans les plantes est multiple, et plus de 8 000 composés connus à ce jour seraient synthétisés dans le règne végétal (Collins *et al.*, 2011). À l'exception des lignines, considérées comme des biopolymères de structures de la fraction fibre insoluble, ces composés phénoliques sont des métabolites secondaires, souvent impliqués dans les mécanismes de défense des plantes (La Camera *et al.*, 2004), mais aussi dans des activités spécifiques comme par exemple la couleur (anthocyanidines). Leur biosynthèse, impliquant de multiples voies, en particulier celle des phénylpropanoïdes, aboutit à l'incorporation de motifs phénoliques dans leur structure chimique, sous forme de molécules simples, comme les acides phénoliques et leurs dérivés ou plus complexes, comme les flavonoïdes, d'oligomères comme les lignanes, précurseurs des lignines, ou de macromolécules et de polymères, comme les tanins (**Tableau II-17**). Cette dernière famille, qui regroupe les proanthocyanidines ou tanins condensés et les tanins hydrolysables, sous le nom de tanins végétaux, est sans doute celle des polyphénols de plantes les plus étudiés car ces métabolites secondaires sont largement présents dans le règne végétal, pouvant atteindre 50% de la matière sèche de certains organes de plantes tels que les écorces (Matthews *et al.*, 1997).

Tableau II-17 : Familles de composés phénoliques des végétaux (Celhay, 2013 ; Collins *et al.*, 2011)

Classe de composés phénoliques	Squelette carboné
Phénols simples	C ₆
Acides phénoliques et dérivés	C ₆ -C ₁
Acétophénonnes et acides phénylacétiques	C ₆ -C ₂
Acides cinnamiques, cinnamyl aldéhydes/alcools	C ₆ -C ₃
Coumarines, isocoumarines, chromones	C ₆ -C ₃
Benzonphenones, xanthonnes	C ₆ -C ₁ -C ₆
Stilbènes	C ₆ -C ₂ -C ₆
Chalcones, aurones, dihydrochalcones	C ₆ -C ₃ -C ₆
Flavones	C ₆ -C ₃ -C ₆
Flavonols	C ₆ -C ₃ -C ₆
Flavanones	C ₆ -C ₃ -C ₆
Flavanonole	C ₆ -C ₃ -C ₆
Flavan-3-ols	C ₆ -C ₃ -C ₆
Isoflavonoïdes	C ₆ -C ₃ -C ₆
Anthocyanidines/antocyanines	C ₆ -C ₃ -C ₆
Biflavonoïdes	(C ₆ -C ₃ -C ₆) ₂
Bebzoquinones, naphthaquinones, antraquinones	C ₆ -C ₁₀ -C ₁₄
Bétacyanines	C ₁₈
Dimères ou oligomères	Lignanes
Polymères	Lignine
Polymères	Phlobaphènes

Connus sous l'appellation de gallotanins et d'ellagitanins, tous les deux hydrolysables, ils ont en commun le motif acide gallique dans leur structure moléculaire, ce qui justifie la mise en œuvre d'une réaction colorée spécifique des groupements phénoliques comme révélateur de leur présence et pour leur dosage (Réactif de Folin-Ciocalteu : *Partie Expérimentale V.1.11*).

Par ailleurs, la présence des groupements aromatiques phénoliques rend ces molécules moyennement polaires et le solvant de leur extraction sera choisi pour sa polarité intermédiaire entre l'eau et l'hexane, comme le méthanol ou l'éthanol ou leur mélange hydro-alcoolique (*Paragraphe I.3.3 Figure I-7*).

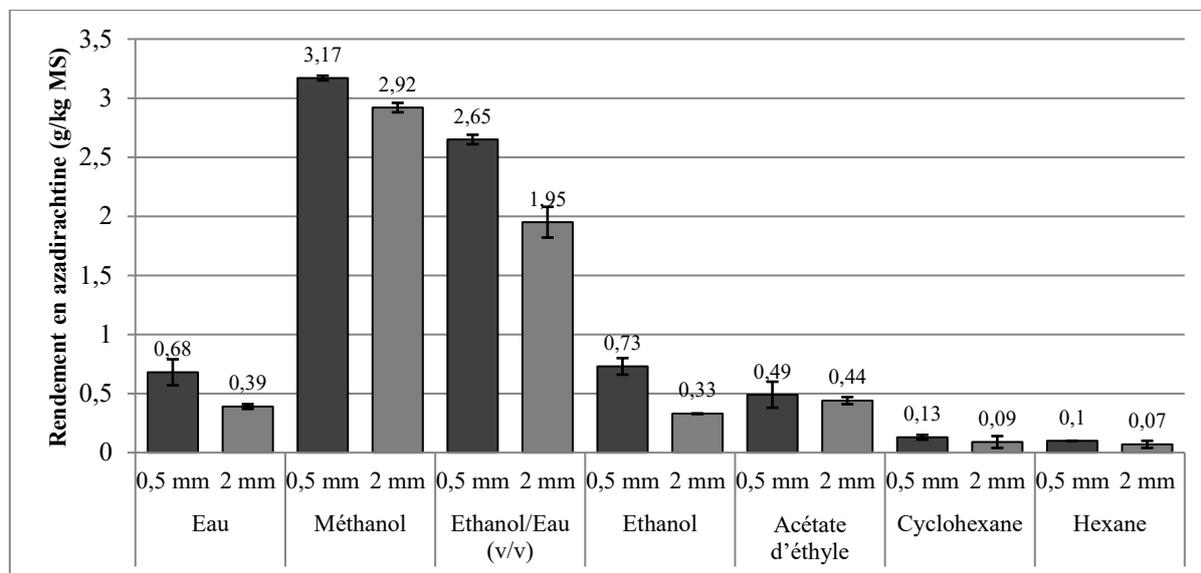
La fraction composés phénoliques des graines de neem a été évaluée par dosage colorimétrique avec le réactif de Folin-Ciocalteu dans un extrait hydrométhanolique (20/80% v/v) des graines broyées déshuilées au cyclohexane (*Partie Expérimentale V.1.4*). Elle représente 0,11% de la matière sèche de la graine et 0,15% du tourteau déshuilé, exprimé en équivalent de masse d'acide gallique. Bien qu'aucune donnée de littérature ne confirme ce dosage, ce résultat apparaît cohérent avec le fait qu'aucun usage traditionnel des extraits de neem ne mentionne d'application dans le domaine des tanins (tannage végétal de peaux), ni de propriétés antioxydantes, souvent associées aux composés phénoliques (Brown *et al.*, 1998; Jerez *et al.*, 2007; Katiyar *et al.*, 2001; Rice-Evans *et al.*, 1996; Zhang *et al.*, 2015). Cette faible teneur apparaît aussi cohérente avec le fait que les tourteaux de graines de neem ne sont pas colorés, à la différence des tourteaux de tournesol, dans lesquels les composés phénoliques, identifiés comme les acides phénoliques et leurs dérivés (coumariniques, caféiques, chlorogéniques, ...), sont présents en proportion beaucoup plus forte (3 à 6% de la matière sèche) (Leyris, 1998). Ces composés, présents dans la plupart des graines d'oléagineux, sont rendus responsables de la coloration sombre des farines protéiques de tournesol.

II.3.4.3. La fraction limonoïdes des graines de neem

Parmi les multiples limonoïdes extraits des graines de neem (Tableau I-6), ce sont les triterpénoïdes en particulier l'azadirachtine qui fait l'objet du plus grand nombre de travaux en raison de ses propriétés insecticides. L'azadirachtine contenue dans les extraits de neem est dosé par HPLC, équipé d'un détecteur UV à 215 nm, avec un gradient d'élution du solvant eau/acétonitrile (*Partie Expérimentale V.1.13*), selon un protocole adapté des méthodes décrites dans la littérature (Govindachari *et al.*, 1990; Jarvis *et al.*, 1999; Johnson *et al.*, 1996; Johnson et Morgan, 1997; Kaushik, 2002; Kumar et Parmar, 1996; Rengasamy *et al.*, 1993; Silva *et al.*, 2007; Warthen *et al.*, 1984; Yamasaki *et al.*, 1986).

L'extraction de l'azadirachtine est réalisée dans un contacteur agité, sur les amandes broyées 0,5 ; 1 et 2 mm, avec un ratio solvant/amande de 5, pendant 3 heures et demi à 20, 30 et 40°C (*Partie Expérimentale V.1.13.1*). Six solvants de polarité décroissante et le mélange eau/éthanol sont comparés, et la purification de l'extrait pour le dosage de l'azadirachtine est adaptée à la nature de solvant (*Partie Expérimentale V.1.13.1*). Les résultats obtenus montrent que :

■ Comme on pouvait s’y attendre, la diminution de la taille des particules d’amandes broyées favorise le rendement d’extraction de l’azadirachtine (**Figure II-10**). Mais cet effet d’augmentation de la surface d’échange solide-liquide, qui devra agir sur les cinétiques de diffusion, reste peu sensible au bout de 3 heures et 30 minutes de temps de contact.

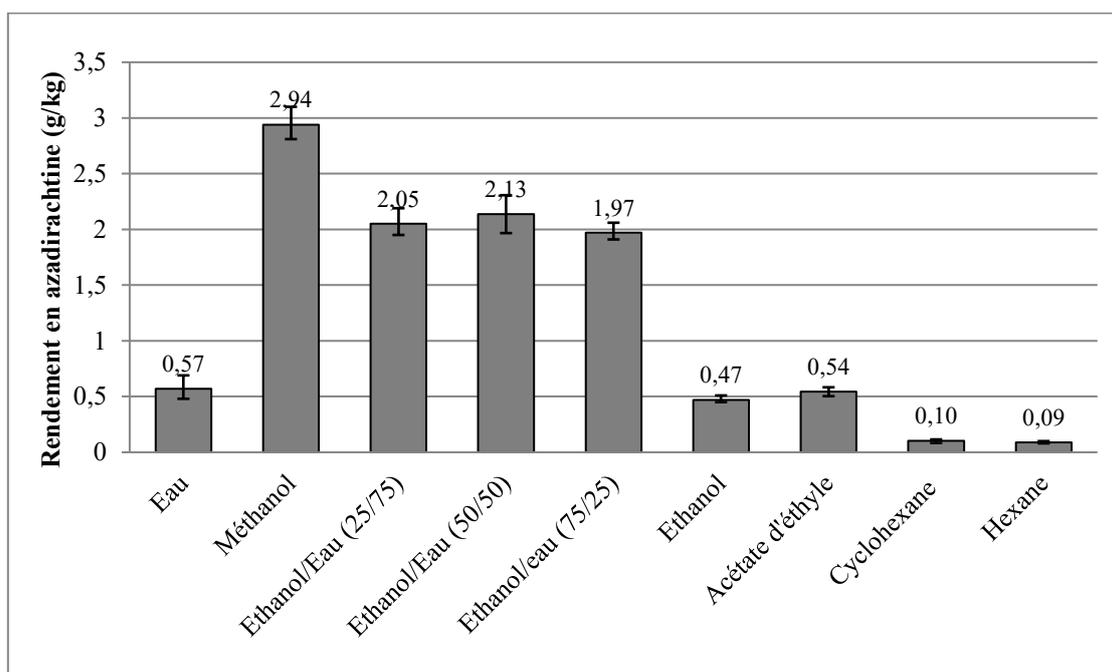


Amandes broyées : 50 g ; volume de solvant : 250 mL ; durée de l'extraction 3 heures et demi ; température 30°C ; nombre d'extraction : 1

Figure II-10 : Diagramme comparatif des rendements en azadirachtine des amandes broyées à 0,5 mm et à 2 mm

■ Parmi les solvants purs comparés, c’est le méthanol qui conduit aux meilleurs rendements (**Figure II-11**). À l’opposé, les solvants aprotiques apolaires (cyclohexane et hexane) s’avèrent inefficaces pour l’extraction de l’azadirachtine, alors qu’ils le sont pour l’extraction des lipides. La délipidation des graines par de tels solvants n’entraînera que peu d’azadirachtine dans l’huile extraite. Un solvant aprotique de polarité intermédiaire comme l’acétate d’éthyle permet une extraction partielle de l’azadirachtine, mais avec des rendements limités, tout comme l’éthanol pur, malgré sa faculté à former des liaisons hydrogènes (caractère protique). L’eau, solvant le plus protique et polaire ne conduit pas non plus à des rendements d’extraction élevés ; pratiquement équivalents à ceux obtenus avec l’éthanol. Ce résultat peut être attribué à une mauvaise diffusion de l’eau dans les particules d’amandes broyées, liée à la présence des lipides formant un effet barrière à la diffusion du solvant non

miscible. Mais aussi au fait que l'eau n'est pas un bon solvant de l'azadirachtine, dont les paramètres de solubilité sur l'échelle de Hansen (Figure I-7) seraient beaucoup plus proches de ceux du méthanol ($\delta_h = 22,3$; $\delta_p = 12,3$; $\epsilon = 33$) que ceux de l'eau ($\delta_h = 42,3$; $\delta_p = 16$; $\epsilon = 80$), et qui conduit à des rendements d'extraction 5 fois plus élevés qu'avec l'eau. Une même interprétation relative aux paramètres de solubilité et la polarité du solvant pourrait être envisagée pour expliquer les rendements élevés obtenus avec les mélanges éthanol-eau, qui sont près de 4 fois plus élevés que ceux obtenus avec l'eau ou l'éthanol seul, la polarité de ces mélanges étant intermédiaire avec celle des solvants purs, et plus proche de celle du méthanol. Cependant, le peu d'effet sur les rendements de la proportion d'eau et d'éthanol dans les mélanges, qui devrait agir sur leur polarité, indique aussi que d'autres phénomènes peuvent intervenir dans l'extraction, comme l'entraînement ou la co-extraction des lipides, sur laquelle nous reviendrons un peu plus loin.

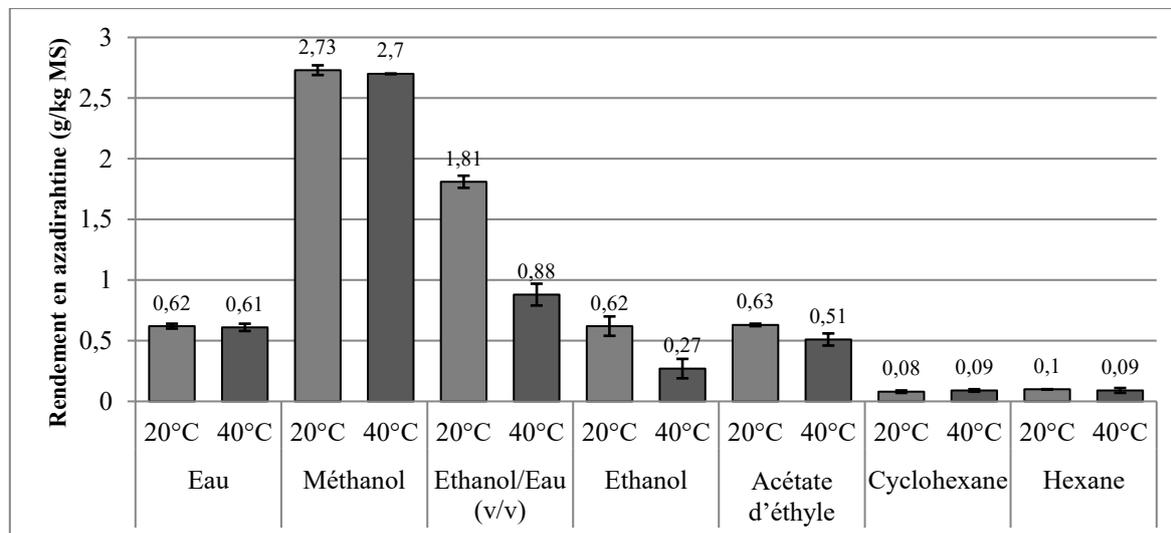


Amandes broyées à 1mm : 50 g ; volume de solvant : 250 mL ; durée de l'extraction 3 heures et demi ; température 30°C, en une extraction

Figure II-11 : Rendement en azadirachtine des amandes de neem de quelques solvants

- À l'exception de l'éthanol et du mélange eau-éthanol, l'augmentation de la température de 20 à 40°C n'agit pratiquement pas sur les rendements d'extraction de l'azadirachtine, pour

tous les autres solvants (**Figure II-12**). Ce résultat apparaît cohérent avec les données de la littérature qui indiquent que l'azadirachtine est stable jusqu'à 50°C (Schmutterer, 1995) et même 60°C (Schiffers *et al.*, 1997). L'effet d'une augmentation de la température sur la viscosité des solvants et leur polarité ne serait pas significatif au bout de 3 heures et demi de temps de contact avec l'amande, pour lequel l'équilibre d'extraction est pratiquement atteint (Faye, 2010). Dans le cas de l'éthanol et du mélange eau-éthanol (50/50) par contre, une diminution significative des rendements en azadirachtine est observée (près de 50% en moyenne) avec une élévation de 20°C de la température, alors que dans l'eau, aucune différence n'est observée. Ce résultat pourrait donc être imputé au comportement de l'éthanol vis-à-vis de l'extraction des lipides, dont la solubilité dans ce solvant augmente avec la température (Leybros et Frémeaux, 1990). Et la polarité du mélange éthanol/huile extraite tendrait à diminuer, s'éloignant des caractéristiques propices à la solubilité de l'azadirachtine. Un phénomène similaire expliquerait la légère diminution de rendement entre 20 et 40°C dans l'acétate d'éthyle. Ce phénomène n'est pas observé dans le méthanol, bien que les lipides y soient également solubles.



Amandes broyées à 1mm: 50 g ; volume de solvant : 250 mL ; durée de l'extraction 3 heures et demi ; nombre d'extraction : 1

Figure II-12 : Diagramme comparatif du rendement par solvant de l'azadirachtine à 20°C et 40°C

En conclusion, l'azadirachtine apparaît comme un composé moyennement polaire, apte à former des liaisons hydrogènes avec les solvants protiques, à travers des groupements hydroxyles et esters dont la molécule est porteuse, mais dont le squelette carboxylique et la présence de double liaison et de cycle furanique tempèrent l'hydrophilie (Figure I-5). Elle est pratiquement insoluble dans les solvants apolaires, et donc dans les huiles, peu soluble dans l'eau, mais soluble dans le méthanol.

L'extraction au méthanol des amandes ou des graines broyées à une granulométrie de 1 mm à 30°C pendant 3,5 heures, avec un ratio liquide/solide de 5, et répété 3 fois, conduit à un rendement en azadirachtine de 2,24 g/kg de matière sèche de graines et de 4,22 g/kg de matière sèche d'amande. Ces valeurs seront considérées comme les teneurs en azadirachtine du lot de graines traité, très peu d'azadirachtine proviennent des coques (Faye, 2010). Elles sont cohérentes avec celles obtenues précédemment par Faye mais peuvent subir quelques variations en fonction de l'origine des lots.

II.4. Conclusion

La mise en place d'un schéma efficace de fractionnement des graines de neem et de dattier du désert pour une valorisation de leurs constituants nécessite au préalable la connaissance de leur composition. Les résultats du fractionnement analytique montrent que la graine de neem comme celle de dattier du désert sont composées de trois fractions principales : fibres, lipides et protéines.

- La fraction fibre, en majorité cellulosique, représente 44% de la matière sèche de la graine de dattier du désert et 68% de celle de neem. Ces fibres proviennent essentiellement des coques (85% pour le dattier du désert et 92% pour le neem) et ceci est lié à la nature fibreuse de celles-ci (80% pour celles de neem et 90% pour celles de dattier du désert).

- La fraction lipidique des deux graines est localisée essentiellement dans l'amande (97% pour le neem et 80% pour le dattier du désert). Ces huiles sont composées majoritairement de l'acide oléique (principal acide gras du neem, 41,91%), linoléique (principal acide gras du dattier du désert, 37,58%), stéarique et palmitique. Ces deux huiles sont composées essentiellement de triglycérides (97,69% pour l'huile de neem et 98,1% pour celle de dattier du désert) et sont constituées majoritairement des acides gras stéarique-oléique-linoléique (SOL) et palmitique-oléique-linoléique (POL). Les phytostérols (3,34 g/kg dans l'huile de neem et 2,11 g/kg dans celle de dattier du désert) sont composés en majorité du β -Sitostérol et

du Stigmastérol. Les tocophérols sont toutefois plus concentrés dans l'huile de dattier du désert (512,40 mg/kg) avec l' α -tocophérol majoritaire (67,18%), que dans celle de neem (338,70 mg/kg) avec le γ -tocophérol majoritaire (68,88%).

■ La fraction protéique des graines (12% pour le neem et 8,7% pour le dattier du désert) provient essentiellement des amandes (24,5% de la matière sèche des amandes de neem et 27,8% de celle des amandes de dattier du désert) et sa composition en acides aminés est caractéristique de celle des graines d'oléo-protéagineux.

Outre ces biopolymères, la graine de neem renferme de nombreux constituants d'origine métabolique, du groupe des limonoïdes dont l'azadirachtine, la principale molécule responsable des propriétés insecticides de cette graine, des composés volatils représentant l'huile essentielle et des composés phénoliques en faible concentration.

Les essais d'extractibilité réalisés dans un contacteur agité montrent que la réduction de la taille des amandes broyées améliore les rendements d'extraction de l'azadirachtine et que le méthanol, après extraction et purification est le solvant qui conduit aux meilleurs rendements ; il est suivi du mélange hydro-éthanolique. À l'exception de l'éthanol et du mélange hydro-éthanolique, une augmentation de la température d'extraction (de 20 à 40°C) n'influence quasiment pas les rendements de l'azadirachtine.

Ainsi, la connaissance de la composition en différents composants essentiels (fibres, lipides, protéines, azadirachtine dans le cas du neem) et les caractéristiques des extraits de ces deux graines dont certaines sont déjà connues et fournies par la littérature, ouvre des perspectives pour leur fractionnement. Le fractionnement en extrudeur bi-vis est adapté à la structure et la composition de ces deux graines, et permettra de réaliser l'extraction des différents constituants ciblés. Il permet d'offrir en outre la possibilité de réaliser efficacement plusieurs opérations unitaires, notamment de broyage, pressage, extraction et séparation solide-liquide.

Ainsi, la mise en œuvre de l'extrudeur bi-vis et l'utilisation de solvants naturels ou issus de la biomasse pour le fractionnement de la graine de neem en vue d'une production simultanée d'huile, d'azadirachtine et de raffinat d'extrusion pour leur valorisation serait innovante.

La suite de travaux sera orientée vers le fractionnement en extrudeur bi-vis de graine de neem pour la mise en place d'un procédé qui permettra la production de trois fractions (huile, co-extrait d'azadirachtine-lipide-protéine et d'un raffinat d'extrusion) pour leur valorisation.

La graine de dattier du désert pourra ainsi faire l'objet d'étude ultérieure.

Chapitre III

ETUDE DES CONDITIONS DU
FRACTIONNEMENT DE LA GRAINE DE NEEM EN
EXTRUDEUR BI-VIS

CHAPITRE III. ETUDE DES CONDITIONS DU FRACTIONNEMENT DE LA GRAINE DE NEEM EN EXTRUDEUR BI-VIS

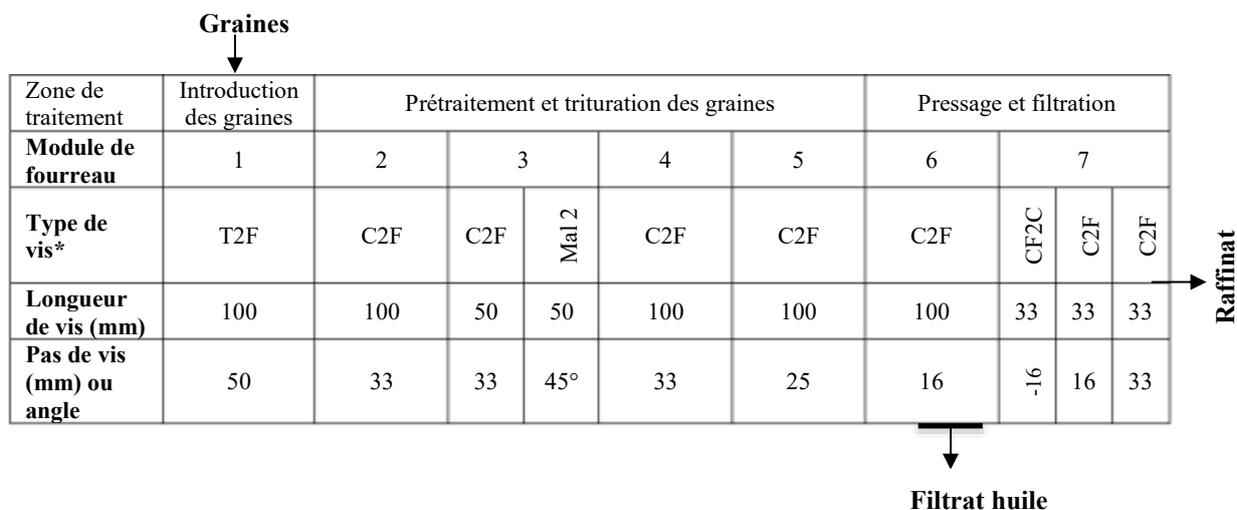
III.1. Introduction

Les travaux antérieurs réalisés au Laboratoire de Chimie Agro-Industrielle sur le fractionnement bi-vis de graines oléagineuses (Paragraphe I-4, Tableau I-13) ont montré que l'adaptation de la configuration et du profil de vis d'un extrudeur bi-vis permet de le mettre en œuvre :

- Comme presse pour l'expression de l'huile des graines avec d'excellents rendements, de 80 à 85% dans le cas des graines de tournesol (Amalia Kartika *et al.*, 2004a, 2004b; Dufaure *et al.*, 1999).
- Comme extracteur et séparateur solide-liquide avec l'eau comme solvant, conduisant à l'extraction des lipides de la graine de tournesol sous forme d'une émulsion stabilisée par les protéines hydrosolubles (Evon, 2008).

Dans le cas des graines de neem, des rendements en huile de 63% (Faye, 2010) sont atteints dans un extrudeur bi-vis configuré comme une presse avec un profil de vis définissant trois zones du fourreau : une zone d'alimentation, une zone de prétraitement trituration des graines et une zone de filtration-pressage (**Figure III-1**). Ces rendements sont équivalents à ceux obtenus avec une presse mono-vis, et très peu d'azadirachtine est entraînée avec l'huile exprimée. L'injection d'eau dans la zone de trituration des graines de l'extracteur équipé du même profil fait apparaître une nouvelle zone d'extraction solide-liquide par l'eau, conduisant au filtrat de pressage, à une émulsion eau dans l'huile. Des rendements en lipides extraits proches de 70% sont atteints dont 76% sous forme d'émulsion après clarification et homogénéisation du filtrat d'extrusion. L'azadirachtine est alors extraite avec un rendement supérieur à 80%, dont plus de la moitié est présente dans l'émulsion stabilisée.

Notre objectif dans ce chapitre c'est d'étudier les conditions du fractionnement de la graine de neem pour le choix d'une configuration et d'un profil de vis permettant la combinaison de l'expression et l'extraction par solvant dans un extrudeur bi-vis.



*Code de vis voir tableau I.8.

Conditions opératoires : Température de consigne des fourreaux pour les modules 2, 3, 4, 5 et 6 : 60°C ; Débit de graines : 9,9 kg/h ; Vitesse de rotation des vis : 200 rpm

Figure I-1 : Configuration et profil de vis d'un extrudeur bi-vis de type Cleextral BC 21 mis en œuvre pour le pressage des graines de neem (Faye, 2010)

III.2. Extraction par solvant de la graine de neem en extrudeur bi-vis

À partir des résultats précédents, une nouvelle configuration et un profil de vis adaptés à la mise en œuvre de solvant pour le fractionnement bi-vis des graines de neem est proposée.

III.2.1. Configuration et profil de vis de l'extracteur bi-vis

L'extrudeur bi-vis mis en œuvre pour cette étude est de type Cleextral BC 21 (**Figure III-2**). Il est constitué d'un fourreau de 7 modules de 10 cm de longueur (longueur totale 70 cm) dans lequel sont installées les deux vis co-rotatives et co-pénétrantes dont l'entre-axe est de 21 mm.



Figure III-2 : Photos de l'extracteur bi-vis de type Clextral BC 21

La configuration du fourreau de l'extrudeur est choisie pour définir quatre zones (**Figure III-3**) :

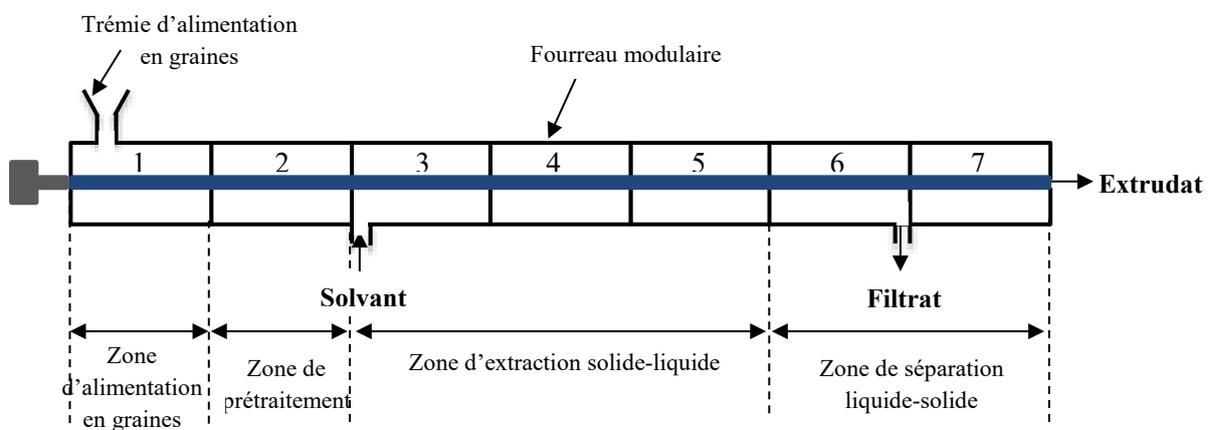


Figure III-3 : Schéma simplifié de la configuration de l'extrudeur bi-vis BC 21 pour l'extraction par solvant des graines de neem

■ Une **zone d'alimentation en graines** dans le premier module de fourreau ouvert dans sa partie supérieure (module 1). Les graines y sont introduites par gravité, par l'intermédiaire d'une trémie alimentée par un doseur pondéral à vis du type KCL-KT20 (K-TRON SODER). Les éléments de vis installés dans ce module (**Figure III-4**) sont du type trapézoïdal double filet à large pas direct (T2F, 50 mm) assurant un bon avalement des graines dans le fourreau et leur transport vers la seconde zone de traitement.

■ La **seconde est la zone de prétraitement des graines** ; elle est constituée d'un module de fourreau fermé et thermorégulé (module 2). Les éléments de vis installés sont du type double filet conjugués C2F à pas direct décroissant (33 mm puis 25 mm) assurant le transport des graines et leur première compression vers une série d'éléments malaxeurs bilobes (MAL 2 ou BB) montés avec un angle positif de 45° pour favoriser le transport des graines (**Figure III-5**). L'effet de cisaillement imposé par les malaxeurs bilobes provoque l'éclatement des graines et diminue la taille des particules d'amande sans favoriser la formation des fines particules et l'expression de l'huile par compression radiale comme ce serait le cas en présence de malaxeurs monolobes (MAL 0 ou DM) (Amalia Kartika *et al.*, 2004a, 2004b; Amalia Kartika, 2005).

Eléments de vis	T2F	T2F
Longueur (mm)	50	50
Pas de vis (mm)	50	50
	module 1	
Photo		

Figure III-4 : Profil de vis installé dans le module 1 du fourreau de l'extrudeur bi-vis BC 21 : *zone d'alimentation des graines*

Eléments de vis	C2F	C2F	MAL2
Longueur (mm)	25	25	50
Pas de vis (mm) ou angle de montage	33	25	45°
	module 2		
Photos			

Figure III-5 : Profil de vis installé dans le module 2 du fourreau de l'extrudeur bi-vis BC 21 : *zone de prétraitement des graines*

■ La **troisième zone est celle de l'extraction solide-liquide**. Elle est constituée par trois modules de fourreau fermés et thermorégulés (modules 3, 4 et 5) (**Figure III-6**). Le solvant est injecté au début du module 3 par l'intermédiaire d'une pompe volumétrique de type K20-2 KAMP 112/16 (KDM). La séquence d'éléments de vis installée dans cette zone est formée d'une série de vis conjuguées double filet à pas direct décroissant (C2F 33 mm puis 25, puis 16) dans le module 3, de malaxeurs bilobes montés avec un angle de 90° (pas neutre) dans la première partie du module 4, puis d'une autre série de vis C2F à pas direct et décroissant (C2F 33 puis 25) dans la seconde partie du module 4 et dans le module 5. La présence de malaxeurs bilobes en fin du module 2 dans lesquels les graines sont broyées mais aussi convoyées vers l'aval (montage des disques malaxeurs avec un pas positif) permet de limiter la montée du solvant vers la zone d'alimentation en graines. L'apparition de ce phénomène, qui dépend de la configuration du fourreau et du profil de vis aval à la zone d'alimentation et de prétraitement, mais aussi des débits de graines et de solvant (ratio solide/liquide), et de la vitesse de rotation des vis (taux de remplissage du système fourreau-vis) définit une limite de fonctionnement par l'engorgement de l'extrudeur, qui est déterminée expérimentalement par des essais préliminaires. En sortie du module 2, les graines broyées sont reprises par les vis à large pas direct C2F 33 où le solvant est injecté sur une matière peu comprimée, et l'ensemble est convoyé dans le module 3 par la succession des vis à pas direct décroissant. Dans ce type de vis conjuguées à large ouverture longitudinale du canal, la matière progresse axialement en passant d'une vis à l'autre en suivant un trajet en huit ouvert avec un effet de mélange dans la zone d'interpénétration des vis (Tayeb *et al.*, 1991) (**Figure III-6**). La diminution des pas de vis favorise l'effet de mélange ; mais ce sont surtout les malaxeurs bilobes installés dans le module 4 qui intensifient le contact du liquide et du solide : leur montage avec un angle de 90° (pas neutre) favorise l'accumulation du mélange soumis à un effet de cisaillement qui déstructure le solide et augmente la pénétration du solvant. Le mélange, repris par des vis à pas direct dans le module 4 par des vis à plus faible pas C2F 25 qui poursuivent la mise en contact du solvant et des graines déstructurées.

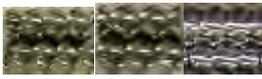
Eléments de vis	C2F	C2F	C2F	MAL2	C2F	C2F	C2F
Longueur (mm)	50	25	25	50	50	50	50
Pas de vis (mm) ou angle de montage	33	25	16	90°	33	25	25
	module 3			module 4		module 5	
Photos							

Figure III-6 : Profil de vis installé dans les modules 3, 4 et 5 du fourreau de l'extrudeur bi-vis BC 21 : *zone d'extraction solide-liquide*

■ La **quatrième zone est celle de la séparation liquide-solide**, constituée des modules 6 et 7 (**Figure III-7**). Le module 6 est un module ouvert, équipé dans sa partie inférieure de filtres en demi-coquilles percées d'orifices de diamètre 0,5 mm à travers lesquelles un filtrat peut s'écouler. Les vis à pas direct C2F et décroissant (25 puis 16 mm) montées dans ce module sont arasantes à la surface du filtre de sorte que le solide ne s'y accumule pas, mais est convoyé dans le module 7, où il est pressé grâce à la mise en place de vis à pas inverse CFC2 (-16 mm) ajourées. La matière s'y accumule pour former un bouchon dynamique contre lequel le mélange, convoyé par les vis à pas direct en aval, est pressé, libérant ainsi la phase liquide qui s'écoule par les filtres du module 6. La matière ainsi essorée par le pressage est reprise par des vis à pas direct C2F 33 et convoyée vers la sortie du module 7 du fourreau.

Eléments de vis	C2F	C2F	C2F	C2F	C2F	C2F	CFC2	C2F
Longueur (mm)	25	12,5	12,5	25	25	25	50	25
Pas de vis (mm) ou angle de montage	25	25	25	16	16	16	-16	33
	Module 6					module 7		
Photos								

Figure III-7 : Profil de vis installé dans les modules 5 et 6 du fourreau de l'extrudeur bi-vis BC 21 : *zone de séparation liquide-solide*

Ainsi configuré avec ce profil de vis (**Figure III-8**), l'extrudeur bi-vis permet de réaliser en continu les trois opérations de préparation de la matière, d'extraction solide-liquide et de séparation en un extrait (le filtrat) et le raffinat (l'extrudât) dans un seul appareillage. Mais à la différence des configurations de profils étudiés précédemment (**Figure III-1**), la zone de prétraitement est limitée à un seul module pour le broyage des graines, et la zone d'extraction solide-liquide s'étend sur 3 modules avec intensification du contact entre le solvant et les graines par la mise en place des malaxeurs bilobes.

N° Module	1		2			3			4			5			6			7			
Température (°C)			30			30			30			30						30			
Type de vis	T2F	T2F	C2F	C2F	MAL 2	C2F	C2F	C2F	MAL 2	C2F	C2F	C2F	C2F	C2F	C2F	C2F	C2F	C2F	C2F	C2F	
Longueur de vis (mm)	50	50	25	25	50	50	25	25	50	50	50	50	25	12,5	12,5	25	25	25	25	50	25
Pas de vis (mm) ou angle	50	50	33	25	45°	33	25	16	90°	33	25	25	25	25	25	16	16	16	16	-16	33

Figure III-8 : Configuration et profil de vis de l'extrudeur bi-vis BC 21 pour l'étude de l'extraction par solvant des graines de neem

III.2.2. Comparaison des solvants pour l'extraction en extrudeur bi-vis

Bien que le méthanol conduise aux meilleurs rendements d'extraction de l'azadirachtine des amandes de graines de neem broyées dans un contacteur agité (*Paragraphe II.3.4.3*), ce solvant n'a pas été retenu car sa mise en œuvre dans l'extrudeur bi-vis pose problèmes, en particulier liés à sa toxicité.

Avec l'éthanol pur, les conditions de stabilité du fractionnement de l'extrudeur bi-vis n'ont pas pu être atteintes et la séparation liquide-solide s'est avérée inefficace. L'extrudât est obtenu sous forme d'une poudre finement broyée, de couleur brune sombre. Ce résultat peut être imputé au faible pouvoir solvatant de l'éthanol vis-à-vis des principaux constituants de la

graine dans leur état d'assemblage natif. Ainsi, même à partir de l'amande finement broyée, les rendements d'extraction des lipides et de l'azadirachtine au bout de trois heures de contact dans un contacteur agité sont faibles (*Paragraphe II.3.4.3*). Bien que dans l'extrudeur bi-vis, l'impact des phénomènes de limitation diffusionnelles du solvant dans le solide soit limité par la qualité du mélange solide-liquide, le mauvais pouvoir solvatant de l'éthanol défavorise la plastification des biopolymères de la graine, d'autant plus qu'il mobilise le peu d'eau qu'elle contient (de l'ordre de 5% d'humidité dans la graine). La rigidité des assemblages, en particulier fibreux, en est augmentée et sous l'effet des contraintes de cisaillement imposées par les malaxeurs et surtout les contre-filets de pressage, le broyage de la matière est favorisé. Le mélange solvant-solide broyé n'est pas suffisamment texturé pour former un bouchon dynamique efficace permettant le pressage et la séparation liquide-solide. Même avec un contre filet plus long et des ratios liquide/solide plus élevés, les conditions de séparation liquide-solide n'ont pas pu être atteintes. Par ailleurs, sous l'effet des phénomènes de friction du solide dans la zone des contre-filets, le mélange s'auto-échauffe jusqu'à des températures favorisant la dégradation des constituants comme en témoigne la forte coloration brune-noire des extrudâts. Cette élévation de température risque aussi de favoriser l'évaporation de l'éthanol.

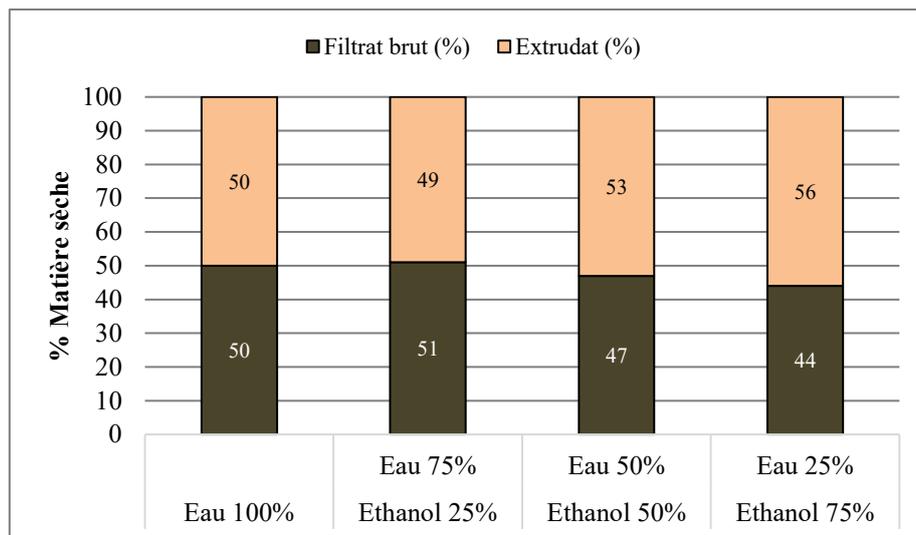
La présence d'une proportion d'eau suffisante dans l'éthanol résout ce problème. En effet, pour une température de consigne des fourreaux thermorégulés limitée à 30°C, une vitesse de rotation des vis à 150 rpm, un débit de graines de 4 kg/h et un débit de solvant injecté au module 3 de 6 kg/h, les essais réalisés avec des taux d'éthanol dans l'eau de 0, 25, 50, et 75% massique dans l'extrudeur bi-vis BC 21 en configuration d'extracteur solide-liquide (Figure III-8) ont conduit au fractionnement des graines de neem en un filtrat et un extrudât (**Tableau III-1**).

Tableau III-1 : Fractionnement des graines de neem par extraction aqueuse et hydro-éthanolique en extracteur séparateur bi-vis BC 21

Essai		9	10	7	6
Solvant		Eau 100%	Eau 75% Ethanol 25%	Eau 50% Ethanol 50%	Eau 25% Ethanol 75%
Débit de graines	(kg/h)	4,05	3,94	3,84	3,98
	(kg MS/h)	3,80	3,69	3,60	3,73
Débit de solvant (kg/h)		6	6,05	6,05	5,90
Débit du filtrat (kg/h)		7,402	7,51	7,22	7,036
MS du filtrat (%)		25,83	25,18	23,32	23,32
Débit MS au filtrat (kg/h)		1,912	1,891	1,684	1,641
Débit d'extrudât (kg/h)		2,764	2,578	2,67	2,814
Matière sèche extrudât (%)		68,29	69,96	71,67	74,14
Débit MS d'extrudât (kg/h)		1,888	1,804	1,914	2,086
Rendement filtrat	(g % g matière entrée extrudeur)	73,6	75,1	73	71,24
	(g % g MS entrée extrudeur)	50,3	51,2	46,8	43,9
Rendement extrudât	(g % g matière entrée extrudeur)	27,4	25,8	27	28,5
	(g % g MS entrée extrudeur)	49,7	48,8	53,2	55,9

Conditions opératoires : Température du fourreau 30°C; Vitesse de rotation des vis 150 rpm; Configuration et profil de vis (voir Figure III-8)

Dans tous les cas, la séparation liquide-solide est très efficace, avec une matière sèche de l'extrudât qui augmente de 68 à 74% lorsque la proportion d'éthanol dans l'eau augmente. Cette augmentation n'est pas liée à une perte de solvant puisque les bilans massiques en matières brute et sèche sont pratiquement tous bouclés, mais au fait que la proportion de matière sèche extraite au filtrat diminue avec le taux d'éthanol croissant dans le solvant (Figure III-9).



Conditions opératoires (voir Tableau III-1)

Figure III-9 : Evolution de la séparation : rendements en matière sèche au filtrat brut et à l'extrudât en fonction du taux d'éthanol dans le solvant

Ce résultat pourrait être lié à la moindre affinité de l'éthanol vis-à-vis de certains constituants de la graine, en particulier des protéines, mais aussi au fait que les processus de fractionnement dans l'extrudeur bi-vis ne sont pas ceux d'une simple solubilisation des constituants dans le solvant comme le cas d'un contacteur agité.

III.2.2.1. Influence de la proportion d'éthanol dans l'eau sur l'extraction des constituants en extracteur-séparateur bi-vis

L'analyse de la composition des extrudâts obtenus par extraction bi-vis aux différents taux d'éthanol dans l'eau (**Tableau III-2**) permet de calculer les rendements en constituants dans l'extrudât (**Tableau III-3**), et par différence à ceux de l'extraction séparation dans le filtrat.

Tableau III-2 : Composition des extrudâts obtenus par extraction aqueuse et hydro-éthanolique des graines de neem en extracteur-séparateur bi-vis BC 21

Essai	9	10	7	6
Solvant	Eau 100%	Eau 75% Ethanol 25%	Eau 50% Ethanol 50%	Eau 25% Ethanol 75%
Matière sèche (%)	68,3	70	71,7	74,1
Lipides (% MS)	5,1	5,0	5,4	7,6
Protéines (% MS)	6,3	6,7	9,9	12,0
Autres constituants (% MS)	88,6	88,3	84,7	80
Azadirachtine (g/kg MS)	0,77	0,82	0,64	0,54

Conditions opératoires (voir Tableau III-1)

Tableau III-3 : Rendements en constituants dans l'extrudât obtenu par extraction aqueuse et hydro-éthanolique des graines de neem en extracteur-séparateur bi-vis BC 21

Essai	9	10	7	6
Solvant	Eau 100%	Eau 75% Ethanol 25%	Eau 50% Ethanol 50%	Eau 25% Ethanol 75%
Entrée graines				
Débit brut graines (kg/h)	4,05	3,94	3,84	3,98
Débit MS graines (kg/h)	3,80	3,69	3,60	3,73
Débit lipides (kg/h)	1,186	1,153	1,123	1,164
Débit protéines (kg/h)	0,460	0,447	0,435	0,451
Débit fibres (kg/h)	1,672	1,623	1,584	1,641
Débit azadirachtine (g/h)	8,511	8,276	8,058	8,349
Sortie extrudât				
Débit extrudât brut (kg/h)	2,764	2,578	2,67	2,814
Débit extrudât sec (kg/h)	1,888	1,804	1,914	2,086
Débit solvant de l'extrudât (kg/h)	0,876	0,774	0,756	0,728
Débit lipides (kg/h)	0,096	0,090	0,103	0,159
Débit protéines (kg/h)	0,119	0,121	0,190	0,251
Débit autres constituants (kg/h)	1,673	1,593	1,621	1,676
Débit azadirachtine (g/h)	1,45	0,820	1,22	1,127
Rendements à l'extrudât				
Lipides (g % g lipides graine sèche)	8,12	7,8	9,18	13,7
Protéines (g % g protéines graine sèche)	25,83	27	43,63	55,6
Autres constituants (g % g autres graine sèche)	77,67	76,22	83,3	79,24
Azadirachtine (g % g azadirachtine graine sèche)	17,08	17,9	15,2	13,5

Conditions opérations (voir Tableau III-1)

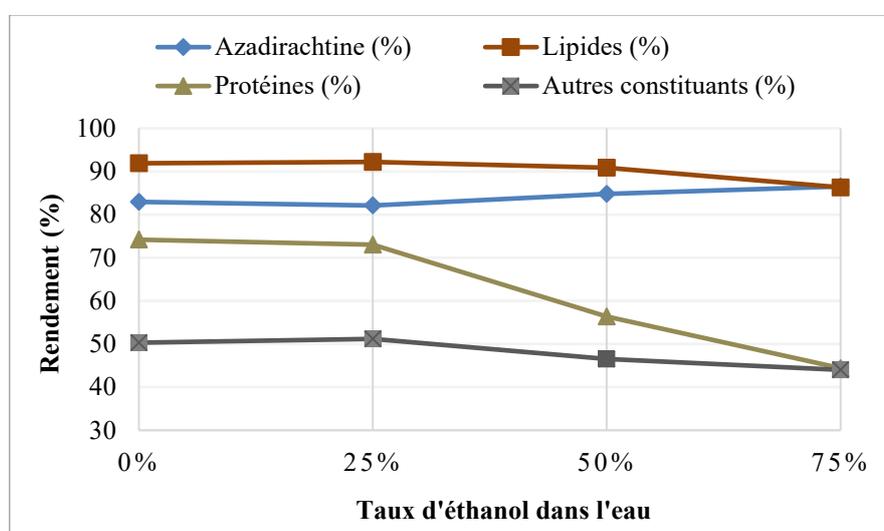
■ La teneur en lipides des extrudâts, qui augmente légèrement avec le taux d'éthanol dans l'eau est de 5,7 à 3,8 fois plus faible que dans la graine de neem. Et par différence avec les rendements en lipides dans l'extrudât, de 92 à 86% des lipides introduits sont séparés au filtrat. Or, dans le cas de l'extraction des amandes broyées en contacteur agité, les rendements d'extraction en lipides sont limités à 10% dans l'eau, 12% dans le mélange éthanol-eau en proportion équivalente, et 16% dans l'éthanol. Ce qui est cohérent avec leur faible pouvoir solvant des lipides. Dans l'extracteur-séparateur bi-vis, les lipides sont donc entraînés et séparés au filtrat, non sous forme de soluté dans le solvant, mais sous forme d'une phase liquide dispersée dans le filtrat.

■ Les lipides ne sont pas les seuls constituants extraits et séparés au filtrat. En effet, la teneur en protéines des extrudâts décroît de 12% avec le mélange majoritaire en éthanol, valeur équivalente à celle de la graine, à près de la moitié (6,3%) avec l'eau seule comme solvant. Ce résultat apparaît cohérent avec la moindre solubilité des protéines dans l'éthanol : les trois quart de la fraction protéique sont séparés au filtrat dans l'eau ou le mélange à 25% d'éthanol, pour moins de la moitié dans le mélange majoritaire en éthanol.

■ Les extrudâts obtenus sont constitués majoritairement d'une fraction non lipidique et non protéique : 88% de la matière sèche avec l'eau ou le mélange à 25% d'éthanol, et 85 à 80% respectivement dans les mélanges à 50 et 75% d'éthanol. Cette fraction est essentiellement constituée de fibres des graines : 44% de fibres insolubles dans la graine y représentent 76% de la fraction non lipidique et non protéique. Les débits des constituants non lipidiques et non protéiques dans les extrudâts sont très voisins des débits de fibres introduits avec la graine, et le dosage des huiles insolubles dans un extrudât confirme qu'elles représentent plus de 80% de la matière sèche. Ce résultat est cohérent avec le fait que les fibres pariétales ne sont pas ou très peu solubles dans l'eau et l'éthanol. Ainsi, le rendement en autres constituants extraits et séparés au filtrat, compris entre 16 et 24%, correspondrait essentiellement aux composés solubles autres que lipidiques, protéiques ou fibreux, qui représentent 14,65% de la matière sèche des graines.

■ Parmi ces composés minoritaires, l'azadirachtine est effectivement extraite, d'autant plus que le solvant est riche en éthanol : de 86,5% (dans le mélange à 75% d'éthanol) à 83% (dans l'eau) de l'azadirachtine introduite avec les graines sont extraits et séparés au filtrat, par différence avec les rendements à l'extrudât.

En conclusion, le fractionnement des graines de neem dans l'extrudeur bi-vis conduit à un raffinat sous forme d'un extrudât de nature essentiellement fibreuse, délipidé (5% de lipides résiduels), partiellement déprotéiné (6% de protéines résiduelles), ne contenant au plus que moins de 0,8 g/kg d'azadirachtine. La présence d'éthanol dans l'eau, au-delà de 25% favorise l'extraction de l'azadirachtine et diminue légèrement le rendement en lipides entraînés au filtrat. Mais c'est surtout le rendement en protéines séparées au filtrat qui chute avec une proportion croissante d'éthanol (**Figure III-10**). Ces différences de comportement des constituants vis-à-vis du solvant se traduisent sur la composition des filtrats.



Conditions opératoires (voir Tableau III-1)

Figure III-10 : Rendements en constituants dans les filtrats obtenus par extraction aqueuse et hydro-éthanolique des graines de neem en extracteur-séparateur bi-vis BC 21

III.2.2.2. Influence de la proportion d'éthanol dans l'eau sur la répartition des constituants dans le filtrat d'extraction-séparation des graines de neem en extrudeur bi-vis

Les filtrats bruts obtenus par extraction-séparation en extrudeur bi-vis des graines de neem, dont la composition varie en fonction du taux d'éthanol dans l'eau (**Tableau III-4**) sont des milieux hétérogènes opaques et colorés (Photo **Figure III-11**) associant plusieurs phases non miscibles. La clarification des filtrats bruts par centrifugation et filtration (**Figure III-11**) fait apparaître une phase insoluble dont les proportions varient sensiblement en fonction du taux d'éthanol dans l'eau (**Tableau III-5 et III-6**).

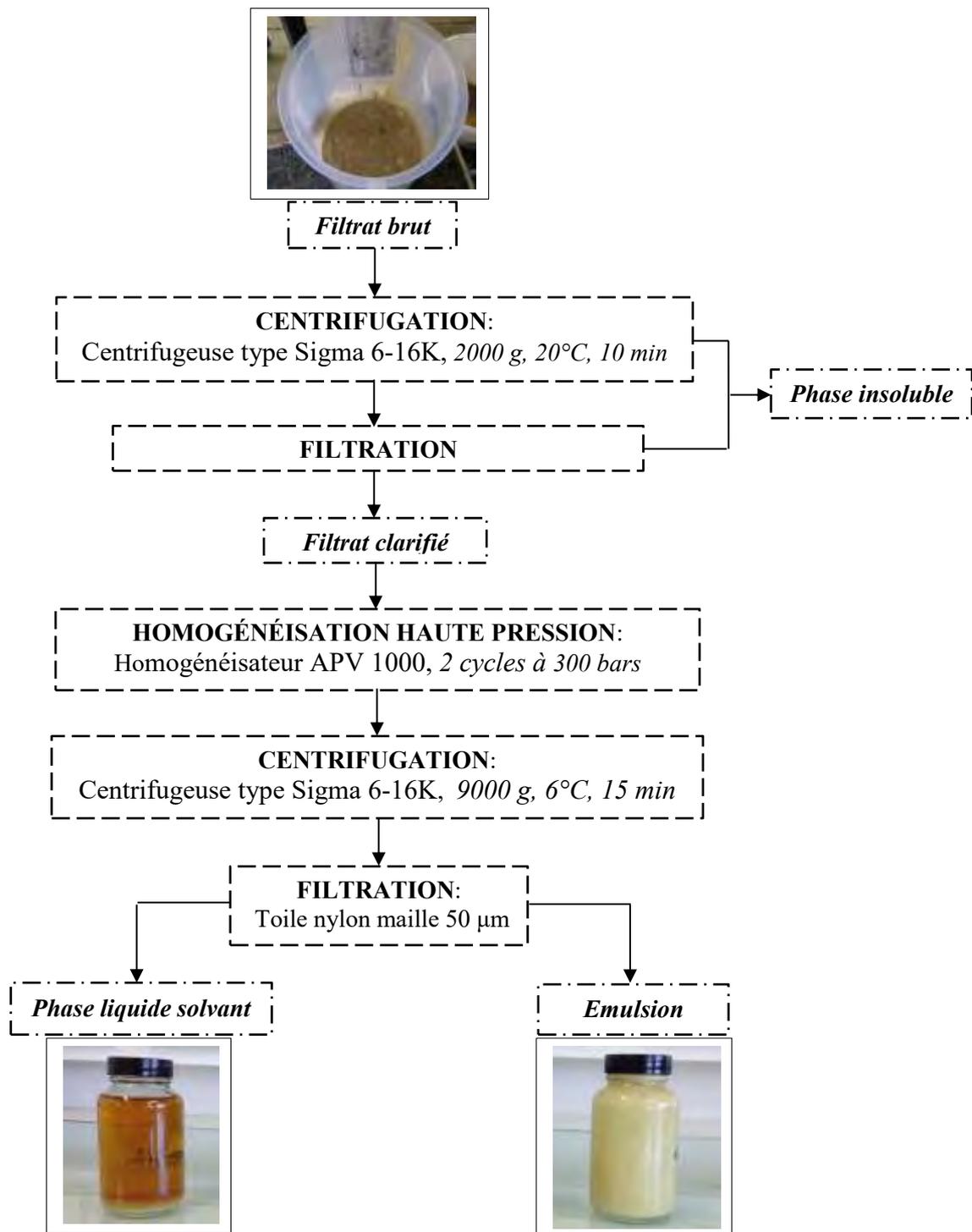


Figure III-11 : Protocole analytique de séparation du filtrat brut obtenu après fractionnement des graines de neem en extracteur-séparateur bi-vis BC 21

Tableau III-4 : Rendements et composition des filtrats bruts obtenus par extraction aqueuse et hydro-éthanolique des graines de neem en extracteur-séparateur bi-vis BC 21

Essai	9	10	7	6
Solvant	Eau 100%	Eau 75% Ethanol 25%	Eau 50% Ethanol 50%	Eau 25% Ethanol 75%
Entrée extrusion				
Débit MS graines (kg/h)	3,8	3,69	3,60	3,73
Débit solvant (kg/h)	6	6,05	6,05	5,90
Sortie filtrat brut				
Débit filtrat brut (kg/h)	7,402	7,51	7,22	7,036
Débit filtrat sec (kg/h)	1,912	1,891	1,684	1,641
Débit solvant du filtrat (kg/h)	5,49	5,619	5,536	5,395
Débit lipides (kg/h)	1,09	1,063	1,020	1,005
Débit protéines (kg/h)	0,341	0,326	0,765	0,20
Débit autres constituants (kg/h)	0,481	0,497	0,421	0,439
Débit azadirachtine (g/h)	7,061	6,797	6,838	7,222
Rendements au filtrat brut				
g filtrat brut sec % g graine sèche	50,31	51,24	46,77	43,99
g solvant % g solvant	87,84	89,19	87,87	87,72
g lipides % g graine sèche	28,68	28,8	28,33	26,94
g lipides % g lipides graine	91,9	92,19	90,82	86,34
g protéines % g graine sèche	8,97	8,83	6,8	5,36
g protéines % g protéines graine	74,13	72,93	56,32	44,34
g autres constituants % g graine sèche	12,65	13,46	8,69	11,77
g autres constituants % g autres constituants graine	22,33	23,78	16,18	20,75
g azadirachtine % kg graine sèche	1,88	1,842	1,899	1,936
g azadirachtine % kg azadirachtine graine	82,96	82,13	84,85	86,50
Composition filtrat brut				
Matière sèche (%)	25,8	25,18	23,32	23,32
Lipides (% MS)	57	57,21	60,57	61,24
Protéines (% MS)	17,80	17,24	14,55	12,19
Autres constituants (% MS)	25,15	26,28	24,99	26,75
Azadirachtine (g/kg MS)	3,69	3,594	4,06	4,401

Tableau III-5 : Répartition et rendements de la clarification des filtrats bruts obtenus par extraction aqueuse et hydro-éthanolique des graines de neem en extracteur-séparateur bi-vis BC 21

Essai	9	10	7	6
Solvant	Eau 100%	Eau 75% Ethanol 25%	Eau 50% Ethanol 50%	Eau 25% Ethanol 75%
Entrée extrusion				
Débit MS graines (kg/h)	3,8	3,69	3,60	3,73
Débit solvant (kg/h)	6	6,05	6,05	5,9
Sortie filtrat clarifié				
Débit filtrat clarifié (kg/h)	3,937	4,088	4,198	3,731
Débit matière sèche (kg/h)	0,908	0,968	0,833	0,644
Débit solvant (kg/h)	3,029	3,04	3,365	3,087
Sortie phase insoluble				
Débit total (kg/h)	3,46	3,42	3,02	3,30
Débit matière sèche (kg/h)	1,07	0,96	0,85	1,12
Débit solvant (kg/h)	2,39	2,46	2,17	2,18
Rendement phase insoluble				
g phase insoluble sèche % g graine sèche	28,16	26,61	23,61	30,09
g phase insoluble sèche % g filtrat brut	46,7	45,5	41,8	46,9
g phase insoluble sèche % g filtrat brut sec	55,9	50,7	50,5	68,2
g solvant % g solvant entrée	38,2	39	34,5	34,9
g solvant % g filtrat brut	32,3	32,7	30,03	39,4
g solvant % g solvant filtrat brut	43,5	43,8	39,2	40,4

Tableau III-6 : Composition et rendements en constituants séparés dans la phase insoluble issue de la clarification des filtrats bruts obtenus par extraction aqueuse et hydro-éthanolique des graines de neem en extracteur-séparateur bi-vis

Essai	9	10	7	6
Solvant	Eau 100%	Eau 75% Ethanol 25%	Eau 50% Ethanol 50%	Eau 25% Ethanol 75%
Composition phase insoluble				
Matière sèche (%)	30,92	28,07	28,14	33,9
Lipides (% MS)	52,33	38,85	32,70	50,17
Protéines (% MS)	17,75	15,31	17,29	19,01
Autres constituants (% MS)	29,9	45,83	50	30,88
Azadirachtine (g/kg MS)	1,03	1,32	0,97	0,97
Rendements phase insoluble				
g lipides % g graine sèche	14,73	10,1	7,72	15,07
g lipides % g lipides filtrat brut	51,37	35,09	27,25	55,92
g lipides % g lipides graine sèche	47,21	32,35	24,75	48,28
g protéines % g graine sèche	5	4	4,1	5,7
g protéines % g protéines filtrat brut	55,72	45,09	60	83,5
g protéines % g protéines graine sèche	41,3	32,9	33,8	47,22
g autres constituants % g graine sèche	8,42	11,92	11,8	9,25
g autres constituants % g autres constituants filtrat brut	66,52	88,53	100	78,6
g autres constituants % g autres constituants graine sèche	14,85	21,05	20,8	16,31
g azadirachtine % kg graine sèche	0,289	0,342	0,228	0,296
g azadirachtine % kg azadirachtine filtrat brut	15,58	18,58	11,99	15
g azadirachtine % kg azadirachtine graine sèche	12,92	15,26	10,17	12,98

◆ La proportion massique de phase insoluble séparée par clarification du filtrat brut (centrifugation + filtration du surnageant) varie relativement peu avec le taux d'éthanol dans l'eau (de l'ordre de 5%) (**Figures III-12**), tout comme celle de solvant entraîné dans cette phase (proche de 3%), qui représente entre 39 et 43% de la masse de solvant présente dans le filtrat brut et de 35 à 39% du solvant introduit dans l'extrudeur. Ainsi, cette phase insoluble est fortement solvantée avec près de 70% d'eau en l'absence d'éthanol et 64% de solvant dans

le cas des mélanges à 75% d'éthanol. Parallèlement, le solvant dans le filtrat clarifié représente de 40 à 47% du filtrat brut et 50 à 56% du solvant introduit dans l'extrudeur.

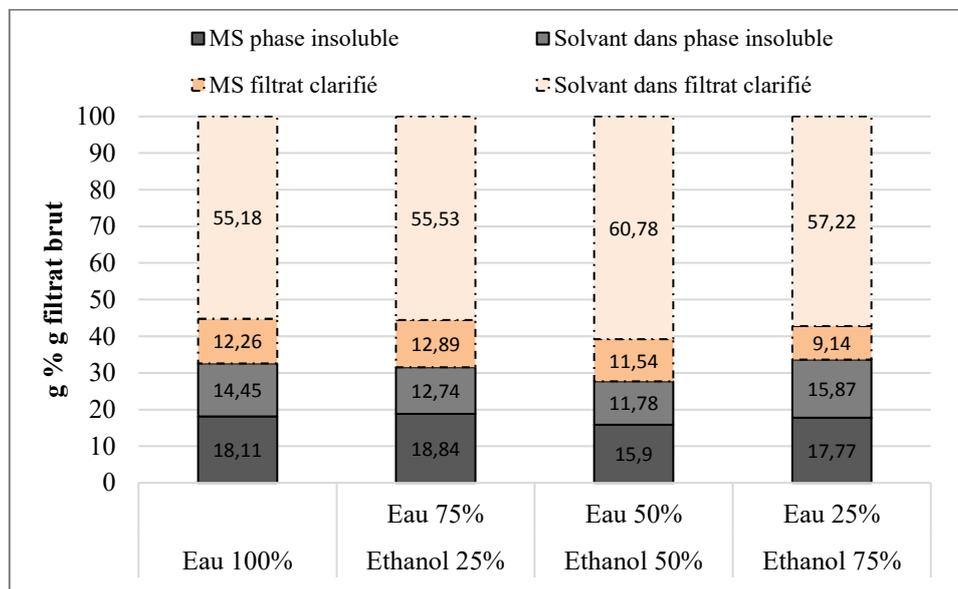


Figure III-12 : Répartition des phases des filtrats bruts obtenus par extraction aqueuse et hydro-éthanolique des graines de neem en extracteur-séparateur bi-vis BC 21

◆ **La proportion de matière sèche** séparée dans la phase insoluble varie de 56 à 50 % de la matière sèche extraite au filtrat brut par l'eau et les mélanges d'éthanol 25% et 50% ; mais en milieu éthanol majoritaire (75% d'éthanol dans l'eau, soit 1,38 mole d'eau par 1,63 mole d'éthanol), nettement plus de matière sèche est précipitée : 68% de la matière sèche du filtrat brut (**Figures III-13 et III-14**).

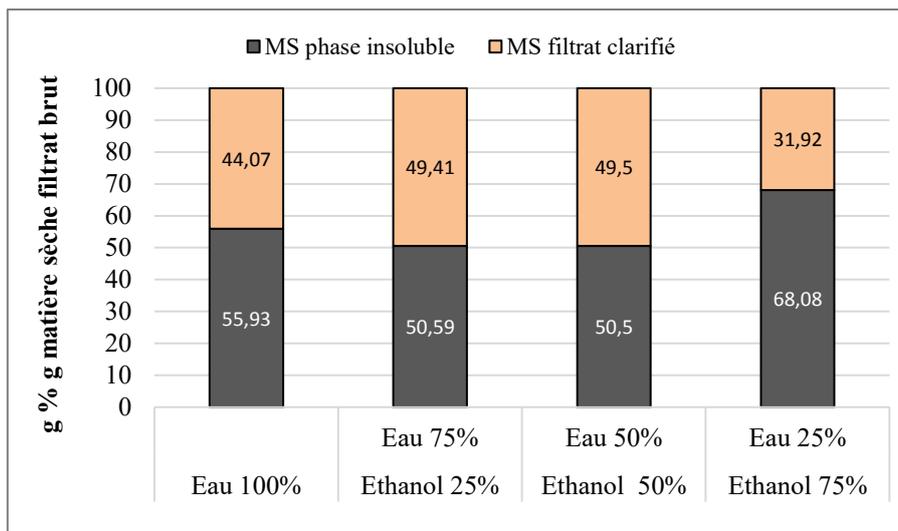


Figure III-13 : Répartition de la matière sèche des filtrats bruts obtenus par extraction aqueuse et hydro-éthanolique des graines de neem en extracteur-séparateur bi-vis BC 21

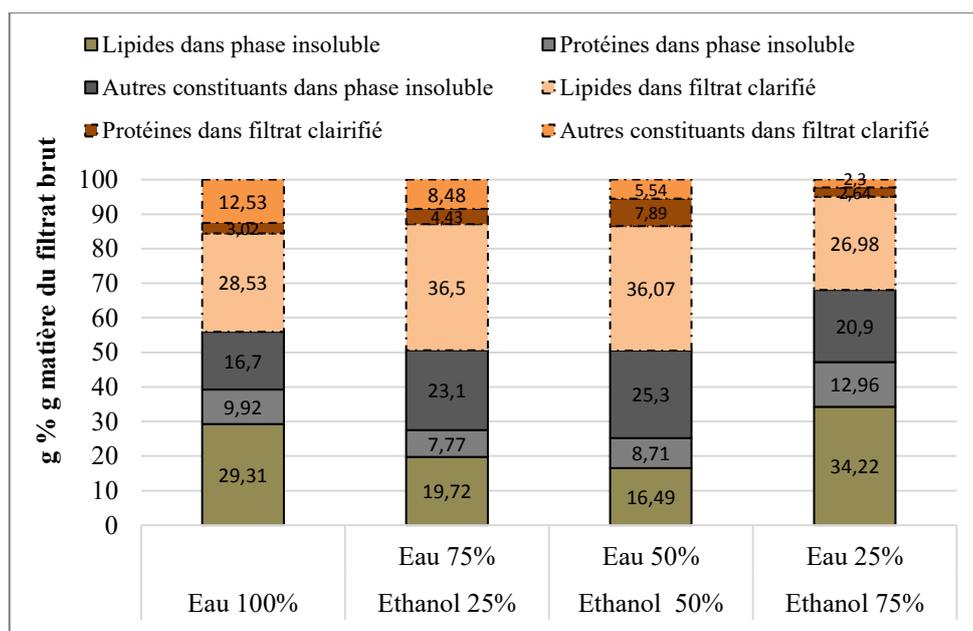


Figure III-14 : Composition de la matière sèche des filtrats bruts obtenus par extraction aqueuse et hydro-éthanolique des graines de neem en extracteur-séparateur bi-vis BC 21

La composition de la matière sèche de la phase insoluble varie significativement en fonction de la teneur en éthanol du solvant (Tableau III-6).

◆ **Sa teneur en lipides** diminue avec le taux d'éthanol croissant tant que l'eau reste le solvant majoritaire (50% d'éthanol dans l'eau correspond encore à 2,77 moles d'eau pour 1,08 mole d'éthanol), mais elle augmente dans l'éthanol majoritaire. Et le rendement en lipides séparés dans la phase insoluble décroît de la moitié (50,7%) des lipides contenus dans le filtrat brut en l'absence d'éthanol, à près du tiers (35% pour 25% d'éthanol, 8 moles d'eau pour une mole d'éthanol) et moins du tiers (31%) pour l'éthanol 50% ; mais dans l'éthanol majoritaire le rendement en lipides est de 56% : plus de lipides sont entraînés dans la phase insoluble séparée par centrifugation bien qu'un peu moins aient été extraits et séparés au filtrat brut.

◆ **Sa teneur en protéines** varie relativement peu en fonction du taux d'éthanol et reste comprise entre 15 et 19% de la matière sèche. Bien que la quantité de protéines des graines de neem extraite et séparée au filtrat brut tende à diminuer avec le taux d'éthanol dans l'eau (de 73% pour 25% d'éthanol à 44% pour 75% d'éthanol), le rendement en protéines précipitées dans la phase insoluble augmente (de 45% pour 25% d'éthanol à 83% pour 75% d'éthanol). Dans l'eau, moins de 45% des protéines du filtrat brut restent dans le filtrat clarifié, alors que dans l'éthanol majoritaire, la quasi-totalité des protéines extraites sont précipitées dans la phase insoluble.

◆ Par différence, **la teneur en constituants autres que lipidiques et protéiques** est la même dans l'eau et l'éthanol majoritaire (30% de la matière sèche), mais est plus élevée dans les mélanges à 25 et 50% d'éthanol dans l'eau (respectivement 46 et 50% de la matière sèche). L'augmentation du taux d'éthanol dans l'eau de 0 à 50% favorise leur séparation dans la phase insoluble (66,5% dans l'eau, 88 et 100% dans les mélanges à 25 et 50% d'éthanol) ; alors que dans l'éthanol majoritaire, le rendement est un peu plus faible (79%).

◆ **La proportion d'azadirachtine** entraînée dans la phase insoluble reste très minoritaire : de 12 à 18,6% par rapport à l'azadirachtine présente dans le filtrat brut, ce qui représente de 10 à 15% de l'azadirachtine présente dans la graine.

Ainsi, le couplage du fractionnement bi-vis des graines de neem en extracteur-séparateur avec une opération de clarification du filtrat brut permet d'obtenir trois fractions : la fraction raffinat solide, la fraction phase insoluble du filtrat brut et la fraction filtrat clarifié, dont la proportion (**Figure III-15**) et la composition en matière sèche dépend du taux d'éthanol dans l'eau.

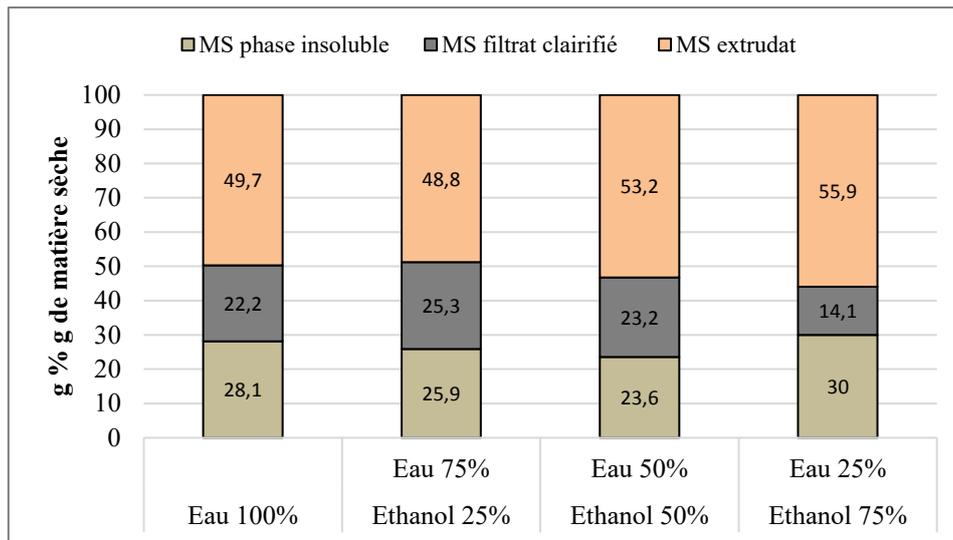


Figure III-15 : Rendement en matière sèche de la graine dans les trois fractions (extrudât, phase insoluble et filtrat clarifié) obtenues par extraction aqueuse et hydro-éthanolique des graines en extracteur-séparateur bi-vis BC 21

III.2.3. Conclusion sur le fractionnement des graines de neem en extrudeur bi-vis par extraction et séparation en solvant aqueux et hydro-alcoolique

Dans la configuration et le profil choisi (**Figure III-8**), l'extrudeur bi-vis BC 21 fonctionne bien comme un extracteur-séparateur dans lequel plusieurs opérations élémentaires de fractionnement des graines sont combinées. Et le couplage du fractionnement bi-vis avec une opération de clarification du filtrat brut permet d'obtenir trois fractions (**Figure III-16**) dont la composition (**Figure III-17**) et les rendements en constituants (**Figure III-18** et **III-19**) dépendent du taux d'éthanol dans l'eau.

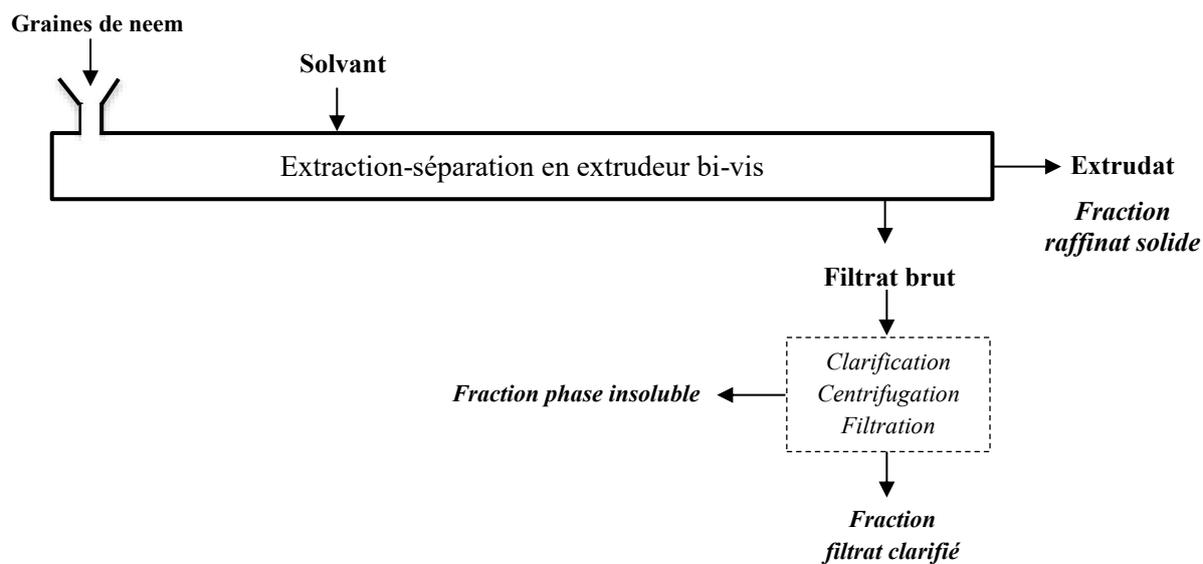


Figure III-16 : Schéma de fractionnement des graines de neem par extraction-séparation en extrudeur bi-vis et clarification du filtrat brut

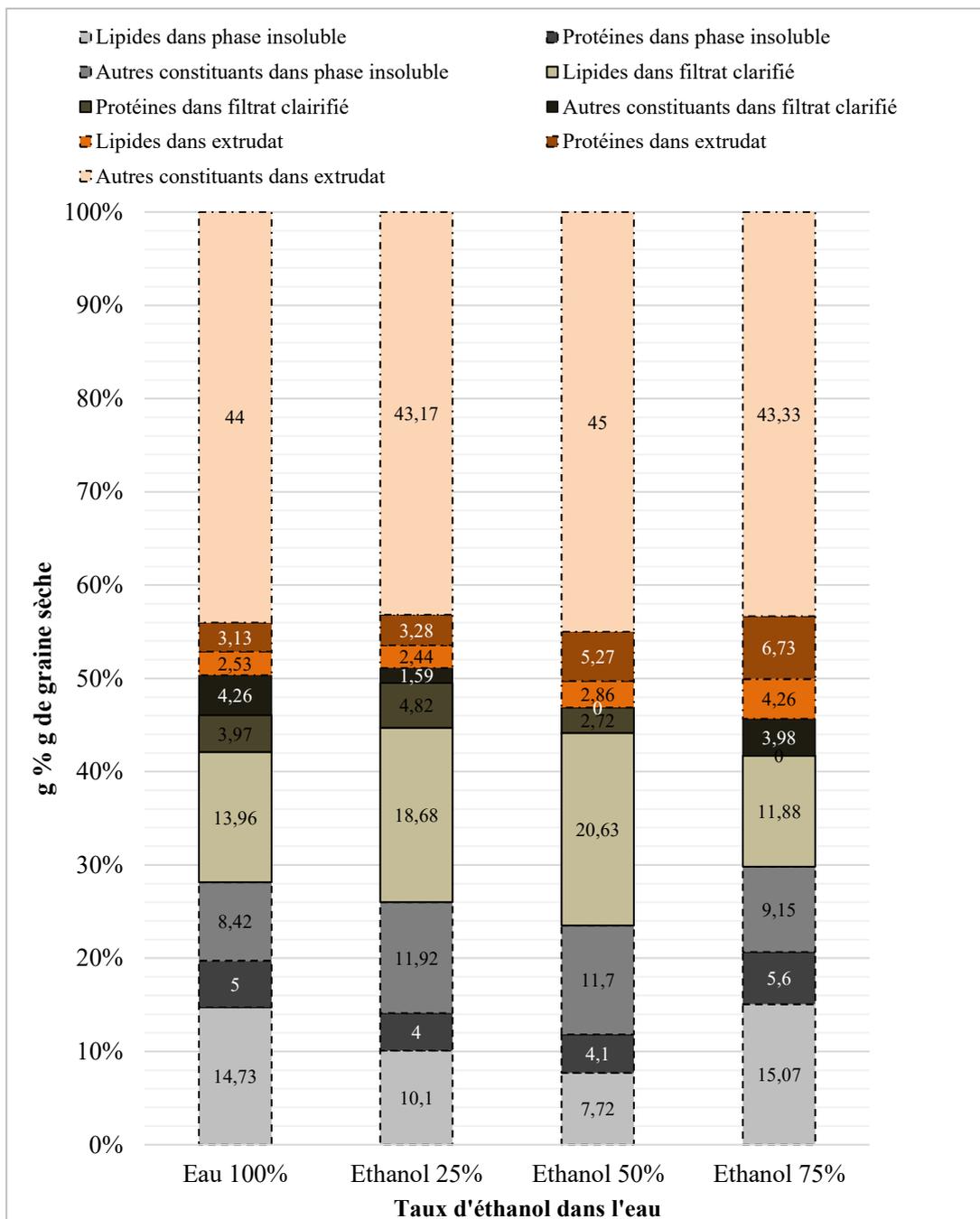


Figure III-17 : Rendements en matière sèche, lipides, protéines et autres constituants dans l'extrudât, la phase insoluble et le filtrat clarifié obtenus par extraction aqueuse et hydro-éthanolique des graines de neem en extracteur-séparateur bi-vis BC 21

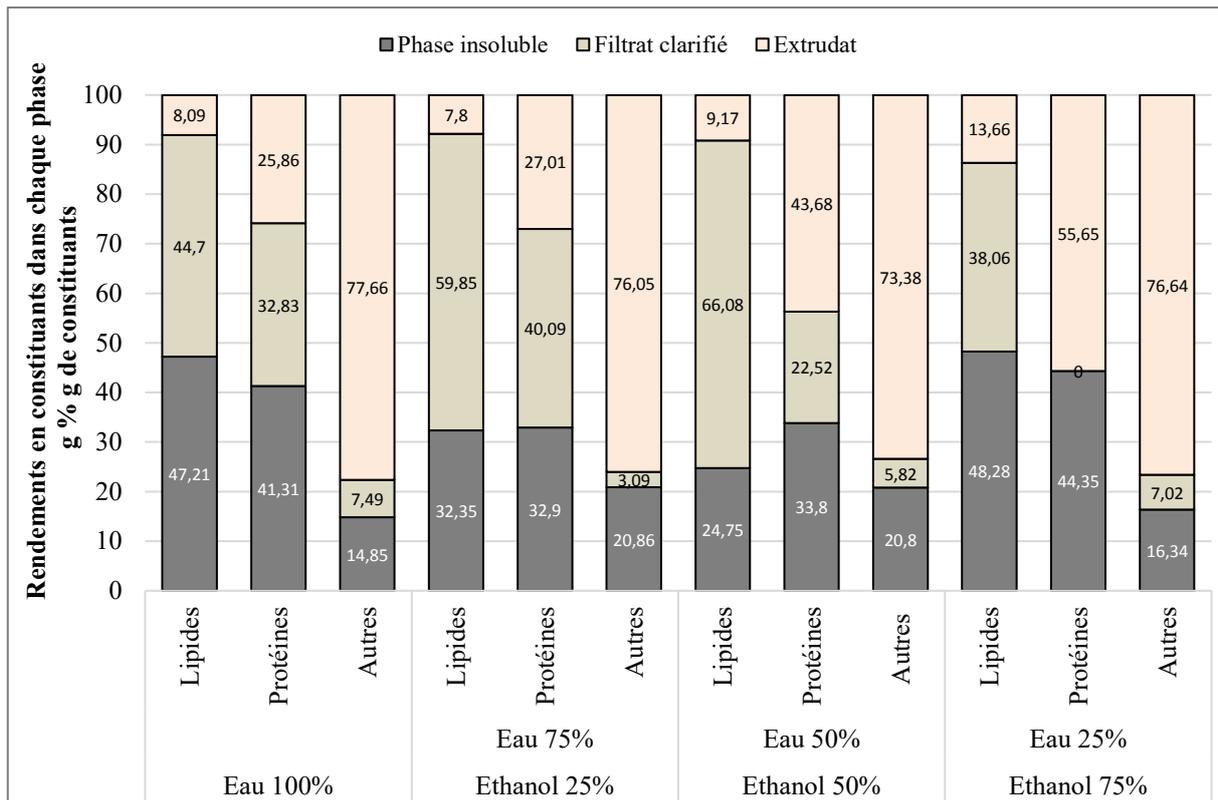
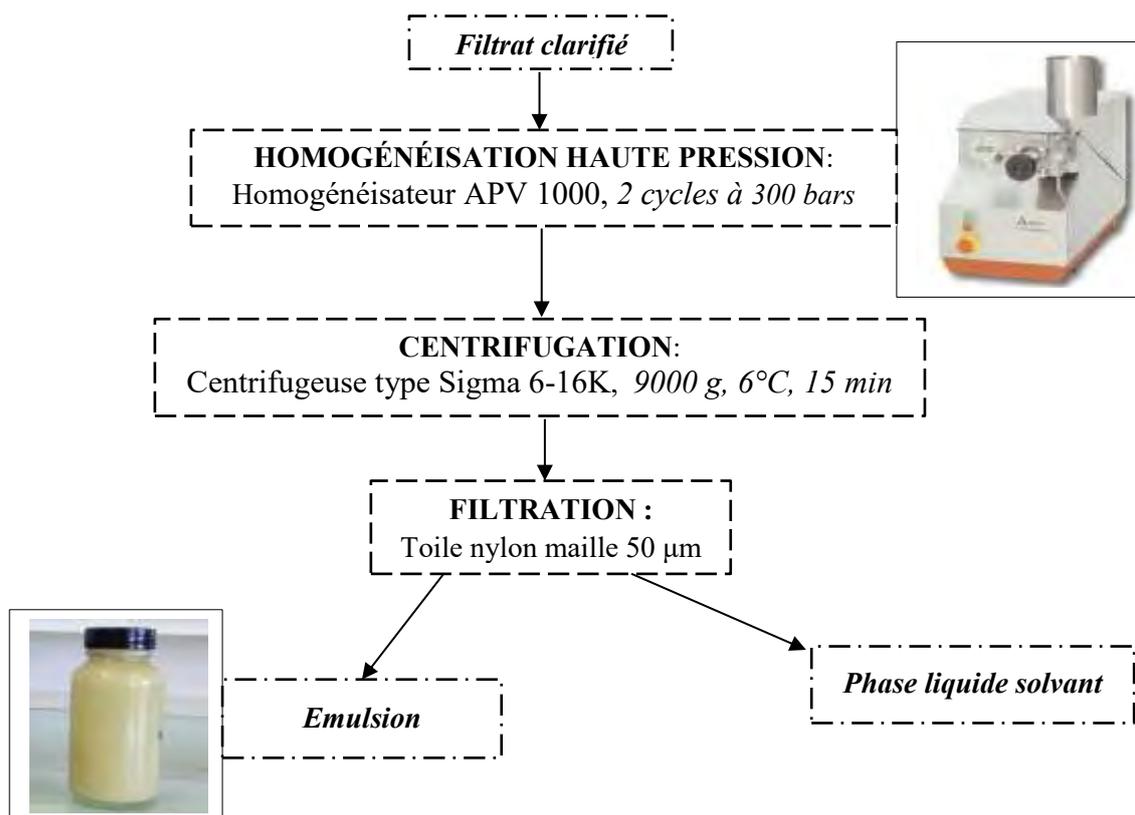


Figure III-18 : Rendements en lipides, protéines et autres constituants dans l'extrudât, la phase insoluble et le filtrat clarifié obtenus par extraction aqueux et hydro-éthanolique des graines de neem en extrudeur-séparateur bi-vis BC 21



Solvant	Taux d'émulsion (g d'émulsion % g filtrat clarifié)	MS Emulsion (%)	Rendement émulsion (g MS émulsion % g MS filtrat clarifié)	Taux de filtrat clarifié (%)
Eau 100%	27,45	71,9	89,5	72,55
Eau 75% Ethanol 25%	30,52	67,8	88,3	69,48
Eau 50% Ethanol 50%	34,50	52,5	90,9	65,50
Eau 25% Ethanol 75%	19,24	69,2	94,7	80,76

Figure III-19 : Rendements des émulsions stabilisées par homogénéisation des filtrats clarifiés obtenus par extraction aqueuse et hydro-éthanolique des graines de neem en extracteur-séparateur BC 21

III.2.3.1. La fraction raffinat solide

Les graines de neem entières introduites sont broyées, et en sortie d'extrudeur, le raffinat solide que constitue l'extrudât contient 12 à 14% de solvant introduit et représente 50 à 56% de la matière sèche des graines introduites et de 73 à 76% des constituants non lipidiques et non protéiques des graines entières. Il est constitué par des fibres ligno-hémicellulo-

cellulosiques insolubles (à près de 80% dans le cas de l'eau seule comme solvant) provenant essentiellement des coques des graines.

L'opération ainsi réalisée dans l'extrudeur bi-vis pourrait être comparée à un broyage-tamassage des graines (*Paragraphe II.3.1, Figure II-3 et II-5*) séparant l'amande de la coque qui représente chacune près de la moitié de la graine sèche. Remarquons cependant qu'en milieu fortement hydraté (rapport eau/graine sèche =1,65), le broyage des graines dans l'extrudeur bi-vis s'accompagne d'une action de défibrage de la coque, réalisée principalement dans le contre-filet de la zone de pressage en aval du filtre. En effet, plus de 90% des particules dans l'extrudât, de nature essentiellement fibreuse, sont de taille inférieure à 1 mm, et bien que plus de 35% soient inférieure au diamètre de l'orifice du filtre (0,5 mm), très peu d'entre elles sont entraînées au filtrat. Il en est de même dans les mélanges hydro-éthanoliques, jusqu'à 75% d'éthanol pour lesquels l'effet d'une augmentation du taux d'éthanol se traduit par le fractionnement de l'amande de la graine et l'entraînement de ses constituants dans le filtrat.

III.2.3.2. La fraction phase insoluble du filtrat brut

Avec l'eau comme seul solvant, le broyage des graines dans la première zone du fourreau de l'extrudeur bi-vis se poursuit en milieu hydraté avec un rapport eau/graine sèche de 1,65 (mélange à 62% d'humidité) dans la seconde zone de malaxage, et le pressage efficace du mélange dans les contre-filets permet d'obtenir en sortie du module de filtration un filtrat brut contenant 50% de la matière sèche des graines, 92% des lipides, 74% des protéines et 82,5% de l'azadirachtine qu'elles contiennent. L'opération élémentaire ainsi réalisée dans l'extrudeur bi-vis peut être comparée à une extraction-séparation des constituants lipidiques et protéiques ainsi que de l'azadirachtine de l'amande, qui représentent 97% des lipides, 92,5% des protéines et la quasi-totalité de l'azadirachtine contenue dans la graine entière.

Remarquons cependant que la taille des orifices du filtre de l'extrudeur bi-vis (0,5 mm de diamètre) permet l'entraînement d'une fraction insoluble dans le filtrat brut aqueux, séparable par centrifugation (2000 g) et filtration (maille de 50 µm). Elle représente près de 28% de la matière sèche des graines, soit 55% de celle extraite et séparée au filtrat, dans 38% de l'eau introduite et 43% de l'eau du filtrat brut. Le séchage de cette phase insoluble conduira à un premier extrait dont la composition (52% de lipides, 18% protéines et 30% d'autres

constituants) l'apparente à une farine d'amande (49% de lipides, 24,5% de protéines et 26,5% d'autres constituants).

Bien que la structure de l'association des protéines et des lipides n'ait pas été élucidée, l'entraînement d'une partie de l'amande sous forme d'une fraction de fines particules insolubles, de taille comprise entre 50 et 500 μm et de composition lipidique et protéique analogue à une farine d'amande permet de comparer l'opération élémentaire ainsi réalisée dans l'extrudeur bi-vis à un broyage de l'amande de la graine en milieu humide. Mais le couplage de l'opération de broyage de la graine avec celle de séparation liquide-solide dans l'extrudeur bi-vis conduit en fait à un extrait aqueux de l'amande légèrement enrichi en lipides et appauvri en protéines, avec un ratio massique protéines/lipides de 0,335, un peu plus faible que celui d'une farine d'amande (voisin de 0,5).

La fraction phase insoluble du filtrat brut est alors pratiquement de même composition, tout comme celle restante sous forme de dispersion dans le filtrat clarifié, avec le même ratio protéines/lipides (voisin de 0,33) (**Tableau III-7**).

Tableau III-7 : Composition des différentes phases obtenues par fractionnement aqueux et hydroalcoolique des graines de neem en extrudeur bi-vis BC 21

Essai	9	10	7	6
Solvant	Eau 100%	Eau 75% Ethanol 25%	Eau 50% Ethanol 50%	Eau 25% Ethanol 75%
Extrudat				
Matière sèche (%)	68,3	70	71,7	74,1
Solvant (%)	31,2	30	28,3	25,9
Lipides (% MS)	5,1	5,0	5,4	7,6
Protéines (% MS)	6,3	6,7	9,9	12
Autres constituants (% MS)	88,6	88,3	84,7	80,3
Azadirachtine (g/kg MS)	0,77	0,82	0,64	0,54
Filtrat brut				
Matière sèche (% MS)	26,2	25,5	23,3	23,3
Solvant (% MS)	73,8	74,5	76,7	76,7
Lipides (% MS)	53,1	52,3	56,3	56,6
Protéines (% MS)	17,8	17,2	14,6	12,2
Autres constituants (% MS)	29,1	30,4	29,1	31,2
Azadirachtine (% MS)	3,69	3,59	4,05	4,4
Protéines/Lipides	0,335	0,33	0,26	0,21
Phase insoluble				
Matière sèche (%)	30,9	27,9	28,11	33,8
Solvant (%)	69,1	72,0	71,9	66,2
Lipides (% MS)	52,4	39	32,7	50,3
Protéines (% MS)	17,7	15,3	17,2	19,0
Autres constituants (% MS)	29,9	45,7	50,1	30,7
Azadirachtine (g/kg MS)	1,03	1,32	0,97	0,97
Protéines/Lipides	0,337	0,39	0,52	0,377
Filtrat clarifié				
Matière sèche (% MS)	22,1	23,4	19,9	13,9
Solvant (%)	78,9	76,5	80,1	86,0
Lipides (% MS)	54,0	65,7	80,3	67,9
Protéines (% MS)	18,0	19,15	11,8	0
Autres constituants (g/kg MS)	28,0	15,2	7,8	32,2
Protéines/Lipides	0,333	0,29	0,146	0

De façon simplifiée, le fractionnement aqueux des graines de neem en extrudeur bi-vis pourrait donc être représenté comme la succession et la combinaison des opérations élémentaires suivantes :

1. Le broyage des graines et de l'amande en milieu hydraté dans les deux premières zones du fourreau de l'extrudeur qui provoque la rupture des parois cellulaires de l'amande, la libération de leur contenu cellulaire et leur dispersion dans la phase aqueuse.
2. La séparation liquide-solide dans la zone de filtration-pressage qui assure la séparation des fibres de la coque des graines et l'expression de la phase aqueuse, contenant plus de 90% des lipides et 74% des protéines de la graine, principalement présents comme contenus cellulaires de l'amande.
3. La déstructuration des contenus macromoléculaires natifs des cellules d'amande sous l'effet du cisaillement dans les malaxeurs et les contre-filets du profil de vis installé dans le fourreau de l'extrudeur, qui provoque l'extraction d'une partie des constituants sous deux formes : insoluble et soluble.

La déstructuration des contenus macromoléculaires portera en particulier sur les lipides et les protéines stockés dans l'amande sous forme de réserve. Par analogie avec les graines d'oléagineux comme le tournesol ou le colza, les lipides de la graine de neem présents dans les cellules d'amande majoritairement sous forme de triglycérides, assemblés dans des corps lipidiques constitués de globules lipidiques maintenus par une membrane associant des lipides à des protéines de structure. Ces globules lipidiques sont connues sous le nom d'oléosine, qui empêche la coalescence de l'huile lors de la dessiccation de la graine (Huang, 1996; Le Prince *et al.*, 1997). Les protéines de réserve seraient, quant à elles, stockées dans des corps protéiques ou grains d'aleurone (Tanaka *et al.*, 1973), où elles se répartissent en deux familles principales dans les oléagineux : les globulines et les albumines, de structure et de propriétés chimiques et fonctionnelles différentes (Chabanon, 2005; Dubreucq *et al.*, 2001; Leyris, 1998). En particulier, les globulines sont insolubles dans l'eau, alors que les albumines le sont.

Le pressage des graines sèches de neem en extrudeur bi-vis permet d'exprimer une huile constituée à 98% de triglycérides. Le pressage thermomécanique, en détruisant les membranes des globules lipidiques, permet la coalescence des gouttelettes triglycéridiques et leur écoulement à travers la matrice des autres constituants cellulaires. Mais en présence d'eau en excès, à 30°C, la coalescence des triglycérides ne sera pas favorisée ; et les triglycérides seraient entraînés sous forme de gouttelettes issues de la déstructuration des corps lipidiques, sous l'effet du broyage et du cisaillement. Ainsi dispersés dans le solvant aqueux, ils pourraient être stabilisés par le rôle tensioactif des protéines de structure libérées par la

rupture du réseau membranaire. Les saponines que la graine de neem est censée contenir pourraient également contribuer à ce rôle de tensioactif. Cette hypothèse permettrait d'expliquer la légère diminution du rendement d'extraction des lipides de la graine de neem avec le solvant éthanolique majoritaire ; bien que ce milieu éthanolique favorise probablement la déstructuration des membranes protéiques, l'effet tensioactif des protéines serait moins marqué dans ce solvant, et l'entraînement des gouttelettes triglycéridiques moins favorisé lors de l'expression du mélange.

Mais d'autres processus élémentaires pourront intervenir sur l'entraînement des lipides dans le filtrat, mettant en jeu leur affinité pour les protéines de réserve. Bien que leur structure n'ait pas été identifiée dans le cas du neem, leur entraînement dans le filtrat du fractionnement aqueux en extrudeur bi-vis donne une image de leur répartition soluble-insoluble : 55% des protéines extraites le serait sous forme insoluble, qui pourrait être liée à leur structure globulaire. Cette proportion est d'ailleurs voisine de celle observée pour les globulines d'amandes des graines de tournesol (Leyris, 1998). Ces globulines de tournesol possèdent une capacité d'adsorption d'huile (130 mL % g de globuline) et d'eau (70 mL % g de globuline). Lors du fractionnement aqueux de la graine de neem, une partie des gouttelettes lipidiques entraînées dans le filtrat aqueux sera susceptible de s'adsorber sur la fraction de protéines insolubles entraînées pour former des agglomérats de taille supérieure à 50 μm , séparés par centrifugation et filtration dans la phase insoluble. Avec l'eau comme seul solvant, le rendement en lipides séparés dans la phase insoluble (49,6 g % g des lipides de la graine) représente 54% des lipides entraînés, qui seraient adsorbés sur les 55% de protéines insolubles, soit une capacité d'adsorption voisine de 3 g de lipides par g de protéines insolubles.

Remarquons cependant que l'entraînement des protéines insolubles s'accompagne de celui d'autres constituants non protéiques et lipidiques qui représentent près de 30% de la matière sèche de la fraction insoluble. La capacité d'adsorption serait alors de 1,1 g de lipide par g de constituants non lipides. L'introduction d'une part croissante d'éthanol dans l'eau, qui diminue l'affinité du solvant pour les protéines, défavorise leur entraînement dans le filtrat brut. Mais elle agit aussi sur le rapport soluble/insoluble des protéines entraînées et l'adsorption des gouttelettes lipidiques sur la fraction insoluble. Dans les solvants aqueux majoritaires (plus d'une mole d'eau par mole d'éthanol), la part de protéines entraînées sous forme insoluble augmente (de 44 à 59% des protéines contenues dans le filtrat pour 25 et 50%

d'éthanol), mais l'adsorption des gouttelettes lipidiques dispersées dans ces solvants est défavorisée (2,56 et 1,9 g de lipides par g de protéines ; et 0,64 et 0,48 g de lipides par g de constituants non lipidiques dans la phase insoluble obtenue, respectivement à 25 et 50% d'éthanol). Plus de lipides restent dispersés dans la phase solvant clarifié, en présence de protéines solubles. Ces dernières pourraient contribuer à la stabilisation de la dispersion des gouttelettes lipidiques dans le solvant, en relation avec le rôle de tensioactif de certaines d'entre elles, comme les albumines, et/ou leur rôle viscosifiant du mélange, qui limiteront l'adsorption sur la phase insoluble. Remarquons que cet effet de stabilisation de la dispersion des gouttelettes lipidiques sur le rendement en lipides dans la phase insoluble, qui n'est pas directement corrélable avec la concentration en protéines restant dans la phase solvant clarifié, est en interaction avec celui de la quantité de protéines insolubles entraînées. Ainsi, dans l'éthanol majoritaire (75% d'éthanol), la quasi-totalité des protéines entraînées (45,5% des protéines de la graine) le sont sous forme insoluble, et sont séparées dans la fraction phase insoluble avec 58% des lipides entraînés.

L'adsorption des gouttelettes lipidiques sur les protéines insolubles n'est pas limitée par la présence de protéines solubles dans la dispersion, et la quantité de protéines insolubles est la plus élevée. La capacité d'adsorption sur la phase insoluble rejoint les valeurs obtenues dans le cas de l'eau seule comme solvant (2,6 g et 1,01 g de lipides respectivement pour 1 g de protéines insolubles et 1 g de constituants non lipidiques). Mais dans tous les cas, la clarification du filtrat brut par centrifugation et filtration sur toile de 50 µm laisse dans la phase solvant une fraction des lipides non adsorbés sur la phase insoluble ainsi séparée.

L'évaporation du solvant entraîné avec la phase insoluble conduirait à un premier extrait dont la composition dépendra du taux d'éthanol dans l'eau. En milieu aqueux majoritaire c'est-à-dire plus d'une mole d'eau par mole d'éthanol, la proportion de lipides diminue nettement avec un taux d'éthanol croissant de 0 à 50%, tout comme dans une moindre proportion, celle des protéines. En effet, la solvatisation des protéines et des lipides associés à une quantité d'éthanol croissante tend à diminuer leurs rendements dans la phase insoluble (Figure III-18).

Par contre, en milieu éthanolique majoritaire (75% d'éthanol et 1,38 mole d'eau pour 1,63 d'éthanol), la plus forte solvatisation des lipides se traduirait par leur plus fort entraînement dans la phase insoluble (48%), avec un rendement équivalent à celui obtenu dans l'eau seule (47%), bien que le rendement dans le filtrat brut soit plus faible (86% dans l'éthanol à 75% alors qu'il est de 92% dans l'eau seule). Simultanément, le rendement en protéines, beaucoup

moins solvatées par l'éthanol que par l'eau, est plus faible dans le filtrat brut (74% dans l'eau et 45% dans l'éthanol à 75%), et la quasi-totalité des protéines précipite dans la phase insoluble sous l'effet de la centrifugation. Et de 10 à 15% de l'azadirachtine de la graine sont entraînés dans la phase insoluble.

III.2.3.3. La fraction filtrat clarifié

Le filtrat clarifié constitue la troisième fraction du procédé. Elle contient près du quart de la matière sèche des graines dans le cas des solvants majoritaires en eau (22, 25 et 23% respectivement pour 100, 75 et 50% d'eau) et moins du septième dans le cas du solvant éthanolique majoritaire (14% pour 75% éthanol), dans près de la moitié (47 à 53%) du solvant introduit.

La teneur en lipides de cette matière sèche augmente avec la proportion d'éthanol dans l'eau, et celle en protéines diminue (Tableau III-7). Comme pour la matière sèche, le rendement en lipides extraits de la graine dans le filtrat clarifié augmente de 42 à 64% avec le taux d'éthanol dans l'eau de 0 à 50%, mais n'est plus que de 34% dans l'éthanol à 75%. Dans l'eau et le mélange à 25% d'éthanol, pour lesquels les rendements en lipides et en protéines extraits dans le filtrat brut sont élevés (91,6% en lipides et 73,5% en protéines en moyenne), le rendement en protéines au filtrat clarifié augmente (33 à 40,5%) tout comme celui en lipides (42 à 58%). Mais à 50% d'éthanol, dans lequel beaucoup moins de protéines ont été extraites (56%) dont près de 60% sont sous forme insoluble dans le filtrat brut, le rendement en protéines au filtrat clarifié n'est plus que de 23%, alors que celui en lipides est le plus élevé (64%). Dans l'éthanol à 75%, la quasi-totalité des protéines extraites de la graine (44,5%) est sous forme insoluble avec 60% des lipides extraits, et le rendement en lipides dans le filtrat clarifié est le plus faible (34% des lipides de la graine).

Bien que plus faible dans le filtrat brut (23 à 26%) et dans la phase insoluble (28 à 34%), la teneur en matière sèche du filtrat clarifié reste élevée (14 à 23,5%) et sa teneur en lipides (10 à 16 g de lipides % g de filtrat clarifié et 11 à 20 g de lipides % g de solvant dans le filtrat clarifié) reste supérieure à leur solubilité dans ces solvants. Et sa décantation à température ambiante fait apparaître lentement une seconde phase émulsion concentrée en matière sèche. Sans préjugés de la répartition soluble/insoluble des protéines et des autres constituants, les lipides seraient bien sous forme d'une dispersion de gouttelettes lipidiques dans le filtrat clarifié. Le traitement d'homogénéisation sous pression des échantillons de filtrat clarifié stabilise les émulsions en diminuant la taille des gouttelettes lipidiques (Evon, 2008; Jouanny

-Bouyer, 2011; Shahi, 2006). Il permet de séparer rapidement et quantitativement par décantation centrifuge une émulsion concentrée et une phase liquide claire dont les proportions massiques ont été estimées après séparation par filtration sur une toile de maille de 50 μm (Figure III-19).

Il apparait, en première approximation, que les taux d'émulsion ainsi séparés sont proportionnels à la teneur en lipides des filtrats clarifiés avec un rapport massique moyen proche de 2,1 (Figure III-20).

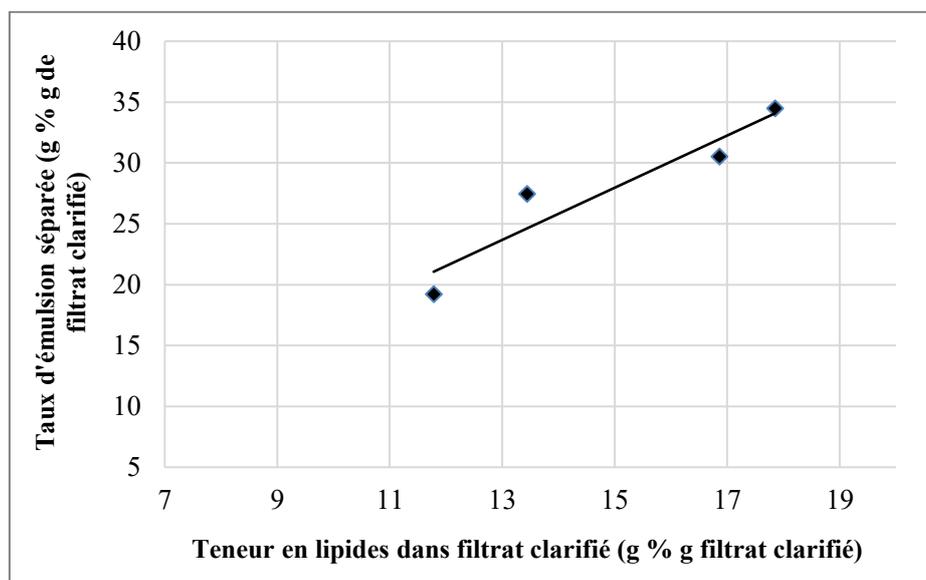


Figure III-20 : Rendement d'émulsion stabilisée par homogénéisation des filtrats clarifiés et la teneur en lipides du filtrat clarifié

Dans les différents solvants, de 88 à 95% de la matière sèche contenue dans les filtrats clarifiés peut être ainsi séparée sous forme d'une émulsion très concentrée en lipides, ne contenant plus que moins de 10% du solvant des filtrats clarifiés dans l'eau et le mélange riche en éthanol (75%), et moins de 20% dans le cas du mélange à 50% (Tableau III-8 et III-9). À l'exception de ce dernier cas, pour lequel le phénomène de concentration de l'émulsion semble moins efficace et qu'une partie des lipides soit entraînée avec le solvant lors de sa filtration, il apparait que la totalité des lipides serait bien séparée dans l'émulsion concentrée.

Tableau III-8 : Rendements en matières sèche et en lipides dans l'émulsion stabilisée par homogénéisation des filtrats clarifiés obtenus par extraction aqueuse et hydroalcoolique des graines de neem en extracteur-séparateur bi-vis BC 21

Essai	9	10	7	6
Solvant	Eau 100%	Eau 75% Ethanol 25%	Eau 50% Ethanol 50%	Eau 25% Ethanol 75%
Filtrat clarifié				
Teneur en matière sèche (g % g filtrat clarifié)	21,36	22,76	19,85	13,86
Teneur en lipides (g % g filtrat clarifié)	13,44	16,86	17,85	11,78
Emulsion				
g % g filtrat clarifié	27,45	30,52	34,50	19,24
Matière sèche (MS) (g % g d'émulsion sèche)	71,95	67,78	52,80	69,16
Lipides (g % g d'émulsion sèche)	70,14	78,94	62,66	83,86
Rendement en MS dans l'émulsion (g % g de filtrat clarifié sec)	78,14	73,70	75,48	65,02
Rendement en lipides dans l'émulsion (g % g de filtrat clarifié sec)	100	96,8	65,79	94,72

Tableau III-9 : Composition des émulsions stabilisées obtenues par homogénéisation et centrifugation des filtrats clarifiés issus de l'extraction aqueux et hydro-alcoolique des graines de neem en extrudeur séparateur bi-vis BC 21

Essai	9	10	7	6
Solvant	Eau 100%	Eau 75% Ethanol 25%	Eau 50% Ethanol 50%	Eau 25% Ethanol 75%
Solvant g % g d'émulsion	28	32	47,5	30
Solvant g % g de solvant du filtrat clarifié	9,8	12,5	20	6,7
Lipides g % g d'émulsion sèche	50,5	53,5	33	58
Lipides g % g de solvant	1,8	1,67	0,69	1,93
Lipides g % g de MS de l'émulsion	70,1	78,9	62,7	83,9

III.2.3.4. Orientation pour une optimisation du fractionnement des graines de neem par extraction par solvant en extrudeur bi-vis

Les résultats obtenus avec l'eau comme seul solvant d'extraction montrent que trois opérations élémentaires sont réalisées dans l'extrudeur bi-vis :

- Le broyage des graines et le défibrage de leurs coques ;
- Le broyage des amandes de graines, la déstructuration de leurs contenus cellulaires natifs et leur entrainement dans la phase aqueuse ;
- La séparation par filtration-pressage du mélange conduisant à un raffinat constitué essentiellement de fibres de coque et un filtrat contenant les protéines et les lipides entraînés dans la phase aqueuse.

Dans les conditions opératoires choisies (ratio eau/graines : 1,5 ; débit de graines : 4 kg/h ; vitesse de rotation des vis 150 rpm), le pressage du mélange est très efficace (moins de 15% du solvant introduit entraîné avec l'extrudât) et le raffinat fibreux ne contient plus que 8% des lipides, 26% des protéines et 17% de l'azadirachtine contenus dans la graine. Les rendements d'extraction des trois constituants sont nettement plus élevés que ceux obtenus par extraction aqueuse dans un contacteur à haut cisaillement du type Mixeur Warning Blendor (Faye, 2010) avec un ratio liquide/solide beaucoup plus élevé (L/S=4) : 57% des lipides, 60% des protéines et 26% de l'azadirachtine contenus initialement dans la graine restent dans la phase solide séparée après centrifugation et filtration. Ce qui montre l'efficacité de la déstructuration dans l'extrudeur bi-vis BC 21, conduisant à l'entrainement des protéines et des lipides.

Une amélioration des rendements d'extraction pourrait être obtenue par l'augmentation du ratio liquide/solide, de la vitesse de rotation des vis et/ou du débit des graines dans l'extrudeur bi-vis comme l'ont montré les travaux de Faye (Faye, 2010) sur l'étude de la distribution des temps de séjour des phases liquide et solide dans un extrudeur de plus grande taille (type BC 45) avec un profil de vis différent (Figure III-1). Remarquons cependant que l'effet principal de l'augmentation de l'un de ces trois facteurs se traduit par une diminution des temps de séjour du liquide et du solide dans la zone d'extraction de l'extrudeur bi-vis, et que si près de 83% de l'azadirachtine ont été extraits grâce à une élévation du ratio liquide/solide à une valeur de 2 et pour une vitesse de rotation des vis de 100 rpm, à une température de 60°C, le rendement en lipides extraits de la graine est resté limité à 72%. Ce qui montre que l'intensification du malaxage-cisaillement dans la zone d'extraction solide-liquide de

l'extrudeur bi-vis BC 21 mis en œuvre dans cette étude améliore la déstructuration des amandes de la graine au niveau de leur contenu cellulaire. Et le rendement en lipide extrait des graines (92%) est équivalent à celui obtenu en trois étages d'extraction dans un contacteur cisailant avec un rapport L/S de 5 dans le cas des graines de tournesol (Evon, 2008).

Enfin, une partie des lipides de la graine, en particulier ceux provenant des coques (de l'ordre de 3% des lipides de la graine *Paragraphe II.3.2*), ne seront pas sous forme de triglycérides (98% de triglycérides dans l'huile de neem) et leur extraction à l'eau difficile, voire impossible. L'introduction d'une part croissante d'éthanol dans l'eau n'a pas amélioré les rendements d'extraction. Le gain de rendement en lipides extraits par optimisation des conditions opératoires dans l'extrudeur bi-vis apparaît donc limité. Il en sera de même pour l'extraction des protéines. En effet, le rendement obtenu dans l'extrudeur bi-vis BC 21 (74% avec l'eau comme seul solvant) est supérieur à celui obtenu par extraction aqueuse d'amandes finement broyées (0,5 à 1 mm) dans un contacteur agité avec un ratio liquide/solide de 5 pendant 3 heures et demi à 30°C (68% de protéines entraîné par l'eau). Et il est équivalent au taux de protéines de réserve (albumines + globulines) en général rencontrées dans les graines oléagineuses comme le colza ou le tournesol (70,5 et 75% en moyenne). Bien que d'autres protéines de structures ou métaboliques puissent être présentes dans la graine de neem, leur extraction aqueuse nécessite une modification des caractéristiques du solvant (solution basique pour les globulines, solution alcoolique pour les prolamines). Théoriquement, seules les albumines sont solubles dans l'eau, mais en conditions mécaniques de forte cisaillement, les globulines sont hydratées et leurs assemblages supramoléculaires déstructurés, ce qui permet leur entraînement par solvant. L'introduction d'une part croissante d'éthanol dans l'eau défavorise le rendement en protéines extraites dans le mélange à 75% d'éthanol, il n'est plus que de 45%, dont la quasi-totalité sous forme insoluble.

Enfin, dans les conditions du fractionnement des graines dans l'extrudeur bi-vis, 83% de l'azadirachtine sont extraites dans l'eau, ce qui est largement supérieur aux résultats obtenus en contacteur agité dans le meilleur des cas (30%, *Paragraphe II.3.4.3*). Ce qui se tiendrait à prouver que l'azadirachtine se comporte comme un soluté dans ces solvants, même si l'entraînement des lipides et des protéines de la graine favorise son coextraction. L'augmentation du ratio liquide/solide, sous condition que l'efficacité du pressage du mélange soit prouvée, devrait permettre d'améliorer ces rendements. Une alternative sera de

percoler le raffinat extrudé par l'éthanol pour en éliminer les traces d'azadirachtine qu'il contient (0,54 à 0,82 g/kg).

C'est surtout au niveau du traitement des filtrats obtenus que des améliorations significatives pourront être apportées. En effet, sous l'hypothèse raisonnable que l'entraînement des lipides sous forme d'une dispersion de gouttelettes triglycéridiques et des protéines sous forme de particules de taille inférieure à 50 µm, refait de façon indépendante dans le solvant lors de la déstructuration de leur corpuscules d'origine, leur séparation dans la phase insoluble et dans le filtrat clarifié devrait pouvoir être améliorée. En effet, dans le cas de l'eau seule comme solvant, la clarification par centrifugation (2000 g, 10 min) du filtrat brut conduit à une fraction phase insoluble contenant 40,5% des protéines de la graine correspondant à 55% des protéines du filtrat qui auraient ainsi précipitées, mais aussi près de 50% des lipides de la graine, soit 60% des lipides du filtrat entraînés avec 43% de l'eau du filtrat brut. La teneur en eau de cette fraction est élevée, et une partie des lipides contenus dans cette fraction pourrait être en réalité sous forme de dispersion de gouttelettes dans l'eau ; et un essorage plus poussé de la phase insoluble devrait permettre d'en séparer une partie dans le filtrat clarifié. Cette hypothèse a été validée par un essai de fractionnement d'un nouveau lot de graines dans les mêmes conditions d'extrusion que l'essai 9.

Les rendements d'extraction de matière sèche, de lipides, et de protéines dans le filtrat brut sont proches de ceux obtenus précédemment (**Tableau III-10**, Essai 15) ; les légères différences pouvant s'expliquer par la différence de composition des lots de graines traitées : la légère diminution du rendement en lipides extraits (-2,4%) et la petite augmentation du rendement en protéines extraites au filtrat brut (+2%) peuvent être en partie imputées au fait que moins de lipides (-3,5%) et plus de protéines (+7%) ont été introduits avec le second lot. Remarquons ainsi que bien que l'efficacité de pressage soit la même dans les deux essais (68,3 et 67,9% de la matière sèche à l'extrudât), la légère diminution des autres constituants introduits (-2,9% dans le second essai) pourrait contribuer à leur plus faible extraction (-8% de rendement).

Tableau III-10 : Fractionnement aqueux des graines de neem (Lot n°3, Essai 15) en extraction-séparateur bi-vis BC 21

	Entrée extrudeur	Sortie extrudat	Sortie filtrat
Débit graines (kg/h)	4	3	7
Débit eau (kg/h)	6	0,96 (+0,27 graine)	5,31
Débit constituants			
Matière sèche (kg/h)	3,73	2,04	1,69
Lipides (kg/h)	1,144	0,12	1,021
Protéines (kg/h)	0,494	0,12	0,37
Autres constituants (kg/h)	2,09	1,8	0,294
Azadirachtine (g/h)	6,41	1,1	5,31
Composition			
Matière sèche (%)	93,15	67,91	24,14
Lipides (% MS)	30,67	6,05	60,61
Protéines (% MS)	13,24	5,79	22,07
Autres constituants (% MS)	56,09	88,16	17,15
Azadirachtine (g/kg MS)	1,72	0,54	3,14
Rendements			
Matière sèche	g % g graine sèche	54,7	45,3
	g % g MS graine	54,7	45,3
Lipides	g % g graine sèche	3,2	27,45
	g % g lipides graine	10,75	89,5
Protéines	g % g graine sèche	3,2	10
	g % g protéines graine	23,82	76,1
Azadirachtine	g % g azadirachtine graines	17,25	82,84

Conditions opératoires : Extrudeur bi-vis BC 21 (Figure III-8) ; Vitesse de rotation des vis 150 rpm ; Température 30°C, Ratio L/S=1,5

La clarification des filtrats bruts a alors été menée en intensifiant la séparation centrifuge jusqu'à l'obtention d'une phase insoluble ne contenant plus que 65% d'eau, ce qui représente une augmentation de la masse de filtrat clarifié de plus de 20% (**Tableau III-11**). Dans ces conditions, la phase insoluble s'est enrichie en protéines (38,25 g % g MS pour sensiblement la moitié précédemment) et nettement appauvrie en lipides (35,15 g % g MS pour 52,33% précédemment). Et l'entraînement de près de 65% des lipides de la graine dans le filtrat clarifié, pour moins de 45% précédemment, a permis la séparation de près de 62% des protéines de la graine dans la phase insoluble, pour seulement 41% avec une centrifugation du filtrat brut moins efficace. Ces résultats tendent bien à confirmer que dans le milieu aqueux du filtrat brut séparé par filtration-pressage dans l'extrudeur bi-vis, la dispersion des gouttelettes

lipidiques et la suspension des protéines entraînées se comportent de façon indépendante et peuvent être séparées par filtration centrifuge sous forme d'une phase insoluble concentrée en protéines (81% des protéines extraites de la graine) et d'une émulsion lipidique dispersée dans le filtrat clarifié (72,5% des lipides extraits de la graine).

Tableau III-11 : Composition des rendements de la clarification du filtrat brut issu du fractionnement aqueux des graines de neem en extrudeur bi-vis (Essai 15)

	Phase insoluble	Filtrat clarifié
Taux de séparation (g % g filtrat brut)	32,44	67,56
Matière sèche (%)	35,08	18,9
Eau (%)	64,92	81,1
Lipides (g % g MS)	35,15	82,9
Protéines (g % g MS)	38,25	8
Autres constituants (g % g MS)	26,6	9,2
Azadirachtine (g/kg MS)	0,78	5,24
Rendements		
Matière sèche (g % g MS graine)	21,35	23,95
Eau (g % g d'eau introduite)	23,51	61,16
Lipides (g % g lipides graine)	24,47	64,77
Protéines (g % g protéines graine)	61,66	14,45
Autres constituants (g % g autres constituants graine)	10	3,92
Azadirachtine (g % g azadirachtine graine)	9,67	73,13

L'homogénéisation haute pression du filtrat clarifié permet de séparer par centrifugation une émulsion très concentrée en lipides (65,7% de lipides % g d'émulsion et 91,3 g % g de matière sèche dans l'émulsion), ne contenant plus que très peu de protéines et d'autres constituants (**Tableau III-12**).

Tableau III-12 : Composition et rendements dans les phases émulsion stabilisée à partir du filtrat clarifié issu de fractionnement aqueux des graines de neem en extrudeur bi-vis BC 21 (Essai 15)

	Phase émulsion
Taux de séparation (g % g filtrat clarifié)	20,36
Matière sèche (%)	71,98
Eau (g % g MS)	28,02
(g % g MS)	91,33
Lipides (g % g d'émulsion brute)	65,73
(g % g d'eau de l'émulsion)	2,3
Protéines (g % g MS)	3,55
Autres constituants (g % g MS)	5,12
Azadirachtine (g/kg MS)	4,95
Rendements	
Matière sèche (g % g MS graine)	18,6
Lipides (g % g lipides graine)	55,3
Protéines (g % g protéines graine)	5
Autres constituants (g % g autres constituants graine)	1,7
Azadirachtine (g % g azadirachtine graine)	53,5

Cette émulsion contient 18,6% de la matière sèche des graines, 41% de la matière sèche extraite des graines et 77,5% de celle du filtrat clarifié, contre 53% des lipides de la graine, 59% des lipides extraites et 85% des lipides du filtrat clarifié. Une petite partie des lipides (12%) et des protéines (9,5%) de la graine n'a pas été entraînée dans l'émulsion, par contre les 3/4 de l'azadirachtine extraites dans le filtrat clarifié le sont, représentant plus de la moitié de l'azadirachtine de la graine.

La phase aqueuse séparée de l'émulsion, qui ne contient plus que moins de 6% de matière sèche, pourrait avantageusement être recyclée pour un lavage de l'extrudeur et/ou un lavage de la phase insoluble, permettant ainsi de récupérer tout ou une partie des 10% de lipides résiduels contenus dans l'extrudât, et surtout des 24% qui restent dans la phase insoluble avec les 65% d'eau qu'elles contiennent.

En conclusion, c'est l'eau comme seul solvant du fractionnement des graines de neem en extrudeur bi-vis qui permet d'obtenir les meilleurs rendements d'extraction et de séparation des constituants en trois fractions :

- Une fraction extrudât, qui représente 50 à 55% de la matière sèche des graines, et constitue le raffinat solide, majoritairement constitué de fibres de coques de graines, délipidé (8 à 10%

de lipides résiduels), déprotéiné (24 à 26% de protéines résiduelles), et ne contenant plus que 17% de l'azadirachtine des graines. L'introduction d'une proportion croissante d'éthanol dans l'eau comme solvant n'améliore ni la délipidation, ni la déprotéination du raffinat. Tout au plus, en milieu éthanolique majoritaire (75% d'éthanol pour 25% d'eau), l'extraction de l'azadirachtine sera légèrement améliorée (moins de 14% de l'azadirachtine résiduelle dans le raffinat); cette différence pourrait être compensée par une augmentation du ratio liquide/solide dans le cas de l'eau comme nous le confirmerons ultérieurement.

■ Une fraction phase insoluble issue de la clarification du filtrat brut qui contient de 28 à moins de 22% de la matière sèche des graines lorsque la séparation par centrifugation est plus efficace (moins de 65% d'eau dans la phase insoluble). Plus de 80% des protéines entraînées dans le filtrat brut y précipitent (61 g % g de protéines de la graine), conduisant après séchage à un concentrât protéique d'amande de graines contenant 38% de protéines et 27% d'autres constituants, mais encore 35% de lipides (moins de 25% de lipides de la graine entraînés dans la phase insoluble) et très peu d'azadirachtine (moins de 10% de l'azadirachtine de la graine). Les lipides de la phase insoluble étant présents dans le même rapport lipide/eau que dans la phase solvant clarifié (proche de 0,19 kg/kg), il est raisonnable de supposer qu'une augmentation du taux d'essorage de la phase insoluble au-delà d'une matière sèche résiduelle de 35% permettrait d'entraîner plus de lipides dans le filtrat clarifié et d'améliorer le taux de lipides résiduels. Il en sera de même pour l'azadirachtine. Une augmentation du ratio liquide/solide devrait conduire au même résultat. L'ajout d'une proportion croissante d'éthanol dans l'eau comme solvant n'améliore pas les rendements en protéines dans la phase insoluble. Tout au plus, en milieu éthanol majoritaire, la quasi-totalité des protéines entraînées dans le filtrat brut précipitent dans la phase insoluble, mais le rendement dans cette phase est limité par le rendement d'extraction dans l'extrudeur bi-vis (moins de 45,5% de protéines).

■ Une fraction filtrat clarifié, issue de la séparation de la phase insoluble, qui contient près de 24% de la matière sèche des graines, à près de 83% de lipides lorsque la séparation centrifuge est efficace. Le rendement en lipides dans cette phase (près de 65% des lipides de la graine et 75% des lipides extraits au filtrat brut) pourrait être encore amélioré par l'intensification de la séparation centrifuge et l'essorage de la phase insoluble, mais il atteint d'ores et déjà des valeurs équivalentes à celles obtenues avec les solvants hydro alcooliques, même si ces derniers pourraient être améliorés aussi par un meilleur essorage de la phase insoluble. L'essentiel des lipides du filtrat clarifié sont sous forme d'une émulsion dans l'eau (19 g de

lipides dans 100 g d'eau) avec peu de protéines (8 g de protéines dans 100 g de filtrat clarifié sec représentant 14,5% des protéines de la graine), et d'autres constituants (9 g d'autres constituants dans 100 g de filtrat clarifié sec représentant 4% des autres constituants de la graine), mais contenant la majeure partie de l'azadirachtine de la graine (73%). Et l'homogénéisation haute pression de ce filtrat clarifié permet la séparation centrifuge d'une émulsion stable, remarquablement concentrée en lipides (plus de 91%, soit 2,3 g de lipides par g d'eau). Dans les conditions de séparation de l'émulsion mise en œuvre, pour un rendement en émulsion de 20,3 g pour 100 g de filtrat traité (77 g de matière sèche dans l'émulsion % g de matière sèche dans le filtrat clarifié), le rendement est de 55% des lipides et 53% de l'azadirachtine de la graine. L'introduction d'une part d'éthanol dans l'eau comme solvant n'améliore pas ces résultats.

Un premier bilan matière du fractionnement des graines de neem avec l'eau comme solvant dans l'extracteur-séparateur bi-vis peut donc être établi à partir des résultats acquis (**Figure III-21**).

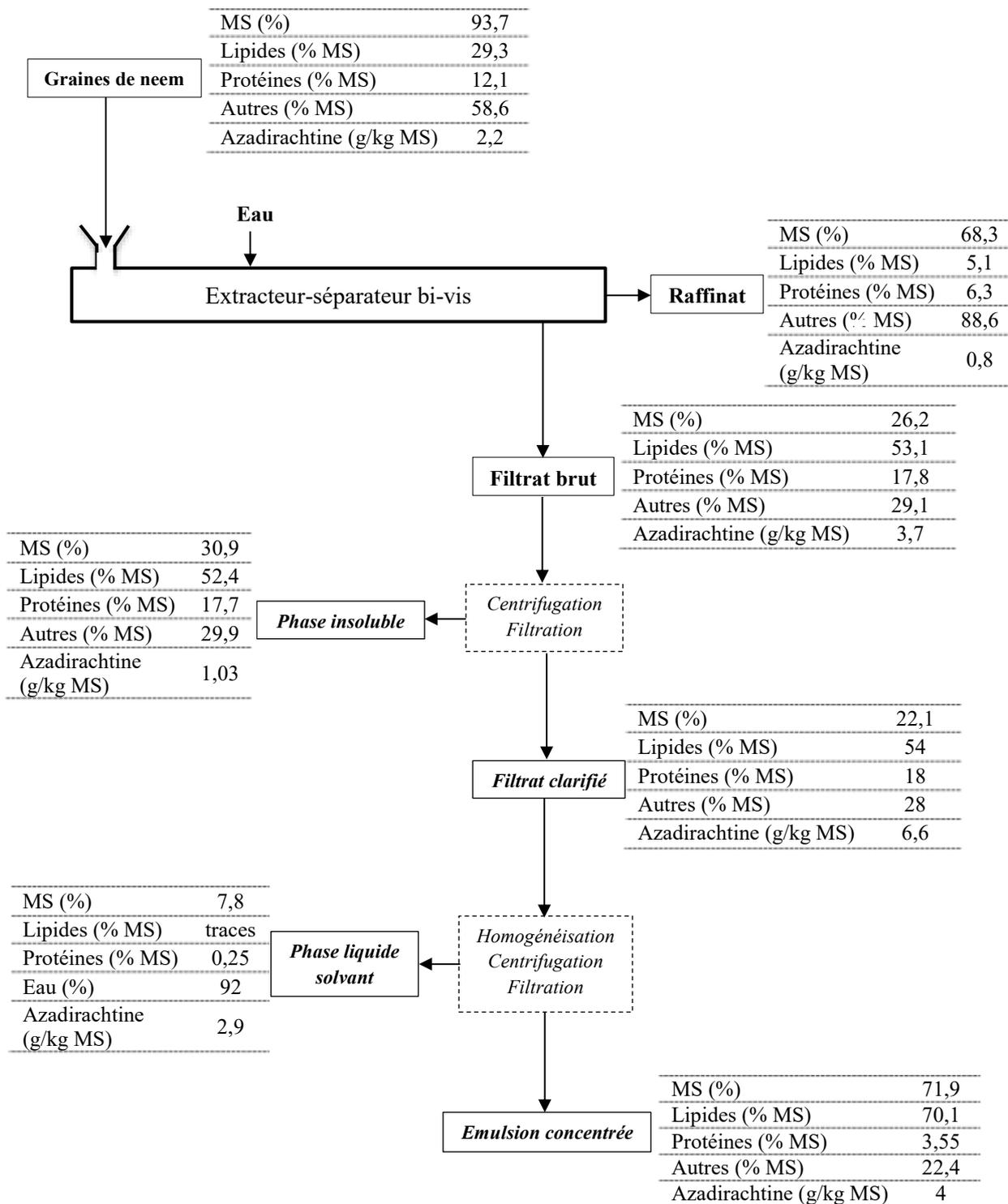


Figure III-21 : Estimation du bilan matière pour le fractionnement aqueux des graines de neem en extrudeur bi-vis BC 21

L'extrudeur bi-vis ainsi mis en œuvre combine en une seule étape le broyage et le défibrage des coques de la graine obtenue sous forme de raffinat avec un rendement de 55% par rapport à la graine, la déstructuration des cellules d'amande et l'entraînement de leurs contenus dans l'eau et la séparation par filtration-pressage d'un filtrat contenant 76% des protéines, 89,5% des lipides et 83% de l'azadirachtine des graines. Les protéines sont essentiellement sous forme insoluble qui coagule par centrifugation du filtrat (81% des protéines entraînées au filtrat) et les lipides sont principalement sous forme d'une émulsion dans le filtrat clarifié (72% des lipides entraînés au filtrat). La proportion de lipides restant dans la phase protéique insoluble (moins de 25% des lipides de la graine) pourra être minimisée par un meilleur essorage centrifuge de cette dernière, mais aussi en minimisant la teneur en lipides dans le filtrat brut séparé dans l'extrudeur bi-vis. Une telle solution peut être obtenue par pressage des graines conduisant à l'expression des lipides, avant extraction par l'eau de la phase solide ou tourteau, issu du pressage.

III.3. Etude du fractionnement des graines de neem par pressage et extraction par solvant en extrudeur bi-vis

Le pressage des graines de neem en extrudeur bi-vis a été étudié par Faye (Faye, 2010) avec une configuration et un profil de vis définissant trois zones dans le fourreau : alimentation en graines, trituration des graines et filtration-pressage (Figure III-1). Cette configuration a donc été adaptée pour permettre de réaliser ensuite dans le même extrudeur les opérations d'extraction par l'eau et de séparation liquide-solide étudiées précédemment sur la graine entière.

III.3.1. Adaptation de la configuration et du profil de vis pour le pressage et l'extraction par solvant des graines de neem

L'extrudeur bi-vis mis en œuvre pour cette étude est du même type que précédemment (Clextral BC 21 *Paragraphe III.2.1*), mais sa configuration a été adaptée pour permettre le pressage des graines puis l'extraction par solvant en quatre zones du fourreau (**Figure III-22**).

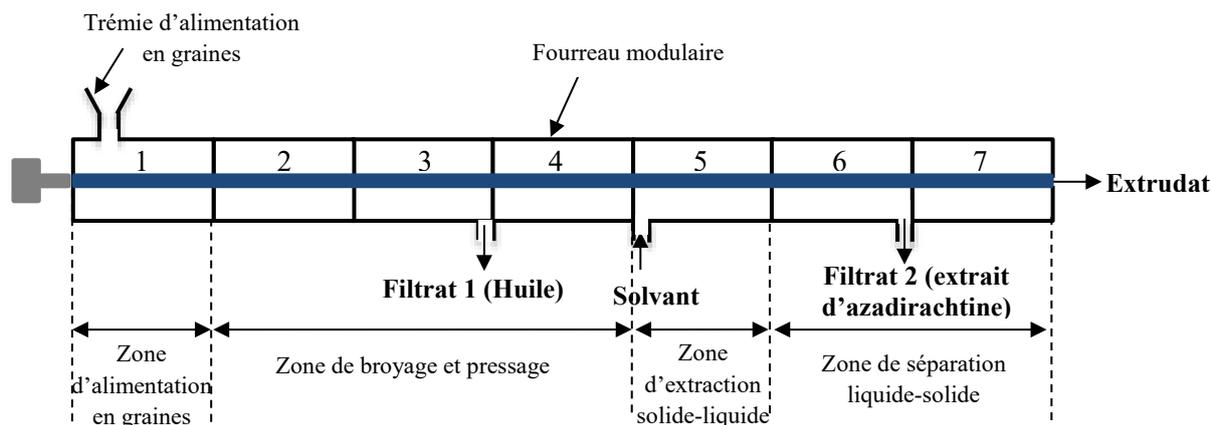
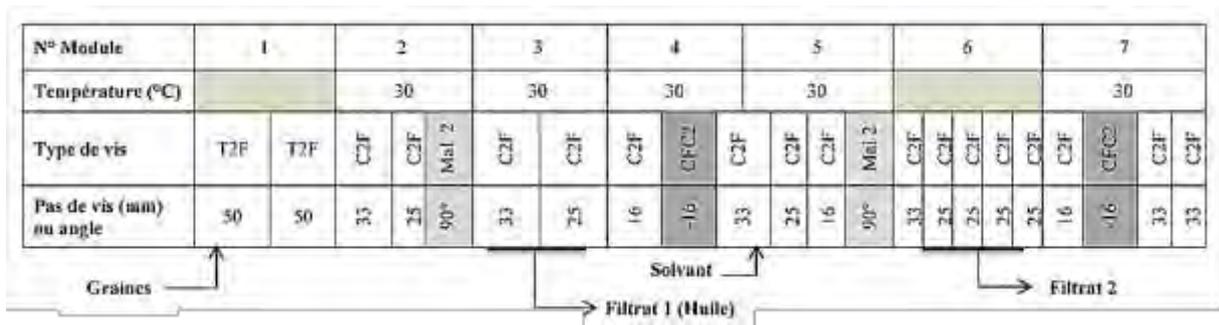


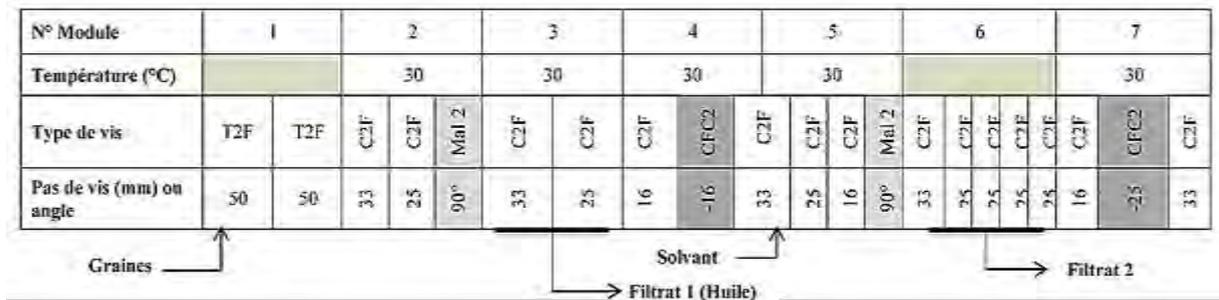
Figure III-22 : Configuration de l'extrudeur bi-vis BC 21 pour l'expression d'huile par pressage et l'extraction par solvant des graines de neem

Les graines entières sont introduites dans le premier module et convoyées vers le second module dans lequel sont installés des malaxeurs bilobes (MAL 2 ou BB) qui assurent leur broyage, tout comme dans le cas de l'extraction directe par solvant (Figure III-7). Les graines broyées sont ensuite convoyées dans le module 3 équipé de filtres en demi-coquille percés d'orifices de 1 mm de diamètre à travers lesquels l'huile exprimée par pressage du solide dans des contre-filets installés dans le quatrième module peut s'écouler. C'est en début du module 5 que le solvant est injecté dans le fourreau et le mélange solide-liquide est convoyé vers des malaxeurs bilobes. Le module 6 est le second module de filtration, équipé de filtres en demi-coquille percée d'orifices de 0,5 mm de diamètre. Le mélange solide-liquide est pressé dans le dernier module sous l'action des contre-filets qui y sont installés.

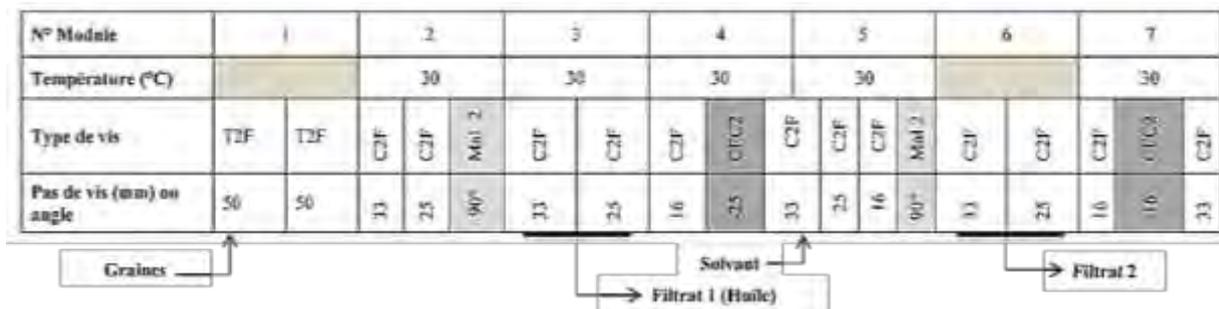
Cinq profils de vis, permettant de moduler l'intensité du cisaillement imposé aux graines puis au mélange liquide-solide, et leur compression dans les bouchons dynamiques formés dans les contre-filets sont étudiés (**Figure III-23**).



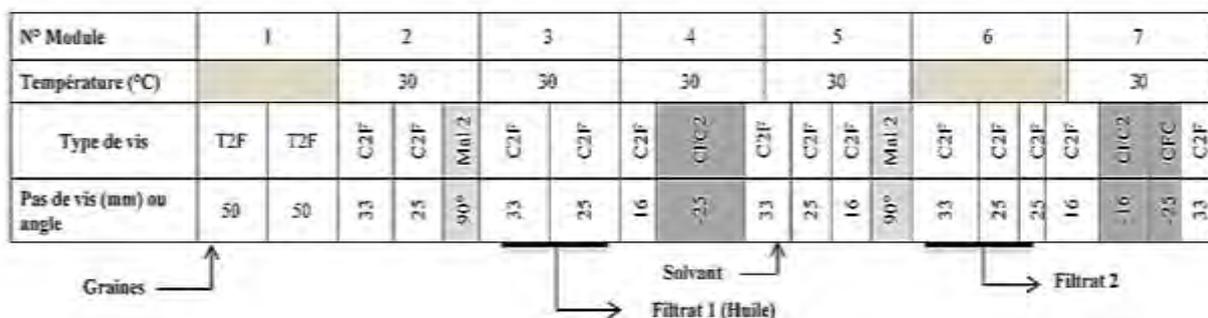
Configuration et profil de vis 4



Configuration et profil de vis 4 bis



Configuration et profil de vis 5



Configuration et profil de vis 6

Figure III-23 : Configurations et profils de vis étudiés pour l'expression et l'extraction par solvant des graines de neem en extrudeur bi-vis BC 21

Les expériences réalisées ont montré que quel que soit le profil utilisé, l'expression d'huile est possible en sortie du premier filtre mais le bouchon dynamique ne s'est pas suffisamment formé dans la zone d'extraction pour assurer une bonne séparation liquide-solide. L'huile exprimée en sortie du premier filtre est centrifugée pour séparer les particules solides entraînées et le dosage des lipides est effectué sur l'huile ainsi clarifiée (*Partie expérimentale V.1.13 à V.1.16*).

L'intensification du pressage des graines par réduction du pas de vis des contre-filets à longueur équivalente (CFC2 -25 dans les profils 5 et 6 à CFC2 -16 dans les profils 4 et 4 bis) se traduit bien par une augmentation du débit d'huile brute, mais avec un plus fort entrainement de particules solides, traduisant une plus forte déstructuration des graines. Dans ces conditions de pressage, la séparation de la phase liquide après injection du solvant dans la zone d'extraction liquide-solide est inopérante, malgré une adaptation des pas de vis des seconds contre-filets de pressage du mélange : la texturation du mélange liquide-solide dans les contre-filets est insuffisante ; le bouchon dynamique ne se forme pas de façon suffisamment stable pour opérer le pressage et aucun filtrat n'est recueilli au second filtre.

La diminution de la longueur du contre-filet (CFC2 -16) de pressage des graines dans le module 4 minimise l'entrainement des particules dans l'huile brute sans pénaliser entre mesure le rendement en huile exprimée et la séparation liquide-solide au second module de filtration redevient efficace, avec un profil de vis équivalent à celui mis en œuvre pour l'extraction directe par solvant (profil de vis 3, **Figure III-24**).

N° Module	1		2			3		4			5		6					7			
Température (°C)			30			30		30			30							30			
Type de vis	T2F	T2F	C2F	C2F	Mal 2	C2F	C2F	C2F	CFC2	C2F	C2F	C2F	Mal 2	C2F	C2F	C2F	C2F	C2F	C2F	CFC2	C2F
Longueur de vis (mm)	50	50	50	25	25	50	50	25	25	50	25	25	50	50	12,5	12,5	12,5	12,5	25	50	25
Pas de vis (mm) ou angle	50	50	33	25	45°	33	25	16	-16	33	25	16	90°	33	25	25	25	25	16	-16	33

Graines → (pointe vers le module 1)
 Solvant → (pointe vers le module 4)
 Filtrat 1 (Huile) → (pointe vers le module 4)
 Filtrat 2 → (pointe vers le module 6)

Figure III-24 : Configuration et profil de vis 3 de extrudeur bi-vis BC 21 mis en œuvre pour l'expression d'huile par pressage et l'extraction par solvant des graines de neem

L'analyse du profil de remplissage des vis après l'arrêt brutal du fonctionnement de l'extrudeur et ouverture rapide du fourreau (**Figure III-25**) confirme l'efficacité du pressage dans les deux contre-filets des modules 4 et 7 qui sont remplis, et la bonne hydratation du mélange liquide-solide (54% d'eau au module 5 et 51% au module 6), légèrement inférieure au ratio liquide/solide injecté (63% d'eau dans le mélange). Une partie de l'eau, injectée en tête du module 5 s'adsorbe sur les graines en sortie du contre-filet de pressage, et surtout est séparée au filtrat du second module de filtration. La matière sèche du mélange pressé dans le second contre-filet au module 7 correspond à celle mesurée pour l'extrudât (74,7%).

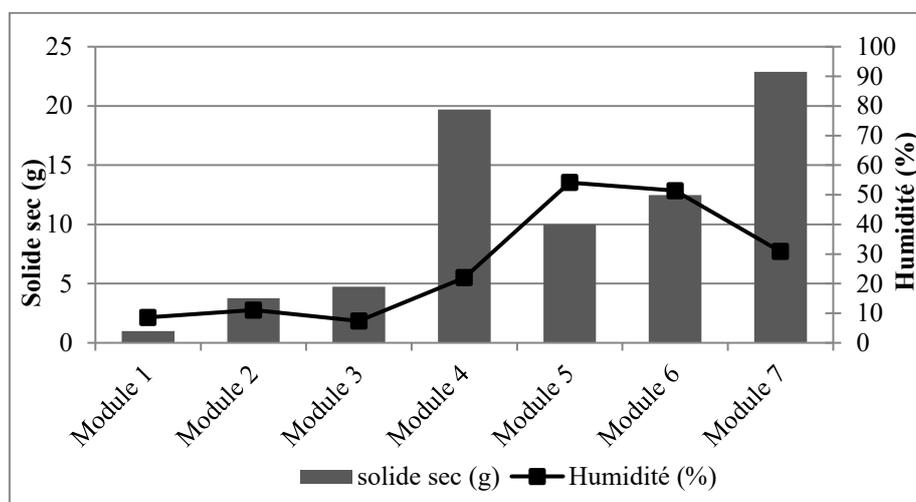


Figure III-25 : Répartition du solide sec et de l'humidité dans les différents modules de l'extrudeur BC 21 lors de l'expression d'huile par pressage et l'extraction par solvant des graines de neem (Essai 11)

III.3.2. Fractionnement des graines de neem par pressage et extraction à l'eau en extrudeur bi-vis BC 21

Les rendements du fractionnement par expression et extraction à l'eau dans l'extrudeur bi-vis avec cette configuration et ce profil de vis adapté (profil de vis 3) rapportés dans le **Tableau III-13** montrent que :

- Plus de 92% des lipides de la graine sont extraits dont près de 32% sous forme d'une huile exprimée et 60% entraînés au filtrat d'extraction à l'eau ;
- 85% des protéines sont extraites, dont la quasi-totalité dans le filtrat d'extraction à l'eau ;
- et 90% de l'azadirachtine des graines est extrait dans le filtrat d'extraction à l'eau.

Tableau III-13 : Conditions opératoires et rendements du fractionnement des graines de neem (lot n° 2, Essai 19) par expression et extraction à l'eau en extrudeur bi-vis BC 21

Entrée extrudeur	
Débit graines (kg/h)	4
Débit graines sèches (kg/h)	3,73
Débit lipides (kg/h)	1,143
Débit protéines (kg/h)	0,494
Débit autres constituants (kg/h)	2,092
Débit débit azadirachtine (g/h)	6,408
Débit eau graines (kg/h)	0,27
Sortie filtre 1	
Débit huile brute (kg/h)	0,587
Teneur en lipides (g % g MS filtrat 1)	62,23
Débit lipides (kg/h)	0,365
Rendement lipides exprimés (g % g lipides graine)	31,9
Débit matière sèche non lipidique (kg/h)	0,2
Sortie extrudat	
Débit extrudat (kg/h)	2,21
Teneur matière sèche extrudat (g % g MS extrudat)	74,73
Débit matière sèche extrudat (kg/h)	1,65
Rendement matière sèche extrudat (g % g matière sèche graine)	44,2
Teneur lipides extrudat (g % g matière sèche extrudat)	5,56
Débit lipides extrudat (kg/h)	0,09
Rendement lipides extrudat (g % g lipides graine)	7,8
Teneur protéines extrudat (g % g MS extrudat)	4,5
Débit protéines extrudat (kg/h)	0,074
Rendement protéines extrudat (g % g protéines graine)	14,8
Teneur azadirachtine extrudat (g/ kg MS extrudat)	0,37
Débit azadirachtine extrudat (kg/h)	0,61
Rendement azadirachtine extrudat (g % g azadirachtine graine)	9,5
Sortie filtrat 2	
Débit eau injectée ((kg/h)	6
Débit filtrat 2 (kg/h)	7,2
Teneur matière sèche filtrat 2 (g % g MS filtrat 2)	24
Débit matière sèche filtrat 2 (kg/h)	1,73
Rendement matière sèche filtrat 2 (g % g MS graine)	46
Débit lipides filtrat 2 (kg/h)	0,689
Teneur lipides filtrats 2 (g % g MS filtrat 2)	39,8
Rendement lipides filtrat 2 (g % g lipides graine)	60,2
Débit protéines filtrats 2 (kg/h)	0,42
Teneur protéines filtrat 2 (g % g MS filtrat 2)	24,3
Rendement protéines filtrat 2 (g % g protéines graine)	85
Débit azadirachtine filtrat 2 (kg/h)	5,798
Teneur azadirachtine filtrat 2 (g/ kg MS filtrat 2)	3,35
Rendement azadirachtine filtrat 2 (g % g azadirachtine graine)	90

Conditions opératoires : Extrudeur bi-vis BC 21, profil de vis 3 ; Vitesse de rotation des vis : 100 rpm ; Température : 30°C ; Ratio eau/graine = 1,5

L'extrudât obtenu est efficacement pressé (moins de 26% d'eau résiduelle) et contient 44% de la matière sèche des graines. Très peu de matière sèche non lipidique est entraînée avec l'huile exprimée au premier filtre, qui représente 10% de matière sèche des graines, et près de 46% serait entraînée dans le filtre aqueux en sortie du second filtre, près de 90% de l'eau introduite.

L'efficacité de la délipidation (5,5% de lipides résiduels dans l'extrudât correspondant à moins de 8% des lipides de la graine) et surtout de la déprotéination (3,4% de protéines résiduelles dans l'extrudât, correspondant à moins de 15% des protéines de la graine) est meilleure que dans le cas de l'extraction aqueuse directe (2% de lipides, 8% de protéines en moins dans l'extrudât). De même, la teneur en azadirachtine résiduelle y est nettement plus faible (0,54 g/kg de matière sèche, soit 17% de l'azadirachtine de la graine pour l'extraction directe, et 0,37 g/kg soit 9,5% de l'azadirachtine de la graine pour l'extraction après pressage). Ces différences peuvent s'expliquer d'une part du fait de la diminution de la vitesse de rotation de 150 à 100 rpm dans le cas du couplage pressage et extraction qui tend à augmenter le temps de séjour du mélange dans la zone de pressage et d'extraction, contribuant à un meilleur essorage de l'extrudât (près de 7% d'eau en moins dans l'extrudât) ; et d'autre part du fait de l'augmentation du ratio eau introduite/matière solide dans la zone d'extraction qui s'élève à 1,76 après pressage des graines, alors qu'il était de 1,5 pour l'extraction directe des graines. Ainsi, pour des rendements en matière sèche extraite des graines au filtrat aqueux voisin (45 et 46%), plus de protéines sont entraînées (plus de 85%) avec moins de lipides (60%) après pressage des graines (**Tableau III-14**).

Tableau III-14 : Rendements (g % g par rapport au potentiel de la graine sèche) comparés du fractionnement des graines de ne²em par extraction aqueuse directe et pressage-extraction aqueuse en extrudeur bi-vis BC 21

	Extraction directe (Essai 9)			Pressage-extraction (Essai 20)		
	Rendement (g % g constituants de la graine sèche)					
	Matière sèche	Lipides	Protéines	Matière sèche	Lipides	Protéines
Filtrat 1 (expression)	0	0	0	10	32	0
Filtrat 2 (extraction)	45	89,5	76	46	60	85
Extrudât	55	11,5	24	44	8	15

Le pressage des graines dans la première zone de l'extrudeur ne pénalise donc pas la déstructuration des corpuscules protéiques et leur entrainement par l'eau, au contraire. Les lipides résiduels dans les graines pressées (68%) sont entraînés au filtrat aqueux avec un rendement (88% des lipides résiduels), équivalent à celui obtenu par extraction directe des graines (89,5% des lipides de la graine).

L'introduction d'une part d'éthanol équivalente à l'eau pour l'étape d'extraction de la graine pressée dans les mêmes conditions opératoires, avec le même ratio solvant/graine, n'améliore pas ces résultats (**Tableau III-15**), moins de lipides et moins de protéines sont extraites, ce qui confirme les résultats obtenus par extraction directe en extrudeur bi-vis (**Paragraphe III.2.2.2 Tableau III-4**).

Ainsi, la mise en œuvre de l'étape de pressage des graines dans l'extrudeur bi-vis, outre le fait qu'elle permet d'obtenir une nouvelle fraction sous forme d'une huile brute de neem, assure une meilleure efficacité de l'entrainement des protéines et des lipides ainsi que de l'azadirachtine par l'eau lors de l'étape d'extraction réalisée dans le même extrudeur bi-vis.

Tableau III-15 : Conditions opératoires et rendements du fractionnement des graines de neem par expression et extraction au mélange éthanol-eau 50% en extrudeur bi-vis BC 21

	Sortie filtre 1	Sortie filtre 2	Sortie extrudat
Débit (kg/h)	-	6,373	2,99
Débit matière sèche (kg/h)	-	1,41	2,21
Teneur matière sèche (g % g MS)	-	22,13	74
Rendement matière sèche (g % g MS graine)	-	38	59,5
Débit huile brute (kg/h)	0,627	-	-
Teneur lipides (g % g MS)	58,83	45,6	5,69
Débit lipides (kg/h)	0,37	0,644	0,13
Rendement lipides (g % g lipides graine)	32,75	55,4	11,4
Débit matière sèche non lipidique (kg/h)	0,25	-	-
Débit protéines (kg/h)	-	0,364	0,13
Teneur protéines (g % g MS)	-	25,8	5,77
Rendement protéines (g % g protéines graine)	-	73,7	26,3
Débit azadirachtine (g/h)	-	5,468	1,24
Teneur azadirachtine(g/kg MS)	-	3,35	0,56
Rendement azadirachtine (g % g azadirachtine graine)	-	80,7	19,3

Conditions opératoires : Extrudeur bi-vis BC 21, profil de vis 3 ; Vitesse de rotation des vis : 100 rpm ; Température : 30°C ; Solvant : eau-éthanol 50% ; Débit solvant injecté : 6 kg/h ; Ratio eau/graine = 1,5

Remarquons cependant que les contraintes de cisaillement et de compression mécanique exercées lors du pressage des graines, surtout au contre-filet, qui provoquent l'entraînement d'une petite fraction de matière sèche des graines avec l'huile exprimée (moins de 10%), conduisent aussi à l'entraînement de plus de matière sèche dans la phase aqueuse du filtrat de séparation liquide-solide (51% de la matière sèche des graines extraites) que dans le cas de l'extraction aqueuse directe (45% de la matière sèche des graines extraites). La déstructuration des graines est plus importante et plus de constituants non lipidiques et non protéiques sont entraînés, comme le montre la comparaison de la composition de la matière sèche des deux filtrats aqueux (**Tableau III-16**).

Tableau III-16 : Composition comparée des filtrats aqueux obtenus par extraction aqueuse des graines de neem en extrudeur bi-vis BC 21

Composition du filtrat	Extraction directe	Pressage-extraction
	Essai 15	Essai 19
Matière sèche (%)	24,14	24
Lipides (g % g MS)	60,61	39,8
Protéines (g % g MS)	22,07	24,3
Autres constituants (g % g MS)	17,15	35,9
Azadirachtine (g/kg MS)	3,14	3,35

La clarification du filtrat brut par centrifugation et filtration selon le même protocole que précédemment (Figure III-11) permet alors de séparer une phase insoluble qui, pour un taux de séparation de 56,7 g % g de filtrat brut, plus faible que dans le cas de l'extraction directe du même lot de graines (32,4 g % g de filtrat brut) contient nettement plus de matière sèche de la graine (32% pour 21% précédemment) (**Tableau III-17**). Le rendement d'extraction des protéines y est plus élevé, mais la composition de matière sèche ainsi séparée avec plus d'eau (68,2% d'eau représentant 40% de l'eau injectée) montre que plus de constituants non lipidiques et non protéiques ont été entraînés (28% par rapport à la graine). Et la teneur en lipides reste élevée, correspondant à un rendement de 29% des lipides de la graine, équivalent aux 32% déjà extraits par pressage.

Tableau III-17 : Composition et rendements de la clarification du filtrat brut issu du fractionnement par pressage et extraction aqueuse des graines de neem en extrudeur bi-vis BC 21 (Essai 19 et 20)

	Phase insoluble		Filtrat clarifié	
	Essai 19	Essai 20	Essai 19	Essai 20
Taux de séparation g % g filtrat brut	50,75	56,29	49,25	43,71
Composition				
Matière sèche (%)	33,62	31,83	14,15	13,99
Eau (%)	66,38	68,17	86	86
Lipides (g % g MS)	26,16	25,5	73,4	81,77
Protéines (g % g MS)	25,8	28,08	20,55	13,18
Autres constituants (g % g MS)	48,04	46,42	6,31	6,4
Azadirachtine (g/kg MS)	2,14	1,56	6,3	8,6
Rendements				
Matière sèche (g % g MS graine)	32,9	34,58	13	11,5
Eau (g % g eau introduite)	40,4	46	30	45
Lipides (g % g lipides graine)	28,3	28,75	32	31
Protéines (g % g protéines graine)	51,1	65,58	21	14,32
Autres constituants (g % g autres constituants graine)	28	28,8	1	1
Azadirachtine (g % g azadirachtine graine)	41	31	49	59

L'augmentation du taux de séparation (50,7 g de la phase insoluble % g de filtrat brut) qui augmente la matière sèche de la phase insoluble (33,6%) n'améliore pas ces résultats. Une partie des protéines est entraînée avec le solvant dans le filtrat clarifié, ce qui diminue le rendement dans la phase insoluble, sans pour autant que les lipides sous forme d'émulsion soient mieux séparés (32% des lipides de la graine dans le filtrat clarifié). Cette différence de comportement par rapport au cas de l'extraction directe pourrait être liée au fait que la proportion de lipides dans la phase insoluble est déjà plus faible (25 à 26% de lipides dans la matière sèche de phase insoluble alors qu'elle est encore de 35% dans le cas de l'extraction aqueuse directe pour un essorage plus poussé) en présence de plus d'autres constituants (46 à 48%) par lesquels ils resteraient adsorbés. Cependant, 31 à 32% des lipides extraits de la graine se retrouvent dans le filtrat clarifié avec peu de protéines, très peu d'autres constituants et 50 à 60% de l'azadirachtine de la graine.

L'homogénéisation haute pression du filtrat clarifié permet de séparer comme précédemment (Figure III-18) une émulsion concentrée avec un rendement de 18,3 g % g de filtrat clarifié, légèrement plus faible (**Tableau III-18**) par comparaison avec l'émulsion obtenue par

extraction aqueuse directe (20,4 g % g de filtrat clarifié) (Tableau III-12). Cette émulsion contient moins de lipides, un peu plus de protéines et plus d'azadirachtine (respectivement 71 et 91 g % g, 4,7 et 3,5 g % g, et 10 et 5 g/kg). Cependant, elle est moins concentrée (51 et 72% de matière sèche ; émulsion brute dans l'eau à 0,79 g de lipides par g d'eau ; et émulsion eau dans l'huile à 2,3 g de lipides par g d'eau), et le rendement en lipides obtenu à partir du filtrat clarifié qui contient moins de lipides après pressage, est plus faible (58 g % g de lipides du filtrat clarifié pour 81 g % g sans pressage). Ainsi, le plus faible rendement en lipides extraits des graines sous forme d'émulsion, lié bien sûr à l'expression préalable à l'extraction aqueuse de l'huile qui en contient 32%, doit aussi être imputée à la différence de composition du filtrat brut et du filtrat clarifié, conduisant à la présence de plus d'autres constituants non lipidiques et non protéiques co-entraînés (24% d'autres constituants dans l'émulsion pour seulement 5% sans pressage). Ils pourraient défavoriser la concentration de l'émulsion par homogénéisation et centrifugation en retenant plus d'eau, et perturber la séparation de l'azadirachtine entre la phase émulsion stabilisée et la phase solvant éliminée.

Tableau III-18 : Composition et rendements dans les phases émulsion stabilisée à partir du filtrat clarifié issu de fractionnement par pressage et extraction aqueux des graines de neem en extrudeur bi-vis BC 21 (Essai 19)

		Phase émulsion
Taux de séparation (g % g filtrat clarifié)		18,27
Matière sèche (g % g émulsion)		50,99
Eau (g % g émulsion)		41
	(g % g émulsion sèche)	70,68
Lipides	(g % g d'émulsion brute)	36
	(g % g d'eau de l'émulsion)	0,73
Protéines (g % g émulsion sèche)		4,7
Azadirachtine (g/kg émulsion sèche)		10
Rendements		
Matière sèche émulsion	(g % g filtrat clarifié)	66,6
	(g % g MS graine)	7,8
Lipides	(g % g lipides filtrat clarifié)	58
	(g % g lipides graine)	18,2
Protéines	(g % g protéines filtrat clarifié)	24
	(g % g protéines graine)	2,8
Azadirachtine	(g % g azadirachtine filtrat clarifié)	77
	(g % g azadirachtine graine)	46

Bien que les résultats obtenus puissent sans doute être améliorés (essorage plus poussé de la phase insoluble, concentration plus poussée de l'émulsion stabilisée), un premier bilan matière du fractionnement des graines par pressage et extraction aqueux dans l'extracteur-séparateur bi-vis peut être établi (**Figure III-26**).

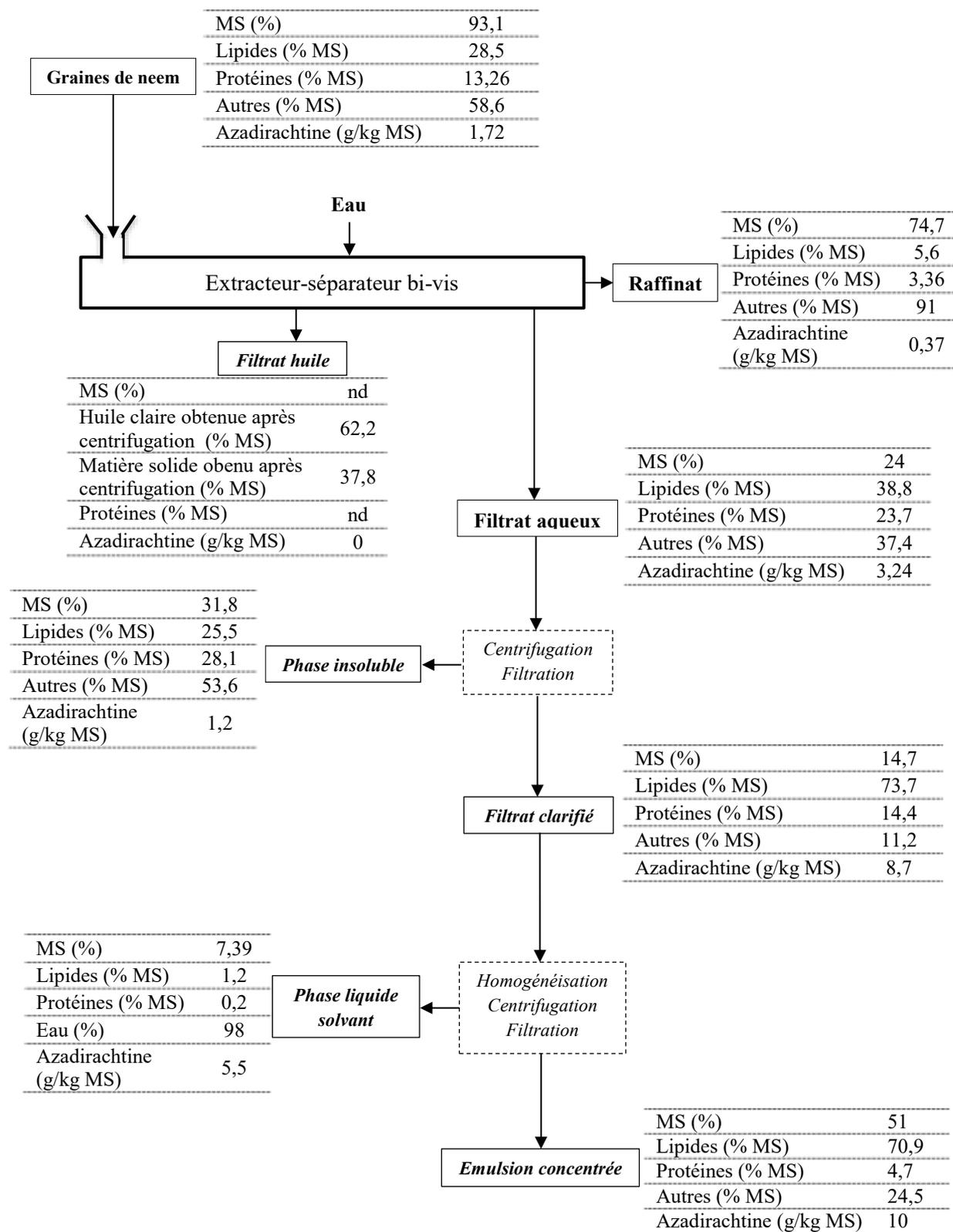


Figure III-26 : Estimation du bilan matière pour le fractionnement par pressage et extraction aqueuse des graines de neem en extrudeur bi-vis BC 21

III.4. Conclusion sur le fractionnement combiné des graines de neem par pressage et extraction aqueuse en extrudeur bi-vis

Le fractionnement des graines de neem par extraction à l'eau en extrudeur bi-vis a été étudié dans un premier temps. La construction d'une nouvelle configuration et d'un nouveau profil de vis à partir des résultats antérieurs (Faye, 2010) a permis pour une vitesse de rotation des vis de 150 rpm, un débit de graines de 4 kg/h ($Q/S = 0,026$) et une température limitée à 30°C, avec un ratio eau/graine de 1,5, d'améliorer les rendements en lipides, protéines et azadirachtine extraits (respectivement 90, 76 et 83%) et de produire un extrudât raffiné avec un rendement de 50% par rapport à la graine, de nature ligno-hémicellulo-cellulosique, provenant du broyage et du défibrage des coques de la graine. Il ne contient plus que 0,37 g/kg d'azadirachtine.

La clarification par centrifugation (2000 g pendant 15 min) et filtration (50 μ m) du filtrat brut, issu de la séparation liquide-solide par filtration-pressage du mélange dans l'extrudeur bi-vis, permet la séparation d'une phase insoluble contenant près de 65% d'eau, avec un rendement de 23,5% par rapport à la matière sèche de la graine. Ce concentrât est enrichi en protéines (61,66% des protéines de la graine), associées à 24,5% de lipides et 10% d'autres constituants provenant essentiellement de l'amande. Il ne contient que 0,78 g/kg d'azadirachtine.

Bien que les résultats de fractionnement du filtrat brut puissent probablement être améliorés par un essorage plus poussé de l'eau contenue dans cette phase insoluble, près de 65% des lipides extraits de la graine sont dispersés dans le filtrat clarifié avec 14,4% des protéines et près de 4% d'autres constituants. Il contient 73% de l'azadirachtine de la graine et la concentration de l'émulsion diluée que forment les lipides extraits par homogénéisation sous pression et séparation centrifuge conduit à une émulsion huile dans l'eau, avec un rendement de 20 g % g de filtrat clarifié, soit de l'ordre de 15 g % g de graines fractionnées. Cette émulsion contient 55% des lipides de la graine et 53,5% de l'azadirachtine extraite de ces graines.

Les processus élémentaires proposés pour représenter les opérations élémentaires ainsi réalisées dans l'extrudeur bi-vis sont ceux d'une combinaison dans les vis du fourreau d'un défibrage mécanique des fibres de la coque avec extraction d'une petite proportion de leurs hydrosolubles, et leur séparation d'avec l'amande dont les constituants sont déstructurés par broyage et entraînés au filtrat. La déstructuration des constituants de l'amande porterait sur les agglomérats.

Chapitre IV

FRACTIONNEMENT DES GRAINES DE NEEM
POUR LA PRODUCTION D'HUILE, D'UN
EXTRAIT PROTEIQUE, D'UNE EMULSION RICHE
EN AZADIRACHTINE ET D'UNE BASE
D'AGROMATERIAU

CHAPITRE IV. FRACTIONNEMENT DES GRAINES DE NEEM POUR LA PRODUCTION D'HUILE, D'UN EXTRAIT PROTEIQUE, D'UNE EMULSION RICHE EN AZADIRACHTINE ET D'UNE BASE D'AGROMATERIAU

Le fractionnement des graines de neem par pressage et extraction aqueuse en extrudeur bi-vis permet de produire trois fractions :

- une huile brute issue de l'étape de pressage des graines ;
- un extrait aqueux sous forme d'un filtrat issu de l'étape d'extraction et de filtration ;
- un raffinat solide sous forme d'extrudât issu du pressage du mélange solide/liquide.

Notre objectif dans ce dernier chapitre est d'étudier les conditions de traitement de ces différentes fractions et de déterminer leurs caractéristiques permettant de proposer leurs valorisations.

IV.1. Conditions du fractionnement des graines de neem en extrudeur bi-vis

Les conditions du fractionnement d'un nouveau lot de graines de neem (**Tableau IV-1**) sélectionnées pour la production des différentes fractions sont rassemblées dans la **Figure IV-1**.

Tableau IV-1 : Composition du lot de graines de neem mis en œuvre pour cette étude

Matière sèche (g % g MS)	93,09
Lipides (g % g MS)	28,21
Protéines (g % g MS)	12,13
Autres constituants (g % g MS)	59,66
Azadirachtine (g/kg MS)	1,381

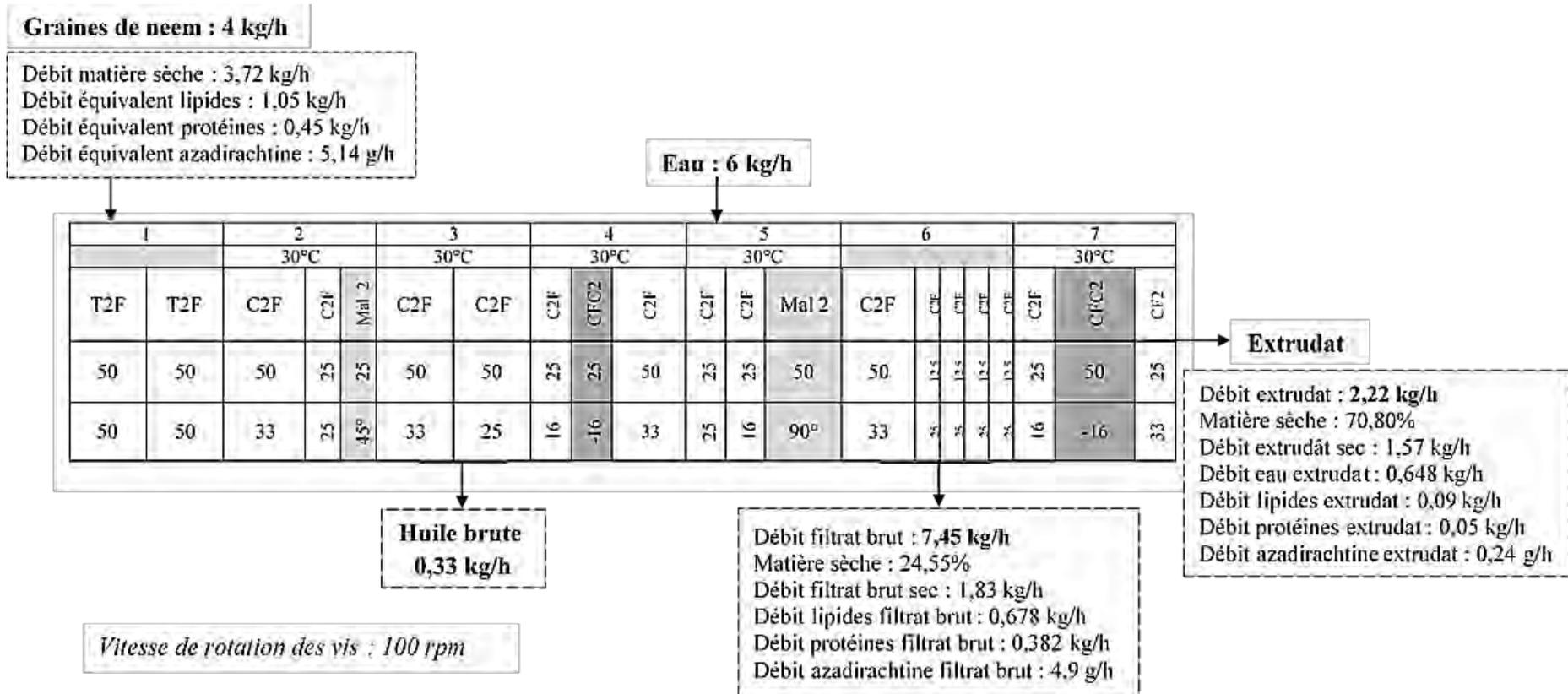


Figure IV-1 : Conditions opératoires du fractionnement des graines de neem en extrudeur bi-vis pour la production d'huile de neem, d'un extrait protéique et lipidique, et d'un raffinat base d'agromatériau

IV.2. La fraction huile de graines de neem

Le rendement en huile brute issue de l'étape de pressage dans les conditions de fractionnement des graines de neem en extrudeur bi-vis est de 8,25 g % g de graine introduite. La centrifugation de cette huile brute (4000 g pendant 10 min) permet de séparer une huile claire avec un rendement de 63%, et un culot gras contenant 95% de matière sèche et 61,5% de lipides. Au bilan, 27% de l'huile des graines sont exprimés lors de l'étape de pressage, avec moins de 1,5% de la matière sèche non lipide de graines entraîné. Et le rendement en huile clarifiée par centrifugation est de 20% par rapport aux lipides contenus dans la graine.

Les caractéristiques de cette huile clarifiée (*Paragraphe II.3.2.2* Tableau II-10) sont les mêmes que celles obtenues précédemment par pressage en extrudeur bi-vis (Faye, 2010). Elle ne contient pratiquement pas d'azadirachtine, et pourra trouver ses applications dans les mêmes domaines que ceux évoqués précédemment (cosmétique et savons, solvant, formulation d'émulsion, énergie, etc.) (*Paragraphe II.3.2*).

IV.3. La fraction filtrat brut de l'extraction aqueuse

Le rendement en matière sèche de graine extraite au filtrat brut de l'étape d'extraction aqueuse après pressage en extrudeur bi-vis est de 49 g % g de matière sèche des graines. La clarification de ce filtrat brut par centrifugation (2000 g pendant 10 min) et filtration (maille de 50 µm) permet de séparer deux extraits de graine de neem sous forme d'une fraction insoluble contenant 30,5 g % g de matière sèche des graines et d'une fraction émulsion lipidique dispersée dans l'eau contenant 18,5 g % g de matière sèche des graines.

IV.3.1. La fraction insoluble de graine de neem

La phase insoluble des graines de neem, obtenu à une matière sèche de 33,7%, contient 81,5% des protéines de la graine, soit près de 93% des protéines extraites. Après déshydratation, par comparaison à une farine d'amande de neem (24% de protéines, 56% de lipides, 20% d'autres constituants et 2,8 g/kg d'azadirachtine), cette fraction insoluble s'apparente à un concentrat protéique (32,4% de protéines), partiellement délipidé (15,3% de lipides) et ne contenant au plus que 0,7 g/kg d'azadirachtine par kg de matière sèche. Remarquons cependant que le traitement thermique de déshydratation de cette phase insoluble à une température supérieure à 80°C devrait aussi favoriser la dégradation de l'azadirachtine (Schiffers *et al.*, 1997) et minimiser sa teneur résiduelle. Bien que cette voie de valorisation nécessite encore des études sur la toxicité de l'azadirachtine, la fraction insoluble de neem pourrait ainsi trouver des

applications dans le domaine des ingrédients pour la formulation en alimentation animale en particulier pour ses apports en protéines, mais aussi pour la protection des farines et tourteaux contre les ravageurs du fait de l'activité insecticide naturelle de l'azadirachtine. Et par analogie avec les travaux réalisés sur les tourteaux et concentrats protéiques de tournesol et de soja, d'autres voies de valorisation pourront être étudiées, en particulier dans le domaine des colles et résines à base de protéines végétales pour la production d'agromatériaux (Nenonene, 2009).

IV.3.2. La phase émulsion de graine de neem

Le filtrat clarifié issu de la séparation de la phase insoluble par centrifugation et filtration du filtrat brut de fractionnement en extrudeur bi-vis est obtenu à une matière sèche de 17% dans l'eau (83% d'eau, soit 54% de l'eau introduite). Il contient 48% des lipides de la graine, soit plus de 74% des lipides extraits après pressage des graines. Ces lipides sont sous forme d'une émulsion dispersée dans l'eau, où ils représentent 72% de la matière sèche extraite, avec très peu de protéines (4 g % g de la matière sèche et 6,4 g % g des protéines de la graine), peu d'autres constituants (23,5% g % g de la matière sèche et 9% des autres constituants de la graine) mais la majeure partie de l'azadirachtine (5,8 g/kg de matière sèche, soit 79,4% de l'azadirachtine de la graine). À la différence du filtrat brut, la décantation à température ambiante du filtrat clarifié n'ayant pas été homogénéisé sous pression est efficace et fait apparaître progressivement la phase émulsion (**Tableau IV-2**).

Au bout de 3 heures, elle représente près du quart (23%) de la masse du filtrat clarifié, contenant un peu moins de la moitié de sa matière sèche (49%). Près de 60% des lipides du filtrat clarifié sont ainsi séparés sous forme d'une émulsion huile dans l'eau (31% de lipides pour 65% d'eau), avec 58% des protéines, 17% des autres constituants et 41% de l'azadirachtine qu'il contenait.

Tableau IV-2 : Comparaison des traitements du filtrat clarifié obtenu par fractionnement des graines en extrudeur bi-vis pour la séparation de l'émulsion

Filtrat clarifié	Composition		Masse de constituant g % g de filtrat clarifié		
Matière sèche	17%		17		
Eau	83%		83		
Lipides	72,3 % MS		12,29		
Protéines	4,2 % MS		0,71		
Autres constituants	23,5 % MS		3,99		
Azadirachtine	5,9 g/kg MS		0,1		
Traitement du filtrat clarifié	Décantation 3 h	Mélange ⁽¹⁾ Décantation 3 h	Homogénéisation ⁽²⁾ Décantation 3 h 24 h		Homogénéisation ⁽²⁾ Centrifugation ⁽³⁾
Taux d'émulsion séparé (g % g filtrat clarifié)	23,34	10,74	47,93	45,3	10,74
Composition de l'émulsion					
Matière sèche (%)	35,28	67,64	25,93	34,48	65,3
Eau (%)	64,72	32,26	74,07	65,52	34,7
Lipides (% MS)	88,43	95,69	78,76	80,82	84,85
Protéines (% MS)	3,21	1	2,08	3,39	4,02
Autres constituants (% MS)	8,36	3,31	18,26	15,79	11,13
Azadirachtine (g/kg MS)	5	2,79	6,42	4,96	6,43
Masse de constituants dans l'émulsion (g % g filtrat clarifié)					
Matière sèche	8,23	7,26	12,43	15,64	11,34
Eau	15,10	3,46	35,5	29,72	6,02
Lipides	7,28	6,93	9,79	12,65	9,62
Protéines	0,264	0,072	0,37	0,53	0,45
Autres constituants	0,69	0,24	2,27	2,47	1,26
Azadirachtine	0,041	0,02	0,080	0,078	0,073
Rendement en constituants dans l'émulsion (g % g constituant filtrat clarifié)					
Matière sèche	48,4	42,7	73,1	92	66,7
Eau	18,2	4,17	42,8	35,8	7,25
Lipides	59,2	56,5	79,6	100	78,3
Protéines	58,6	10,1	52,1	74,6	63,4
Autres constituants	17,3	6	56,9	61,9	31,6
Azadirachtine	41	20	79,8	77,6	73

Conditions opératoires ⁽¹⁾ : Ultraturax 3000 rpm pendant 3 min ; ⁽²⁾ : 2 cycles APV 1000 à 300 bars ; ⁽³⁾ : 9000 g à 6°C pendant 15 min

Le prétraitement de mélange du filtrat clarifié par agitation vigoureuse (ultraturax à 3000 rpm pendant 3 minutes) n'améliore pas le rendement de la décantation de l'émulsion : moins de 11 g % g du filtrat clarifié ; 43 g % g de sa matière sèche et 56 g % g des lipides qu'il contient au bout de 3 heures de décantation. L'émulsion obtenue est beaucoup plus concentrée (67,4% de matière sèche à 95,7% de lipides) mais ne contient au plus que 10% des protéines, 6% des autres constituants et 20% de l'azadirachtine du filtrat clarifié. Ce prétraitement de remélange de l'émulsion native du filtrat clarifié semble donc surtout favoriser la coalescence des gouttelettes lipidiques sous forme d'une émulsion eau dans l'huile (66,7% de lipides pour 32% d'eau) au détriment de leurs interactions avec les autres constituants. L'étude de cette voie de traitement du filtrat clarifié visant à l'optimisation de la séparation de l'émulsion concentrée en lipide devrait permettre d'obtenir de nouveaux extraits du fractionnement des graines de neem en extrudeur bi-vis :

a-) Une émulsion concentrée contenant moins de 5% d'autres constituants qui pourrait trouver ses applications comme ingrédient dans la fabrication de crèmes et savons cosmétiques. La production d'une huile de neem peut se faire par extraction au solvant et/ou par un protocole adapté des essais de séparation triphasique réalisés pour la précipitation des protéines des filtrats (*Partie Expérimentale V.3.5*).

La méthode de séparation triphasique utilisée dans le cas de cette étude est basée sur la rupture de phases par précipitation des protéines. Cette méthode est initialement mise en œuvre pour la purification des protéines. Elle permet de les concentrer en milieux aqueux tout en conservant leur activité biologique (Vaca Medina, 2010). La séparation triphasique consiste à ajouter un solvant organique et un sel dans une suspension aqueuse contenant des protéines pour provoquer leur précipitation. Le solvant le plus utilisé est le tert-butanol du fait de sa faible réactivité. Pour ce qui est des sels, le sulfate d'ammonium est le plus efficace.

Les essais réalisés avec d'autres solvants (méthanol, éthanol, propanol, butanol et acétone) et deux sels (sulfate d'ammonium et chlorure de sodium), à des températures de 20°C, 25°C, 30°C, 35°C et 40°C, pour des ratios filtrat/solvant égaux à 1, 2 et 3 et des quantités de sel de 10, 20 et 30% de la masse de filtrat (liquide et émulsion), montrent que le ratio filtrat/butanol (v/v) avec 30% de chlorure de sodium à 30°C a donné la meilleure séparation des trois phases :

- une phase supérieure, organique, constituée essentiellement du butanol ;
- une phase intermédiaire, visqueuse et opaque, c'est la « phase protéique » ;

- une phase inférieure qui est aqueuse et saturée en sel.

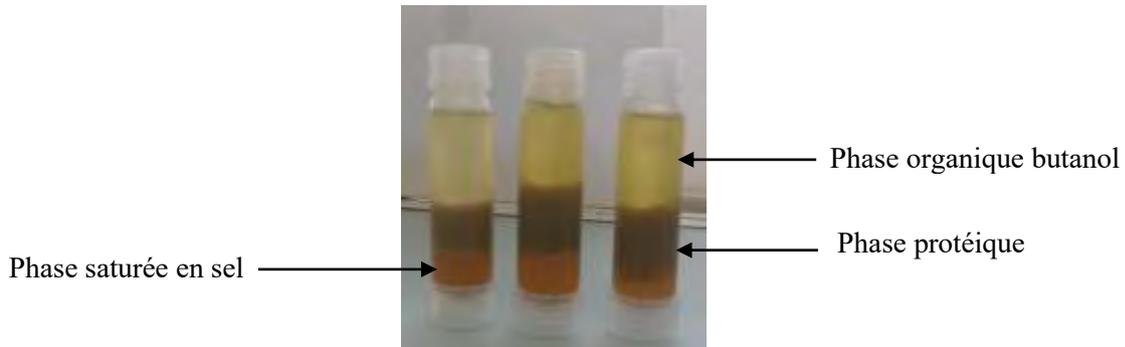


Figure IV-2 : Mise en évidence des trois phases obtenues après précipitation des protéines

Les résultats sur la répartition de l'azadirachtine, de l'huile et des protéines révèlent que :

- La presque totalité des protéines de l'émulsion (92,69%) se retrouvent dans la « phase protéique ». Cette phase contient aussi 78,19% des lipides et 27,75% de l'azadirachtine du filtrat ;
- La phase organique renferme l'essentiel de l'azadirachtine (72,25% de l'azadirachtine du filtrat) et une partie de l'huile (16,72%) ;
- La phase inférieure, saturée en sel est dépourvue d'azadirachtine. Elle ne contient qu'une très faible quantité de protéines (7,31%) et d'huile (5,09%).

Le passage et la concentration de l'huile dans la phase protéique pourraient être attribués à l'affinité qu'ont ces dernières vis-à-vis de l'huile. Une telle affinité qui serait liée à leur caractère plus ou moins lipophile.

La forte présence de l'azadirachtine dans la phase butanol (**Figure IV-3**) peut être attribuée à sa solubilité plus importante dans ce solvant lipophile, comparé à l'eau et à la « phase protéine ».

b-) Un extrait riche en azadirachtine obtenu par concentration de la phase aqueuse. Les essais de lyophilisation directe de filtrats clarifiés issus de l'extraction aqueuse et hydroalcoolique des graines de neem en extrudeur bi-vis (*Partie Expérimentale V.3.4*) ont conduit à des poudres d'azadirachtine. Ce procédé de concentration des filtrats clarifiés est globalement rentable du fait que la quasi-totalité des protéines des filtrats (près de 100%) et l'essentiel de l'azadirachtine (93% et 88,5% respectivement de l'azadirachtine du filtrat

hydro-éthanolique et du filtrat aqueux) se retrouvent dans les poudres lyophilisées. Mais une perte importante est notée au niveau des lipides avec moins de la moitié (47%) et une faible partie (14,6%) des lipides respectivement du filtrat hydro-éthanolique et du filtrat aqueux qui se retrouvent dans les poudres après lyophilisation. Ces extraits sont sous forme de poudre à 10% d'eau dans lesquels l'azadirachtine est stable sur plusieurs mois à la température ambiante (**Figure IV-3**).

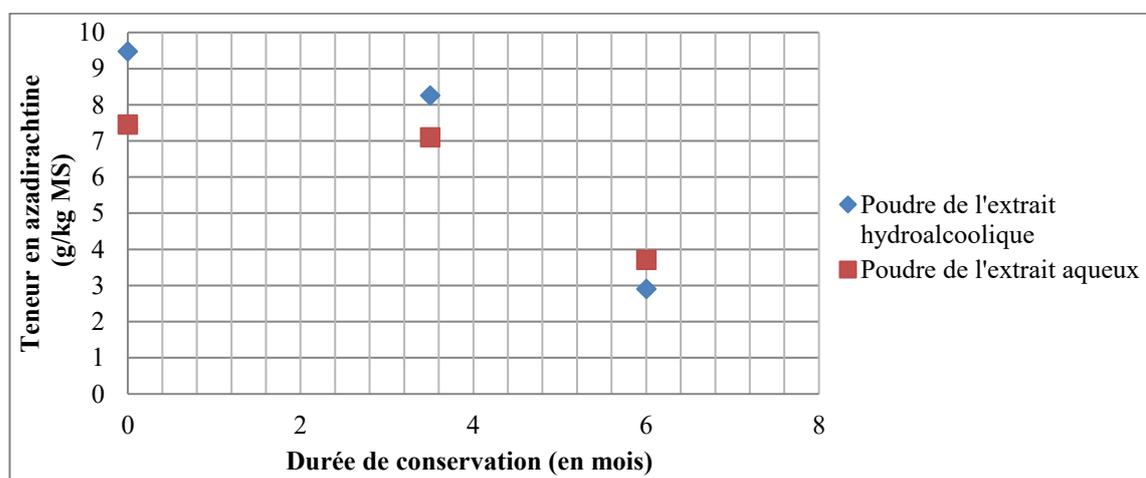


Poudre d'extrait hydroalcoolique
(50% eau/50% éthanol)



Poudre d'extrait aqueux

Humidité (%)	10,2	9,95
Lipides (% MS)	37,4	10,75
Protéines (% MS)	23,3	20,1
Autres constituants (% MS)	39,1	69,15
Azadirachtine (g/kg MS)	9,47	7,45



Conditions opératoires : voir Partie Expérimentale V.3.4

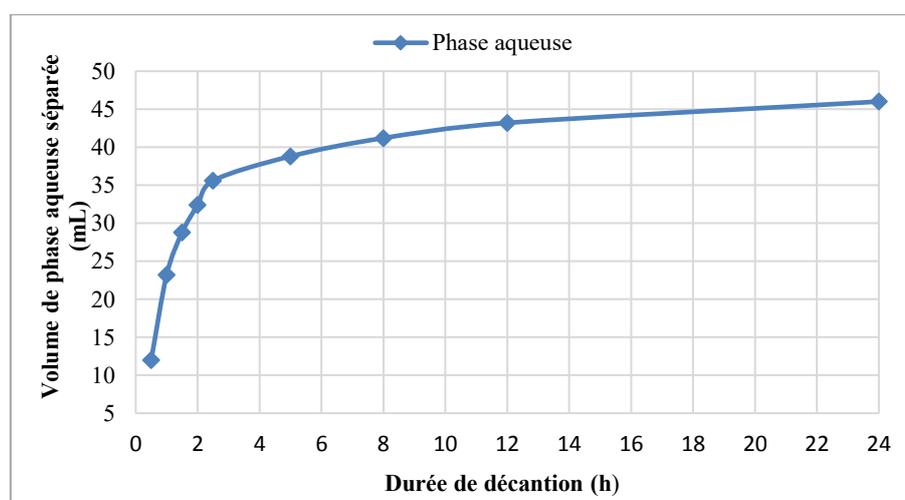
Figure IV-3 : Composition et stabilité des poudres lyophilisées obtenues à partir de filtrats clarifiés d'extraction aqueuse et hydroalcoolique de graines de neem en extrudeur bi-vis

La lyophilisation dans les mêmes conditions de la phase aqueuse séparée après prétraitement à l'ultraturax et trois heures de décantation de l'émulsion lipidique concentrée devrait conduire à une poudre 2,7 fois plus concentrée en azadirachtine que celle obtenue par broyage direct de l'amande (**Tableau IV-3**). Et sous l'hypothèse d'un rendement de séparation de l'émulsion concentrée en lipides quantitatifs, sans entrainement significatif des autres constituants, la teneur en azadirachtine de la poudre délipidée serait plus que doublée. La stabilité de l'azadirachtine sur un tel support devra cependant être étudiée pour permettre leur mise en œuvre comme ingrédient de formulation du bio-pesticide pour le traitement phytosanitaire des cultures (*Paragraphe I.2.3*).

Tableau IV-3 : Composition de la matière sèche de la phase aqueuse séparée de l'émulsion après mélange et décantation (3 heures) du filtrat clarifié obtenu par fractionnement des graines de neem en extrudeur bi-vis

Lipides (% MS)	5,5
Protéines (% MS)	6,5
Autres constituants (% MS)	38,5
Azadirachtine (g/kg MS)	8,2

À l'opposé du traitement de remélange à l'ultraturax, le traitement d'homogénéisation sous pression (2 cycles APV 1000 sous 300 bars) favorise nettement la décantation de l'émulsion (**Figure IV-4**).



Volume total de filtrat clarifié : 100 mL

Figure IV-4 : Cinétique de la décantation en éprouvette du filtrat à température ambiante après homogénéisation sous pression

Au bout de 3 heures de décantation à la température ambiante, l'émulsion séparée, qui représente 48% du filtrat clarifié, est du type huile dans l'eau (20,4% de lipides pour 74% d'eau) et contient 73% de sa matière sèche, 80% des lipides, 52% des protéines, 57% des autres constituants et 80% de l'azadirachtine du filtrat clarifié. Le prétraitement d'homogénéisation du filtrat clarifié favorise la concentration des gouttelettes lipidiques de dimension et distribution de taille plus réduite que dans le filtrat non traité, sans pénaliser lors de leur coalescence l'entraînement des autres constituants susceptibles alors de jouer un rôle tensioactif stabilisant. Et la décantation des lipides se poursuit pour être quantitative au bout de 24 heures, dans une émulsion plus concentrée : 92% de matière sèche extraite, les 3/4 des protéines et les 2/3 des autres constituants avec 78% d'azadirachtine, dans une émulsion huile dans l'eau (28% de lipides pour 65,5 % d'eau), proche de celle obtenue par décantation directe mais avec un rendement en émulsion de près de deux fois plus élevé (respectivement 45 et 23 g % g du filtrat clarifié).

Cette voie de traitement du filtrat permet donc d'obtenir directement un nouvel extrait sous forme d'une émulsion lipidique riche en azadirachtine (1,6 g/kg d'émulsion et 6,4 g/kg de matière sèche). Le couplage d'un effet centrifuge du filtrat clarifié homogénéisé (9000 g pendant 15 min) accélère la séparation d'une émulsion plus concentrée en lipides (55% de lipides pour 35% d'eau) et en azadirachtine (4,2 g/kg d'émulsion). Ces teneurs en azadirachtine dans l'émulsion sont plus de 4 à 10 fois supérieures et jusqu'à 10 fois inférieures à celles mises en œuvre dans les formulations de biopesticides pour le traitement des cultures (Biofil, 2008; Dai, 1999; Kumar *et al.*, 2003). Et bien que la stabilité au stockage à température ambiante de l'émulsion (absence de démixtion apparente au bout de 4 mois de stockage à 4°C) et la faible dégradation de l'azadirachtine dans ces milieux concentrés en lipides et appauvris en eau nécessite une confirmation pour leur commercialisation et leur mise en œuvre finale, elles peuvent être considérées comme des semi-produits à forte valeur ajoutée pour les traitements agricoles à faible impact environnemental. Par ailleurs, la faible teneur en matière sèche des phases aqueuses résiduelles permet d'envisager leur recyclage comme solvant extractant dans le fractionnement aqueux des graines de neem en extrudeur bi-vis (de 60 à 90% d'eau recyclé selon la concentration de l'émulsion).

IV.4. La fraction raffinat solide des graines de neem

L'extrudât obtenu en sortie du fourreau de l'extrudeur bi-vis mis en œuvre pour le pressage et le fractionnement aqueux de la graine de neem constitue le raffinat solide du procédé (**Figure**

IV-5). Il représente 42% de la masse de matière sèche des graines mise en œuvre par cette étude.



Figure IV-5 : Photographie de l'extrudât obtenu par procédé de fractionnement aqueux des graines de neem en extrudeur bi-vis de type Cleextral BC 21

L'analyse de sa composition après séchage à 96,6% de matière sèche (**Tableau IV-4**) confirme bien l'efficacité de l'extraction des lipides, des protéines et de l'azadirachtine par ce procédé de fractionnement. Il contient essentiellement des fibres pariétales de coques et d'amande, peu lignifiées et riches en cellulose (6% de lignine et 62,6% de cellulose par rapport aux fibres), associés à peu de constituants non lipidiques et non protéiques (79% de fibres pour moins de 12% d'autres constituants, 3,7% de matière minérale).

Tableau IV-4 : Composition du raffinat solide obtenu par fractionnement aqueux des graines de neem en extrudeur bi-vis de type Cleextral BC 21

Matière sèche (%)	96,59	
Protéines (% MS)	3,45	
Lipides (% MS)	5,85	
Constituants pariétaux	Cellulose (% MS)	49,41
	Hémicelluloses (% MS)	24,67
	Lignines (% MS)	4,87
	Total (% MS)	78,95
Matière minérale (% MS)	3,70	
Azadirachtine (g/kg MS)	0,09	

Ces fibres sont fortement déstructurées comme le montre la répartition granulométrique des particules (**Figure IV-6**), avec 13,1% de taille inférieure à 250 μm qui pourraient

correspondre essentiellement aux fibres d'amande (moins de 10% des fibres de graines) et 86,9% de taille comprise entre 250 μm et 1,6 mm attribuables aux fibres de coques.

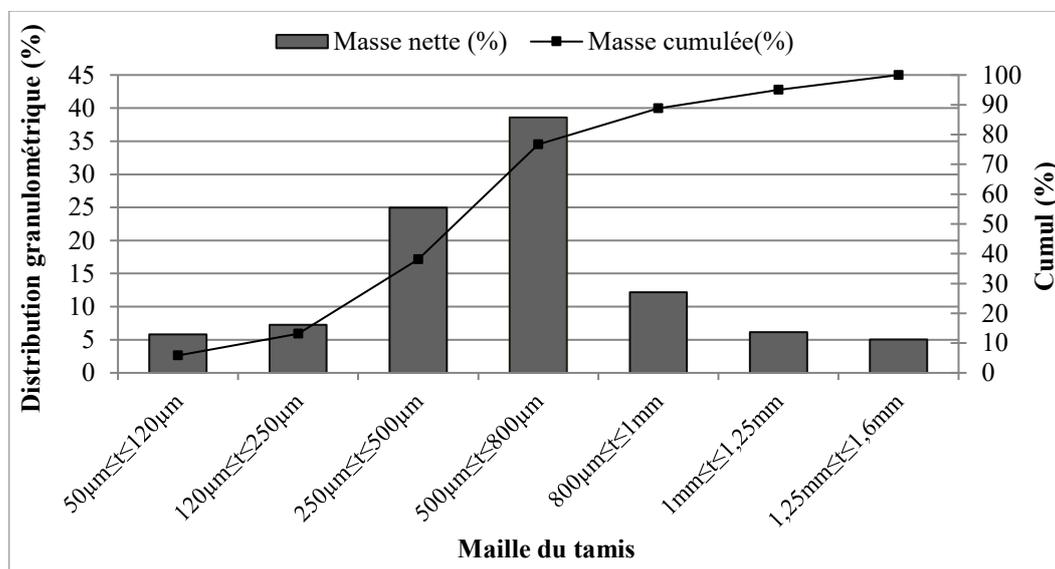


Figure IV-6 : Distribution granulométrique des particules du raffinat solide obtenu par fractionnement aqueux des graines de neem en extrudeur bi-vis de type Clextaral BC 21

Cette structure et la composition chimique du raffinat solide d'extrusion le différencient nettement des tourteaux de pressage des graines de neem visant à l'expression de l'huile, connus pour leur toxicité pour une large gamme d'insectes (Farooq *et al.*, 2008; Khan *et al.*, 1976; Shah *et al.*, 2008). Ces derniers ont été utilisés comme biopesticides contre des attaques parasitaires et comme fertilisant (Nagesh *et al.*, 2003; Tiyagi et Ajaz, 2004). Cependant, la faible teneur résiduelle en azadirachtine du raffinat solide d'extrusion (0,15 g/kg en sortie d'extrusion et 0,09 g/kg après séchage) par comparaison à celle d'un tourteau de pressage des graines en presse mono-vis (1,8 à 2,8 g/kg) (Faye, 2010) risque de pénaliser cette voie de valorisation. Par ailleurs, du fait de nombreuses molécules actives qu'il contient telles que la salanine et l'azadirachtine, mais aussi de son amertume liée à la présence de composés soufrés tels que la nimbine, la nimbidine et le nimbostérol (Paul *et al.*, 1996; Rao, 1987), plusieurs traitements de détoxification et de neutralisation de l'amertume des tourteaux de neem ont été étudiés pour permettre leur utilisation dans l'alimentation animale (Bawa *et al.*, 2007; Gowda *et al.*, 1998; Uko et Kamalu, 2006) ou comme source de protéines (Anandan *et al.*, 1996; Aruwayo et Maigandi, 2013; Musalia *et al.*, 2000; Nagalakshmi, 1993; Odunsi *et al.*, 2009;

Reddy, 1992). Toutefois, la faible teneur en protéines du raffinat d'extrusion pénalisera la valeur ajoutée de cette application et limitera à son apport éventuel en fibres pour l'alimentation animale.

Par contre, la structure fibreuse du raffinat d'extrusion pourrait être mise à profit pour la fabrication d'agromatériaux, comme cela a été le cas pour les tourteaux de tournesol (Evon, 2008; Geneau, 2006; Humbert, 2008) et d'autres graines oléagineuses comme celle de *Jatropha* (Evon *et al.*, 2014).

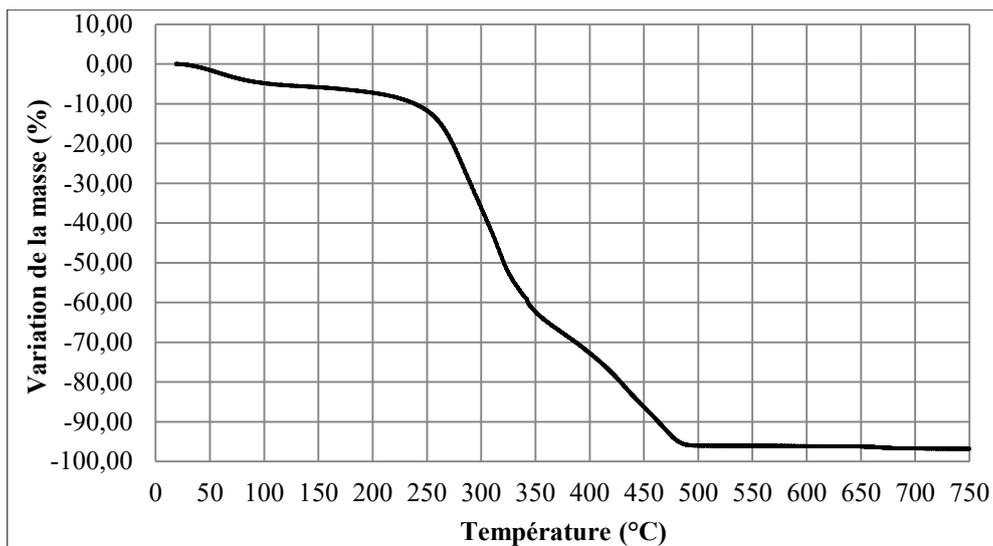
IV.4.1. Caractérisation du raffinat d'extrusion des graines de neem pour la production d'agromatériau

Plusieurs caractérisations des propriétés thermiques, thermomécaniques et comportement vis-à-vis de l'eau permettent d'évaluer l'aptitude des raffinats d'extrusion à la transformation en agromatériau.

IV.4.1.1. Stabilité thermique du raffinat d'extrusion des graines de neem

L'analyse thermogravimétrique (ATG) (*Partie Expérimentale V.5.8*) du raffinat d'extrusion des graines de neem (**Figure IV-7**) montre que :

- Entre 20 et 110°C, la matière subit une perte de masse d'environ 4%. Cette perte de masse, approximativement égale à l'humidité du raffinat, correspond essentiellement à l'évaporation de l'eau et probablement à l'entraînement de composés organiques volatils minoritaires.
- Au-delà de 110°C et jusqu'à 250°C, la diminution de masse observée (7 à 8%) pourrait être attribuée à une dégradation d'autres constituants organiques thermolabiles (autres constituants organiques non lipidiques, non protéiques et non fibreux).
- L'importante perte de masse (environ 85%) observée entre 250°C et 480°C est due à la dégradation des biopolymères. En effet, les températures de dégradation des constituants pariétaux, représentant la majorité des composés du raffinat d'extrusion des graines de neem (près de 79%) sont comprises entre 270°C et 330°C pour les hémicelluloses (Marechal, 2001), entre 320°C et 380°C pour les celluloses et vers 420°C pour les lignines (Geneau, 2006; Hatakeyama et Hatakeyama, 2006; Lalou, 1995; Schaffer, 1973). Ainsi, la première dégradation, entre 250°C et environ 325°C peut être attribuée à celle des hémicelluloses et dans une moindre mesure à celle des lipides et protéines. Entre 325°C et 480°C, la dégradation correspondrait à celle de la cellulose et des lignines.
- Entre 480°C et 750°C, la masse constante résiduelle correspond à celle des minéraux.



Conditions d'analyse : environ 9 mg de tourteau de neem ; Température : 20 à 750°C à 5°C/min

Figure IV-7 : Thermogramme ATG du raffinat solide issu du fractionnement des graines de neem en extrudeur bi-vis de type Clextal BC 21

Ces résultats permettent de bien définir une plage de température à mettre en œuvre pour la transformation en agromatériau lors d'un thermopressage. Un intervalle de température comprise entre 150°C et 250°C permettra de limiter la dégradation des biopolymères.

IV.4.1.2. Analyse enthalpie différentielle du raffinat d'extrusion des graines de neem

L'Analyse Enthalpie Différentielle (AED) (*Partie Expérimentale V.5.5*) du raffinat d'extrusion des graines de neem à une teneur en eau de 5,8% met en évidence un pic endothermique dont le maximum se situe au voisinage de 185°C (**Figure IV-8**). Comme dans le cas des tourteaux de tournesol (Geneau, 2006; Humbert, 2008; Rouilly *et al.*, 2001, 2003) et de *Jatropha* (Evon *et al.*, 2014), le pic peut être attribué à la dénaturation des protéines résiduelles du raffinat d'extrusion des graines de neem.

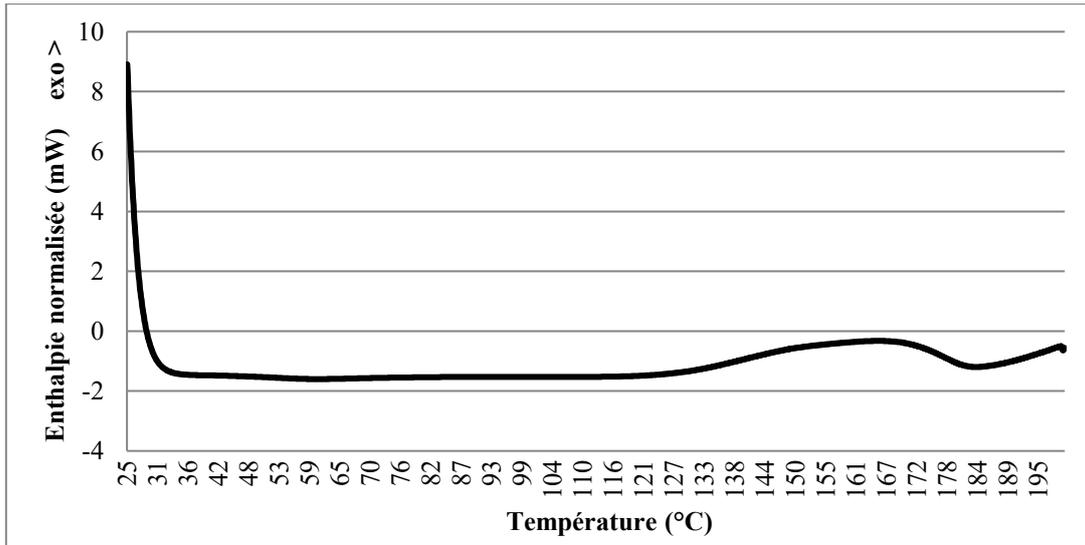


Figure IV-8 : Thermogramme AED du raffinat solide d'extrusion issu du fractionnement des graines de neem en extrudeur bi-vis de type Cleextral BC 21

IV.4.1.3. Comportement viscoélastique du raffinat d'extrusion des graines de neem

L'Analyse Mécanique Dynamique (DMA) aux fréquences 1 Hz, 5 Hz et 10 Hz du raffinat d'extrusion des graines de neem (*Partie Expérimentale V.5.6*) permet d'étudier son comportement viscoélastique (**Figure IV-9**).

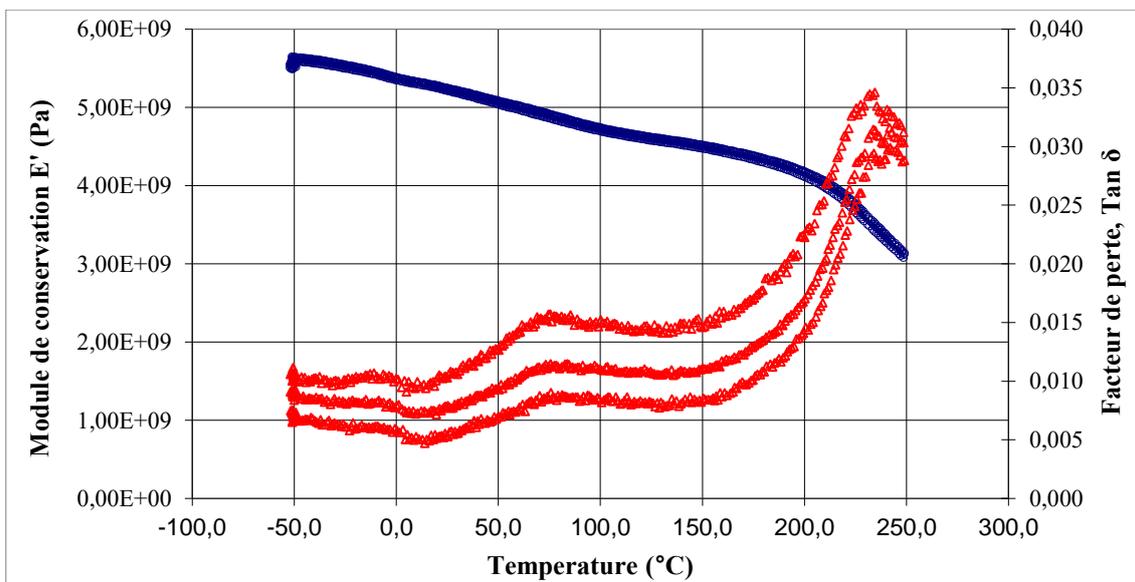


Figure IV-9 : Spectres DMA du raffinat solide issu du fractionnement des graines de neem en extrudeur bi-vis de type Cleextral BC 21 : évolution du module de conservation E' et du facteur de perte $\text{Tan } \delta$, en fonction de la température pour trois fréquences (1 Hz, 5 Hz et 10 Hz)

Le module de conservation (E'), qui traduit l'énergie conservée et restituée par le matériau grâce à sa déformation réversible (élasticité du matériau), diminue quasi linéairement avec l'augmentation de la température entre -50°C et 200°C et chute rapidement au-delà de 200°C . Ce module de conservation est plus élevé que ceux obtenus pour le tourteau de tournesol (Geneau, 2006) et les tourteaux extrudés de tournesol (Humbert, 2008). Cette plus forte rigidité du raffinat de neem par rapport à celle des tournesols peut s'expliquer par sa teneur plus élevée en constituants pariétaux, en particuliers en cellulose (49,41%) qui le prédispose à fournir des matériaux plus rigides.

Le facteur de perte ($\tan \delta$), qui permet d'évaluer la perte d'énergie mesurée aux trois fréquences, présente des allures quasi superposables. Il présente deux maxima, l'un moins marqué vers 75°C et l'autre plus marqué au voisinage de 230°C . Ces maxima traduisent pour le matériau, le passage d'un état vitreux (solide) à un état caoutchouteux (liquide), qui est la zone de transition vitreuse. Si l'interprétation de la première transition ne semble pas évidente, celle se traduisant par le maximum du facteur de perte vers 230°C pourrait être attribué à la transition vitreuse des biopolymères du raffinat d'extrusion des graines de neem, particulièrement des fibres ou à leur dégradation. Constatons qu'au voisinage de cette température apparaît une inflexion et une accélération de la diminution du module de conservation (E'). La température de transition vitreuse (T_g) de la cellulose serait de 200°C (Geneau, 2006), celle des hémicelluloses se situant entre 150 et 200°C (Marechal, 2001) et celle des lignines vers 220°C (Geneau, 2006). Ces résultats fourniraient donc l'hypothèse d'une transition vitreuse des biopolymères pariétaux modifiant les caractéristiques viscoélastiques du raffinat d'extrusion des graines de neem au voisinage de 230°C .

IV.4.1.4. Comportement du raffinat d'extrusion des graines de neem vis-à-vis de l'eau

L'isotherme d'adsorption d'eau du raffinat d'extrusion des graines de neem en fonction de l'humidité relative (HR) de l'atmosphère à 25°C (**Figure IV-10**), obtenu par analyse en Dynamic Vapor Sorption (DVS) (*Partie Expérimentale V.5.7*) montre :

- L'existence d'une inflexion faiblement marquée dans la zone des humidités relatives faibles (entre 0 et 15%). Elle correspondrait, comme dans le cas des tourteaux de tournesol (Geneau, 2006) à la formation d'une monocouche d'eau sur les groupements polaires facilement accessibles du raffinat et de ses biopolymères, notamment des groupements polysaccharides, hémicellulosiques et cellulosiques.

- Entre 15% et 70% d'humidité relative, la quantité d'eau adsorbée par le tourteau augmente progressivement et quasi linéairement.
- La seconde inflexion de l'isotherme apparaît entre les humidités relatives de 70% et de 80%. Elle correspond à la fin de la formation de la monocouche d'hydratation des polymères.
- Pour des humidités relatives élevées, supérieures à 80%, l'adsorption d'eau par le raffinat augmente plus rapidement. Ce comportement du raffinat d'extrusion des graines de neem vis-à-vis de l'eau est comparable à celui des tourteaux de graines oléagineuses comme le tournesol (Geneau, 2006) et le *Jatropha* (Evon *et al.*, 2014). Le raffinat d'extrusion des graines de neem pourra ainsi être stocké jusqu'à une humidité relative de 75% sans risque significative de dégradation par les microorganismes (teneur en eau inférieure à 12%). Remarquons cependant qu'au-delà de 75% d'HR, l'adsorption d'eau restera inférieure (<20%) à celle observée pour les tourteaux riches en protéines (>30% à 90% d'HR pour les tourteaux de tournesol). Ce qui peut être attribué à leur teneur élevée en fibres.

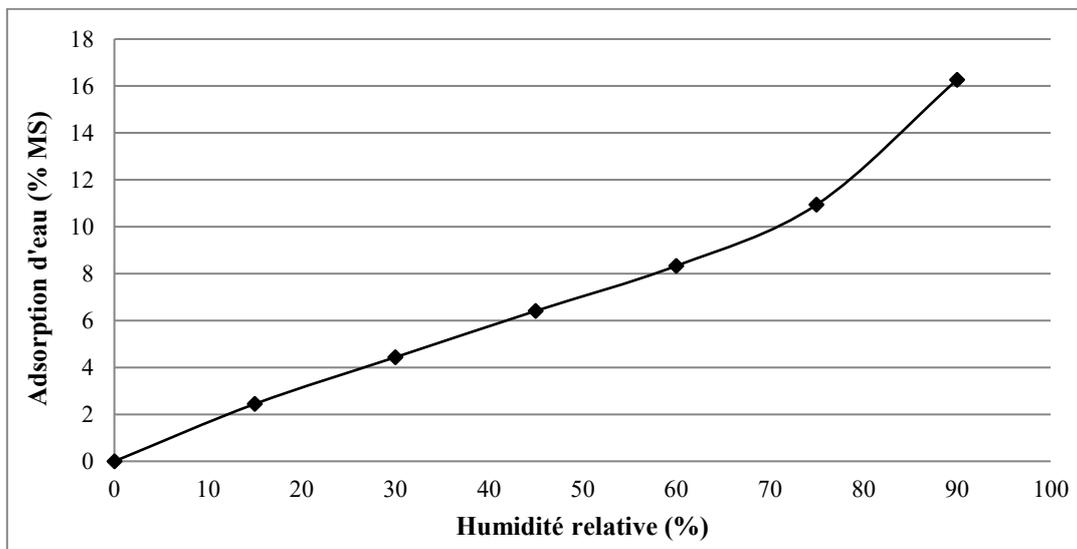


Figure IV-10 : Isotherme d'adsorption du raffinat issu du fractionnement des graines de neem en extrudeur bi-vis de type Clextral BC 21

IV.4.2. Etude de la mise en forme du raffinat d'extrusion des graines de neem par thermopressage

Le formage par thermopressage des matériaux fibreux dans une presse à plaque chauffante (*Partie Expérimentale V-4*, Photographie Figure V-4) sous forme de plaque de faible épaisseur est une méthode qui permet d'évaluer leur capacité à former des agromatériaux cohérents. Elle a été étudiée par de nombreux chercheurs pour des matières lignocellulosiques variées (Evon, 2008; Geneau, 2006; Humbert, 2008; Jallabert, 2014; Orliac, 2002; Pintiaux, 2015; Rigal, 2015; Rouilly, 2002; Silvestre *et al.*, 1999).

Les essais de thermopressage des raffinats d'extrusion des graines de neem sont réalisés dans un moule carré (5 cm × 5 cm) avec une presse hydraulique à plateaux chauffants de type MAPA 50 (*Partie Expérimentale V-4*). Le moule est garni à la température fixée pour le thermopressage par 10 g de raffinat d'extrusion de graines de neem, et la montée en pression s'effectue à la vitesse de 10 bars/seconde. Après maintien de la pression sur une donnée choisie, le moule est ouvert rapidement et la plaque formée est démoulée (**Figure IV-11**), puis découpée en éprouvette de dimensions 5 cm × 1 cm après refroidissement. Les caractéristiques dimensionnelles et mécaniques des plaques sont déterminées après stabilisation en enceinte climatique à 60% d'humidité relative et 25°C pendant au moins une semaine.

La densité est déterminée par mesure des trois dimensions et par pesée (*Partie Expérimentale V.5.1*). Le module d'élasticité et la contrainte à rupture en flexion sont déterminés à l'aide d'un banc d'essai JFC modèle H5KTPiloté par le logiciel Q.MAT 4.53 (*Partie Expérimentale V.5.4*).



Figure IV-11 : Photos de plaques obtenues par thermopressage des raffinats du fractionnement des graines de neem en extrudeur bi-vis

IV.4.2.1. Influence des conditions de thermopressage sur les caractéristiques dimensionnelles et mécaniques des matériaux

L'influence de la température et de la pression du thermopressage pour une durée de maintien de 2 minutes sont étudiées pour une gamme de température (180-200°C) dans laquelle la dégradation des biopolymères reste très limitée (**Tableau IV-5**).

Tableau IV-5 : Domaine expérimental pour l'étude de l'influence de la température et de la pression de thermopressage des raffinats d'extrusion des graines de neem

Facteur	Unité	Centre du domaine (U_i^0)	Pas de variation (ΔU_i)	Domaine
Température	°C	190	10	180-200
Pression	Kg/cm ²	180	138,57	60-300

Les conditions opératoires et les résultats expérimentaux obtenus par la réalisation d'un plan d'expériences construit à partir d'une matrice de Doehlert sont rapportés dans le **Tableau IV-6**.

Tableau IV-6 : Conditions opératoires et résultats expérimentaux du plan d'expériences de Doehlert pour l'étude de la température et de la pression de thermopressage des raffinats d'extrusion des graines de neem

N° de l'essai	X ₁	Température (°C)	X ₂	Pression (kg/cm ²)	Module d'élasticité en flexion (MPa)	Contrainte en flexion (MPa)	Densité
1	0	190	0	180	1696	0,51	1,264
2	1	200	0	180	1689	0,55	1,250
3	0,5	195	0,866	300	2005,33	0,57	1,271
4	-0,5	185	0,866	300	1944,66	0,52	1,276
5	-1	180	0	180	1771	0,53	1,229
6	-0,5	185	0,866	60	1420	0,51	1,174
7	0,5	195	-0,866	60	1590	0,59	1,229
8	0	190	0	180	1648	0,50	1,265

Dans le domaine expérimental étudié, les variations de la contrainte à rupture, comprise entre 0,5 et 0,6 MPa, restent faibles, à la différence de celles de la densité (1,17 à 1,27) et du module d'élasticité (1420 à 2005 MPa). Le calcul des coefficients d'un modèle polynomial du second degré reliant les variables codées à ces deux dernières réponses (**Tableau IV-7**) montre que plusieurs d'entre eux sont significatifs au regard de leur écart-type calculé :

$$ME = (1672 \pm 66,041) + (11,112 \pm 53,922) X_1 + (271,422 \pm 53,936) X_2 - (63,138 \pm 107,873) X_1 X_2 + (58 \pm 93,396) X_{12} + (71,367 \pm 93,445) X_{22}$$

$$d = 1,2645 \pm 5 \cdot 10^{-4} + (0,0153 \pm 4 \cdot 10^{-4}) X_1 + (0,0416 \pm 4 \cdot 10^{-4}) X_2 - (0,0347 \pm 8 \cdot 10^{-4}) X_1 X_2 - (0,0250 \pm 7 \cdot 10^{-4}) X_{12} - (0,0277 \pm 7 \cdot 10^{-4}) X_{22}$$

Tableau IV-7 : Analyse statistique des coefficients de l'équation de modélisation des modules d'élasticité (ME) et des densités (d) des matériaux thermopressés

Coefficient	Module d'élasticité (ME)			Densité (d)		
	Valeur (MPa)	Ecart-type (MPa)	Coefficient significatif	Valeur	Ecart-type	Coefficient significatif
a ₀	1672	66,041	Oui	1,2645	0,0005	Oui
a ₁	11,112	53,922	Non	0,0153	0,0004	Oui
a ₂	271,422	53,936	Oui	0,0416	0,0004	Oui
a ₁₂	- 63,138	107,873	Non	- 0,0347	0,0008	Oui
a ₁₁	58	93,396	Non	- 0,025	0,0007	Oui
a ₂₂	71,367	93,445	Non	- 0,0277	0,0007	Oui

La comparaison des valeurs expérimentales de module d'élasticité et densité avec leurs valeurs correspondantes calculées (**Tableau IV-9**) montre que les modèles représentent de façon satisfaisante l'ensemble des résultats. Les écarts maximums sont de $\pm 52,112$ MPa pour les modules d'élasticité (ME) et $\pm 0,0048$ pour les densités (d), et les coefficients de corrélation (R^2) sont de 0,93 pour le module élastique et de 0,98 pour la densité.

Tableau IV-9 : Valeurs expérimentales et valeurs calculées à partir du modèle polynomial pour les modules d'élasticité en flexion (ME) et les densités (d) des matériaux thermopressés

N° de l'essai	Module d'élasticité (ME)			Densité (d)		
	Expérience (MPa)	Modèle (MPa)	Δ	Expérience	Modèle	Δ
1	1696	1672	24	1,264	1,2645	-0,0005
2	1689	1741,112	-52,112	1,25	1,2548	-0,0048
3	2005,33	1953,218	52,112	1,271	1,2662	0,0048
4	1944,66	1996,772	-52,112	1,276	1,2808	-0,0048
5	1771	1718,888	52,112	1,229	1,2242	0,0048
6	1420	1472,112	-52,112	1,174	1,1788	-0,0048
7	1590	1537,888	52,112	1,229	1,2242	0,0048
8	1648	1672	-24	1,265	1,2645	0,0005

L'analyse des courbes d'isoréponses tracées en fonction de la température et de la pression de thermopressage à partir de ces équations montre que :

- Entre 180 et 190°C, l'augmentation de la pression de 60 à 300 kg/cm² densifie le matériau (**Figure IV-12**). L'effet de l'élévation de la température, en interaction avec celui de la pression, devient moins sensible au-delà de 200 kg/cm².
- Le module d'élasticité est surtout sensible à la pression du thermopressage (**Figure IV-13**). Il augmente du tiers de sa valeur (1500 à 2000 MPa) pour une pression croissante de 50 à 300 kg/cm².

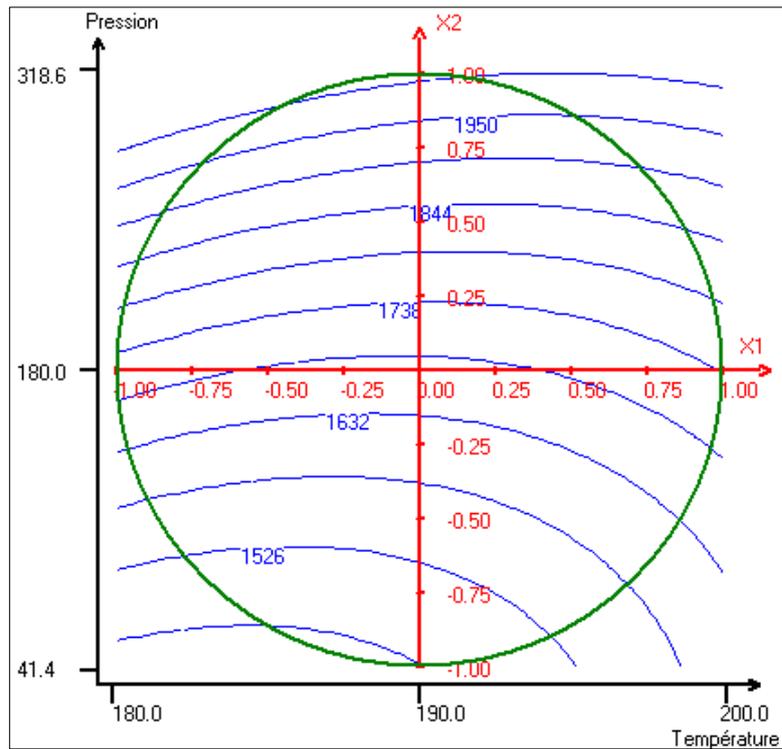


Figure VI-12 : Courbes d'isoréponses du module d'élasticité en flexion du matériau obtenu par thermopressage du raffinat d'extrusion des graines de neem en fonction de la pression et de la température pour un temps de pressage de 2 minutes

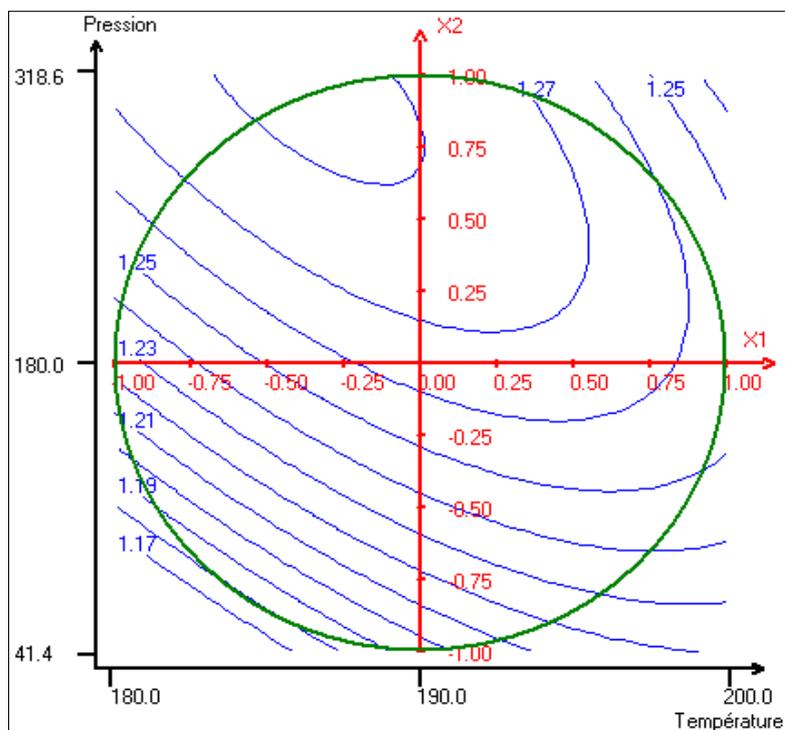


Figure VI-13 : Courbes d'isoréponses de la densité du matériau obtenu par thermopressage du raffinat d'extrusion des graines de neem en fonction de la pression et de la température pour un temps de pressage de 2 minutes

Ces orientations ont été validées expérimentalement par la réalisation d'une nouvelle série d'éprouvettes (**Figure IV-14**). Les effets des deux facteurs sont bien en interaction positive, mais à 200°C, c'est l'augmentation de la pression (300 kg/cm²) qui permet d'atteindre la densité (1,28) et le module d'élasticité (2040 MPa) les plus élevées pour une durée de 2 minutes. Remarquons que l'augmentation de cette dernière permet aussi d'augmenter la densité et le module d'élasticité : à 200°C et pour 200 kg/cm², ces deux réponses augmentent de 4% et 31% respectivement (**Figure IV-15**). Même si le module augmente bien avec la densification du matériau obtenue pour des durées de thermopressage croissantes, la corrélation n'est pas établie au regard de l'ensemble des résultats. Et la contrainte à rupture en flexion varie peu autour de 0,5 MPa.

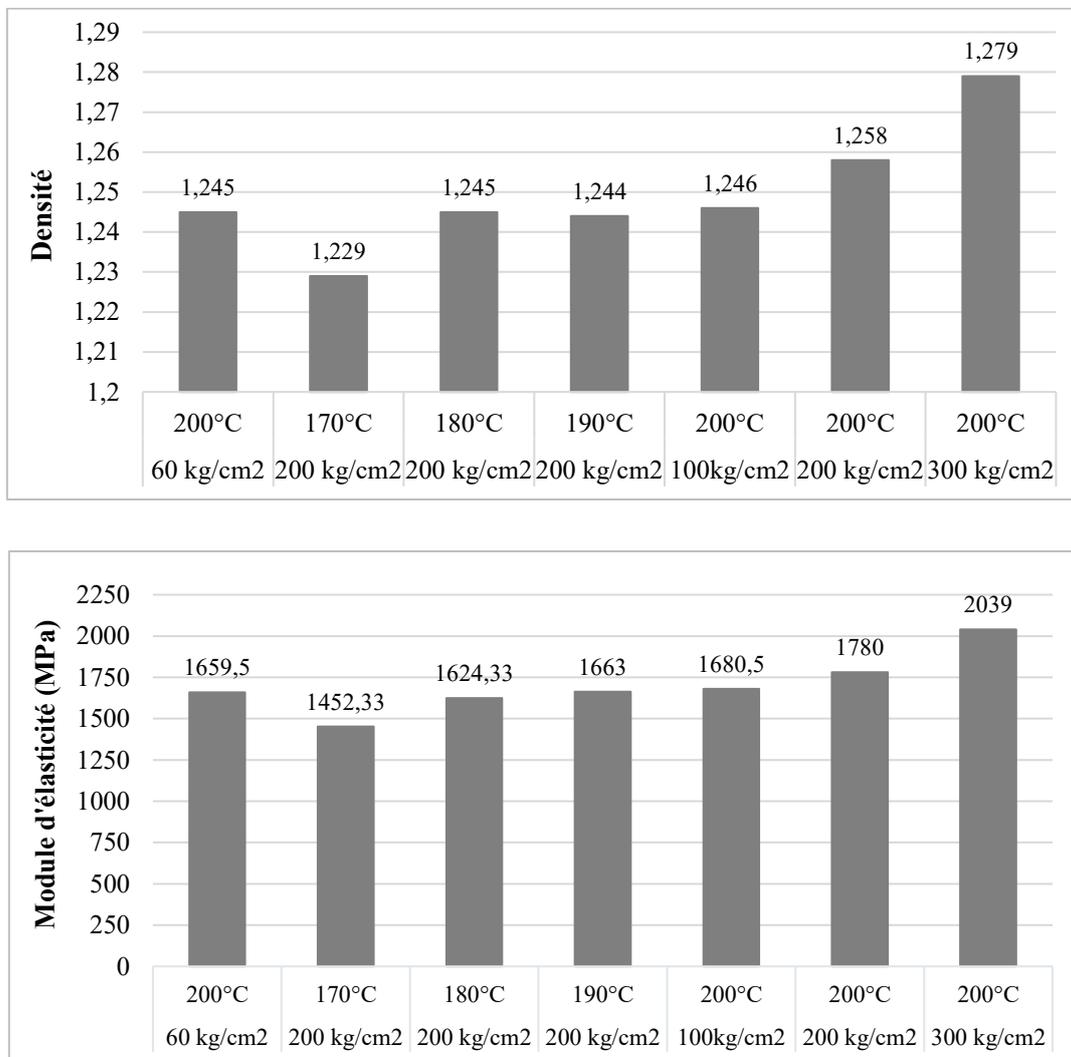


Figure IV14- : Evolution de la densité et du module d'élasticité en flexion des éprouvettes du raffinat d'extrusion des graines de neem en fonction du couple température-pression de thermopressage

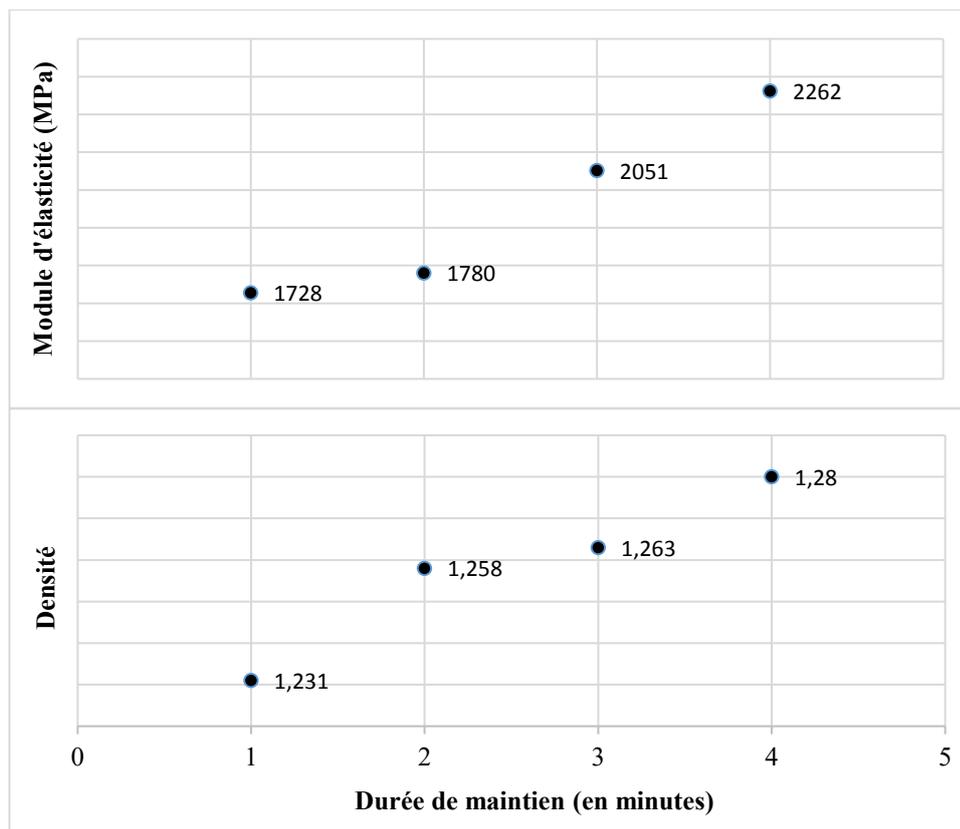
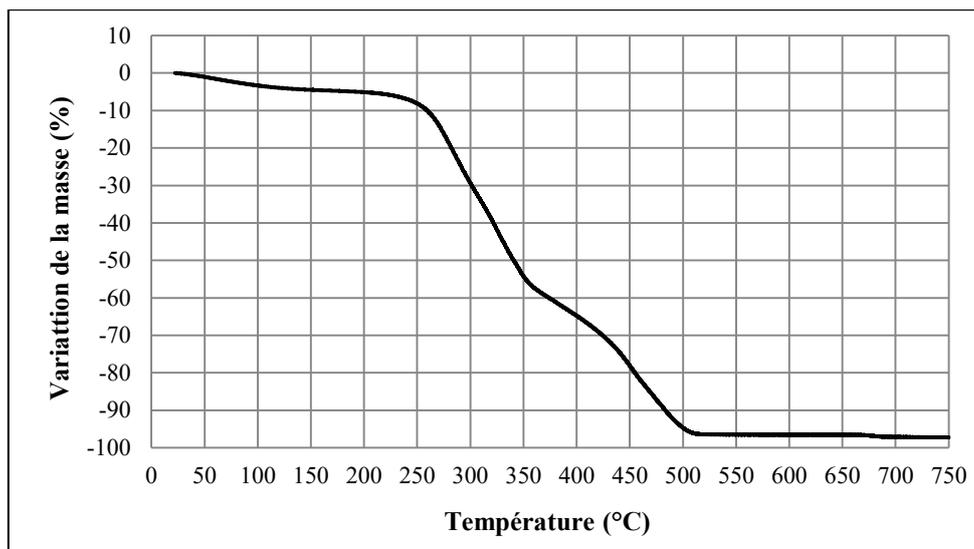


Figure IV-15 : Evolution de la densité et du module d'élasticité en flexion des éprouvettes du raffinat d'extrusion des graines de neem en fonction de la durée de maintien du thermopressage pour 200°C et 200 kg/cm²

Ces résultats de la caractérisation mécanique montrent que dans le domaine expérimental de thermopressage exploré, les matériaux obtenus à partir des raffinats d'extrusion des graines de neem sont relativement rigides (modules d'élasticité comprise entre 1500 et 2300 MPa) et fragiles (résistance à la rupture voisine de 0,5 MPa). À titre de comparaison, les matériaux obtenus à partir d'agrofibrés issus du défibrage thermomécanique en extrudeur bi-vis de biomasses herbacées (granulométrie ≤ 1 mm), et thermopressées dans des conditions voisines (190°C, 180 kg/cm²), sont beaucoup moins rigides (modules d'élasticité de l'ordre de 300 à 1000 MPa) mais plus résistants (contrainte à rupture de 6 à 8 MPa), pour des densités plus faibles (1 à 1,1) (Rigal, 2015).

L'analyse thermogravimétrique de l'éprouvette présentant la densité et module d'élasticité le plus élevé (200°C, 200 kg/cm², 4 min) conduit à un thermogramme (**Figure IV-16**) quasiment identique à celui obtenu pour le raffinat d'extrusion (Figure IV-7). Ce qui confirme que lors du thermopressage entre 160 et 200°C, les biopolymères des fibres du raffinat ne sont pas dégradés.



Conditions d'analyse : environ 10 mg de poudre d'éprouvette ; Température : 20 à 750°C à 5°C/min

Figure IV-16 : Thermogramme ATG de l'éprouvette de raffinat d'extrusion des graines de neem thermopressé à 200°C sous 200 kg/cm² pendant 4 minutes

Par ailleurs, l'analyse du comportement viscoélastique par analyse mécanique dynamique de ce matériau (**Figure IV-17**) confirme l'existence de deux transitions correspondant à un maximum des facteurs de perte $\tan \delta$, associés à un changement de pente de l'évolution du module de conservation. La première, autour de 110°C, pourrait être attribuée aux constituants non fibreux susceptibles de former des joints de colle entre les fibres lors du thermopressage, et qui assureraient la cohésion de l'assemblage densifié lors de son refroidissement et sa détente. Dans l'éprouvette ainsi fournie, le ramollissement de ces joints de colle par transition de ses constituants, qui semble débiter à partir de 50°C comme dans le raffinat d'extrusion natif, se traduirait par la chute du module de conservation, qui se stabilise à une valeur de $5 \cdot 10^8$ Pa à 110°C et reste voisin de cette valeur jusqu'à 160-170°C. Au-delà de ces températures, le module de conservation chute à nouveau et un maximum du facteur de perte apparaît à 230°C.

Comme dans le cas du raffinat d'extrusion natif, où cette transition apparaît à la même température, elle pourrait être attribuée aux biopolymères des fibres dont le ramollissement contribuerait à la chute du module de conservation du matériau. Lors du thermopressage à une température comprise entre 170 et 200°C, les deux phénomènes de transition des constituants du raffinat contribueront à la densification du matériau, au-delà du simple phénomène de réarrangement des empilements de particules, de leur déformation irréversible et de l'effondrement des structures conduisant à la diminution de la porosité. À 170°C, sous 200

kg/cm², la densité du matériau obtenu au bout de 2 minutes de maintien est de 1,23. À 200°C, sous la même contrainte de pression, la densité atteint 1,245 au bout de 2 minutes de maintien et 1,28 au bout de 4 minutes. Cependant, bien qu'un phénomène d'autoliasion entre les fibres lors de la transition attribuable à leurs biopolymères constitutifs ne puisse être écartée, sa contribution à la cohésion du matériau traduite par sa résistance à rupture en flexion semble insuffisante pour l'améliorer significativement dans cette gamme de température. Cette résistance à rupture serait essentiellement due aux joints de colle formée entre les fibres formées lors de la transition des autres constituants non fibreux, et sa faible valeur liée à leur faible proportion dans le raffinat d'extrusion des graines de neem, en particulier de protéines (<3,5%). Par comparaison, les résistances à rupture en flexion des matériaux obtenus à partir des tourteaux de graines de tournesol thermopressés dans des conditions voisines, et qui contiennent encore 30% de protéines, sont nettement plus élevés (10 à 20 MPa) (Geneau, 2006).

Ces matériaux obtenus par thermopressage du raffinat d'extrusion des graines de neem sont donc des matériaux denses, relativement peu résistants, mais très rigides (module d'élasticité en flexion élevé). Cette dernière caractéristique, qui peut être attribuée à la fraction fibreuse, pourrait avantageusement être exploitée pour la fabrication de couches de protection ou de finition à la surface d'autres agromatériaux, d'autant plus que ce matériau de revêtement est peu sensible à l'eau.

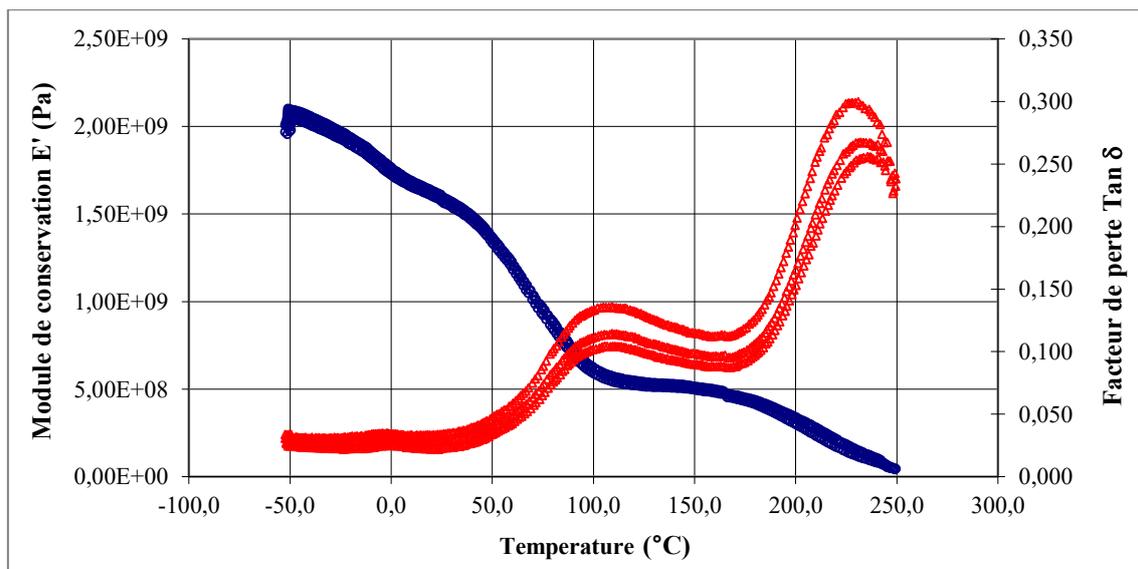


Figure IV-17 : Spectres DMA obtenus pour l'éprouvette de raffinat d'extrusion des graines de neem thermopressé à 200°C sous 200 kg/cm² pendant 4 minutes

IV.4.2.2. Comportement des matériaux thermopressés à partir du raffinat d'extrusion des graines de neem

Qu'il s'agisse de composites associant une matrice thermoplastique à une charge ou un renfort fibreux, ou une matrice fibreuse liée par une résine thermodurcissable, la sensibilité à l'eau de ce type de matériau lorsque les fibres sont d'origine végétale est bien connue (Evon, 2008; Geneau, 2006; Humbert, 2008; Stanojlovic-Davidovic, 2006; Umurigirwa-Vasseur, 2014). Dans notre cas, elle se traduit par une décohésion des plaques thermopressées lorsqu'elles sont immergées dans l'eau. Mais les conditions du thermopressage influent nettement sur la tenue du matériau dans ces conditions extrêmes de contact à l'eau : plus le matériau est dense et présente un module d'élasticité élevé, meilleure est sa tenue dans l'eau (**Tableau IV-10**). La comparaison des isothermes d'adsorption d'eau atmosphérique humide (**Partie Expérimentale V.5.7**) du matériau thermopressé et du raffinat d'extrusion (**Figure IV-18**) permet de mieux en apprécier la sensibilité à l'eau.

Tableau IV-10 : Evolution de la tenue en immersion dans l'eau des éprouvettes thermopressées de raffinat d'extrusion des graines de neem en fonction de la durée de thermopressage à 200°C et 200 kg/cm²

Durée de thermopressage (minutes)	1	2	3	4
Densité	1,231	1,246	1,263	1,28
Module d'élasticité (MPa)	1728	1780	2051	2262
Tenue du matériau en immersion	-	+	++	+++

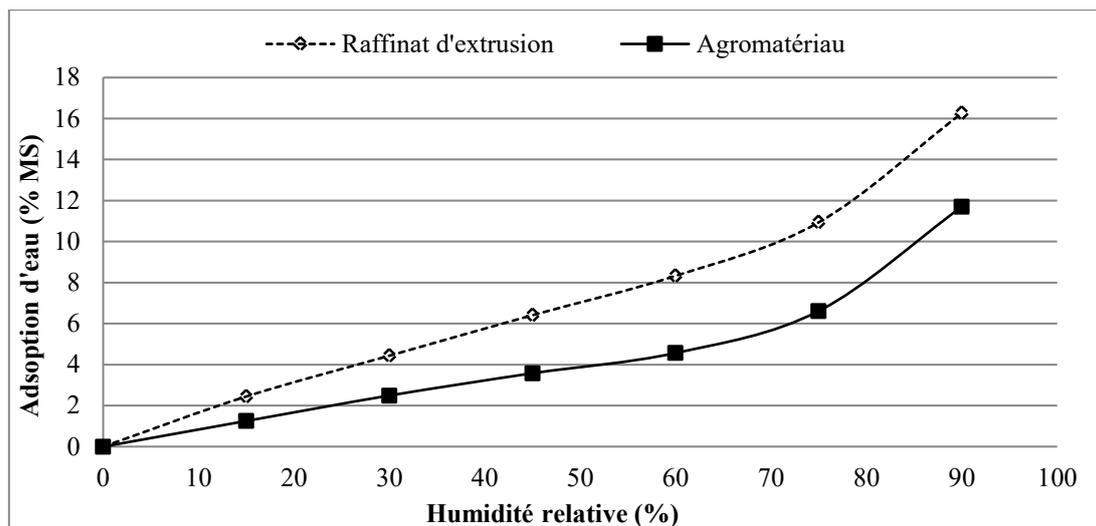


Figure IV-18 : Comparaison des isothermes d'adsorption d'eau en atmosphère humide du raffinat d'extrusion des graines de neem et de l'éprouvette thermopressée à 200°C sous 200 kg/cm² pendant 4 min

IV.4.2.2.1. Modélisation des isothermes d'adsorption d'eau du raffinat d'extrusion des graines de neem et de l'agromatériau

IV.4.2.2.1.a. Choix des modèles mathématiques pour la modélisation des isothermes d'adsorption

Les modèles mathématiques proposés pour l'ajustement et la modélisation des isothermes d'adsorption d'eau des adsorbants (raffinat d'extrusion et agromatériau) (**Tableau IV-11**) sont bien décrits dans la littérature. Ceux-ci peuvent être classés en fonction du nombre de paramètres utilisés ou de leur construction sur la base des hypothèses théoriques ou empiriques des phénomènes d'adsorption. Deux modèles théoriques sont choisis : le modèle de GAB, recommandé dans le cas des isothermes d'adsorption d'eau sur les biopolymères (McKenna, 1984) et le modèle de BET, pour la détermination de la monocouche d'adsorption d'eau dans les domaines d'activité de l'eau inférieur à 0,4. Les quatre autres modèles (Peleg, Oswin, Hasley et Henderson) sélectionnés sont basés sur des hypothèses empiriques. À l'exception du modèle de BET, le choix de l'étude des cinq autres modèles correspond au domaine d'activité de l'eau compatible avec celui des isothermes d'adsorption expérimentales obtenues pour les deux adsorbants (entre 0 et 90% d'HR).

Tableau IV-11 : Equations des modèles mathématiques d'adsorption (Aguirre-Loredo *et al.*, 2016; Kakou *et al.*, 2015; Peleg, 1993; Ribeyre, 2015)

Modèles	Equations	Domaine
BET (1938)	$X_{eq} = \frac{X_0 C a_w}{[(1 - a_w)(1 + (C - 1)a_w)]}$	$0,05 < a_w < 0,4$
GAB (1966)	$X_{eq} = \frac{X_0 K C a_w}{(1 - K a_w)(1 - K a_w + K C a_w)}$	$a_w < 0,9$
Peleg (1993)	$X_{eq} = A a_w^B + C a_w^D$	$a_w < 0,9$
Oswin (1946)	$X_{eq} = A \left(\frac{a_w}{1 - a_w} \right)^B$	$0,05 < a_w < 0,95$
Kakou <i>et al.</i> (2015)	$X_{eq} = X_0 \left[\frac{-A}{RT \ln(a_w)} \right]^{1/B}$	$0,05 < a_w < 0,80$
Henderson (1952)	$X_{eq} = \left[-\frac{\ln(1 - a_w)}{A} \right]^{1/B}$	$0,05 < a_w < 0,90$

BET : Brunauer, Emmett et Teller

GAB : Guggenheim, Anderson et De Boer

IV.4.2.2.1.b. Ajustement des modèles aux données expérimentales des isothermes d'adsorption

La modélisation des isothermes d'adsorption nécessite les méthodes statistiques d'analyse de régression et de corrélation. L'analyse de la régression est réalisée à l'aide du logiciel Excel, en se servant de l'algorithme GRG non linéaire du Solveur. La détermination des paramètres X_0 , A , B , C , D et K des différents modèles est effectuée par identification aux courbes expérimentales d'adsorption, en minimisant la somme des Ecarts Quadratiques Moyennes (EQM) (Kakou *et al.*, 2015).

$$EQM = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (X_{eqi,exp} - X_{eqi,pre})^2 \quad (\text{Kakou } et al., 2015)$$

$X_{eqi,exp}$: $i^{\text{ème}}$ teneur en eau expérimentale d'équilibre (en % MS) ;

$X_{eqi,pre}$: $i^{\text{ème}}$ teneur en eau prédite d'équilibre (en % MS) ;

n : Nombre de points expérimentaux.

Afin de choisir le modèle le plus approprié pour décrire la relation entre l'humidité à l'équilibre, l'activité de l'eau et la température, le coefficient de corrélation (r) est considéré comme le premier critère de sélection de la meilleure équation pour décrire les courbes

d'adsorption. En plus du coefficient de corrélation, le calcul des valeurs de l'Erreur Moyenne Relative (EMR), de l'Erreur Standard de la Teneur en eau (EST) et de l'Erreur résiduelle (e_i) permet la justification du choix du modèle (**Tableau IV-11**).

Tableau IV-12 : Expression des paramètres statistiques utilisés pour la détermination du modèle le plus fiable (Aghfir *et al.*, 2005; Benhamou *et al.*, 2010; Mghazli *et al.*, 2016)

Paramètres statistiques	Equations
Corrélation (r)	$r = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (X_{eqi,pred} - \overline{X_{eqi,exp}})^2}{\sum_{i=1}^n (X_{eqi,exp} - \overline{X_{eqi,exp}})^2}}$
Erreur Moyenne Relative (EMR)	$EMR(\%) = \frac{100}{n} \sum_{i=1}^n \left \frac{\sum_1^n (X_{eqi,exp} - X_{eqi,pre})}{\sum_1^n (X_{eqi,exp})} \right $
Erreur Standard de la Teneur en eau (EST)	$EST = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (X_{eqi,exp} - X_{eqi,pre})^2}{df}}$
Erreur résiduelle (e_i)	$e_i = X_{eqi,pre} - X_{eqi,exp}$

Compte tenu de l'approximation par régression non linéaire, une valeur de $r \geq 0,98$ est considérée comme un bon ajustement. Dans le cas de l'Erreur Moyenne Relative (EMR), des valeurs inférieures à 5% indiquent un bon ajustement, des valeurs comprises entre 5% et 10% indiquent un ajustement raisonnable, et des valeurs supérieures à 10% indiquent un mauvais ajustement (Aguirre-Loredo *et al.*, 2016).

Le meilleur modèle est celui qui présente la plus grande valeur de r et les plus petites valeurs d'EMR, d'Erreur Standard de la Teneur en eau et d'erreur résiduelle (e_i) (Kakou *et al.*, 2015). L'erreur résiduelle (e_i) permet de savoir si les erreurs résiduelles entre les valeurs prédites par le modèle et celles de l'expérience sont minimales.

Les constantes de chaque modèle permettant la comparaison des modèles sont répertoriées pour le raffinat d'extrusion dans le **Tableau IV-13** et pour le matériau dans le **Tableau IV-14**.

Tableau IV-13 : Constantes des modèles de l'isotherme d'adsorption du raffinat d'extrusion

	BET	GAB	Peleg	Oswin	Hasley	Henderson
X ₀	3,100	5,284	-	-	23,906	
A	-	-	12,829	6,686	10,833	0,046
B	-	-	11,210	0,413	1,983	1,416
C	147631875	5,937	0,877	-	-	-
D	-	-	8,526	-	-	-
K	-	0,773	-	-	-	-

Tableau IV-14 : Constantes des modèles de l'isotherme d'adsorption du matériau thermopressé

	BET	GAB	Peleg	Oswin	Hasley	Henderson
X ₀	1,714	2,409	-	-	46,936	-
A	-	-	7,046	3,747	28,328	0,161
B	-	-	12,969	0,518	1,600	1,092
C	18061643	7,202	0,881	-	-	-
D	-	-	8,528	-	-	-
K	-	0,889	-	-	-	-

Les résultats de la masse d'eau adsorbée en fonction de l'humidité relative (ou de l'activité de l'eau $a_w = HR/100$) trouvés en minimisant l'Ecart Quadratique Moyenne (EQM) entre les valeurs expérimentales et celles prédites par les modèles, sont répertoriés dans le **Tableau IV-15** pour le raffinat d'extrusion et dans le **Tableau IV-16** pour le matériau thermopressé.

Tableau IV-15 : Valeurs expérimentales et valeurs prédites par chaque modèle en fonction de l'humidité relative pour l'adsorption d'eau du raffinat d'extrusion

Humidité relative (%)	Valeurs Expérimentales, (% MS)	Valeurs prédites (% MS) par les modèles pour le raffinat d'extrusion					
		BET	GAB	Peleg	Oswin	Hasley	Henderson
0	0	0	0	0	0	0	0
15	2,445	3,647	2,617	2,431	3,265	3,903	2,444
30	4,434	4,428	4,417	4,464	4,711	4,909	4,257
45	6,41	5,636	6,159	6,382	6,154	6,038	6,131
60	8,329	-	8,251	8,341	7,905	7,563	8,289
75	10,936	-	11,21	10,933	10,528	10,103	11,104
90	16,262	-	16,183	16,262	16,578	16,764	15,888

Tableau IV-16 : Valeurs expérimentales et valeurs prédites par chaque modèle en fonction de l'humidité relative pour l'adsorption d'eau du matériau

Humidité relative (%)	Valeurs expérimentales (% MS)	Valeurs prédites (% MS) par les modèles pour le matériau thermopressé					
		BET	GAB	Peleg	Oswin	Hasley	Henderson
0	0	0	0	0	0	0	0
15	1,251	2,502	1,462	1,325	1,524	1,945	1,005
30	2,491	4,342	2,378	2,441	2,415	2,585	2,065
45	3,578	6,449	3,325	3,502	3,377	3,341	3,313
60	4,566	-	4,606	4,66	4,624	4,416	4,899
75	6,612	-	6,765	6,585	6,623	6,322	7,157
90	11,699	-	11,664	11,702	11,709	11,843	11,39

Les résultats de chaque modèle sont comparés à ceux obtenus expérimentalement, suivant les tracés des courbes pour le raffinat d'extrusion (**Figure IV-19**) et pour le matériau thermopressé (**Figure IV-20**).

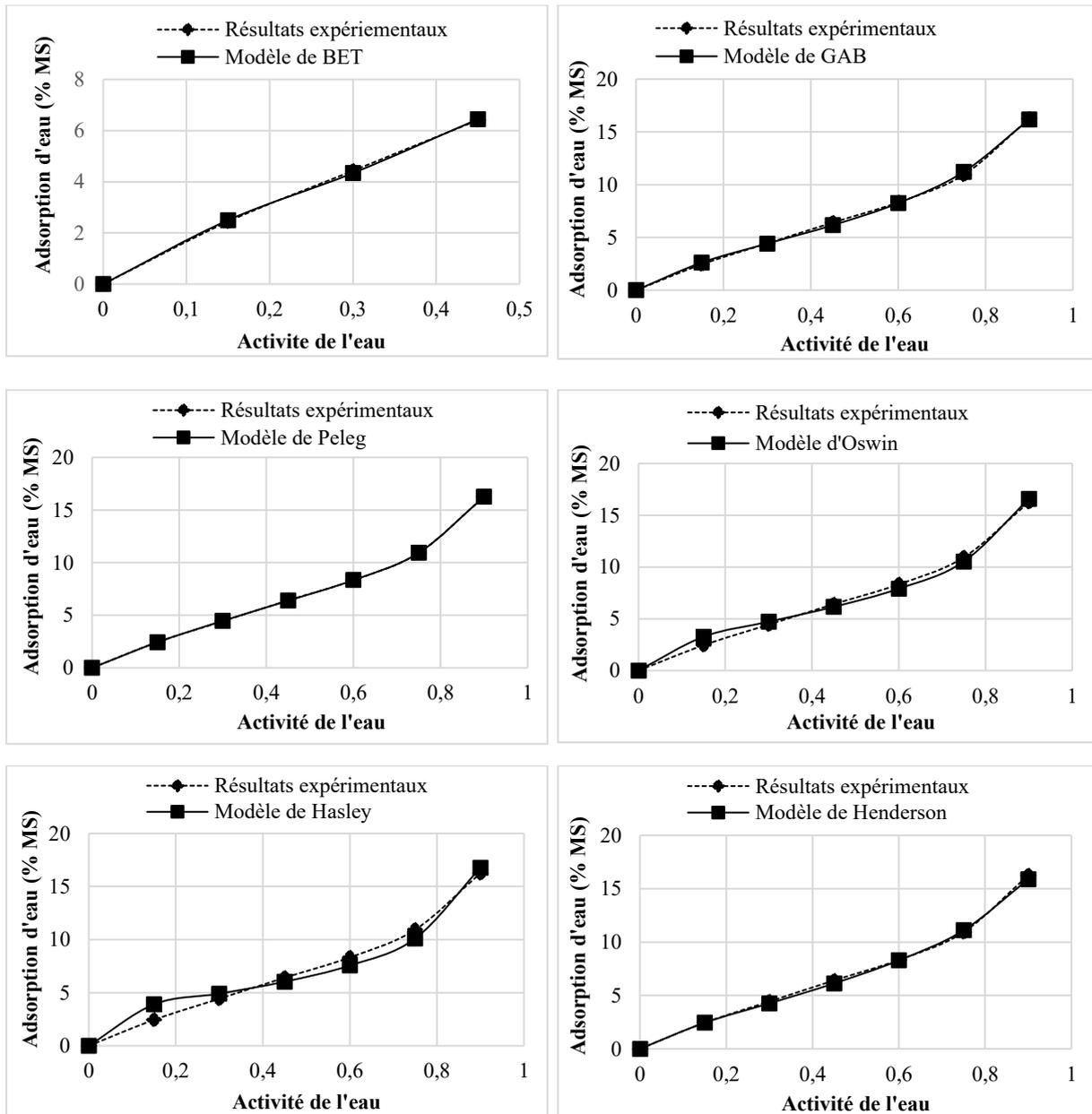


Figure IV-19 : Données expérimentales d'humidité d'équilibre du raffinat d'extrusion comparées aux isothermes prédites par les modèles

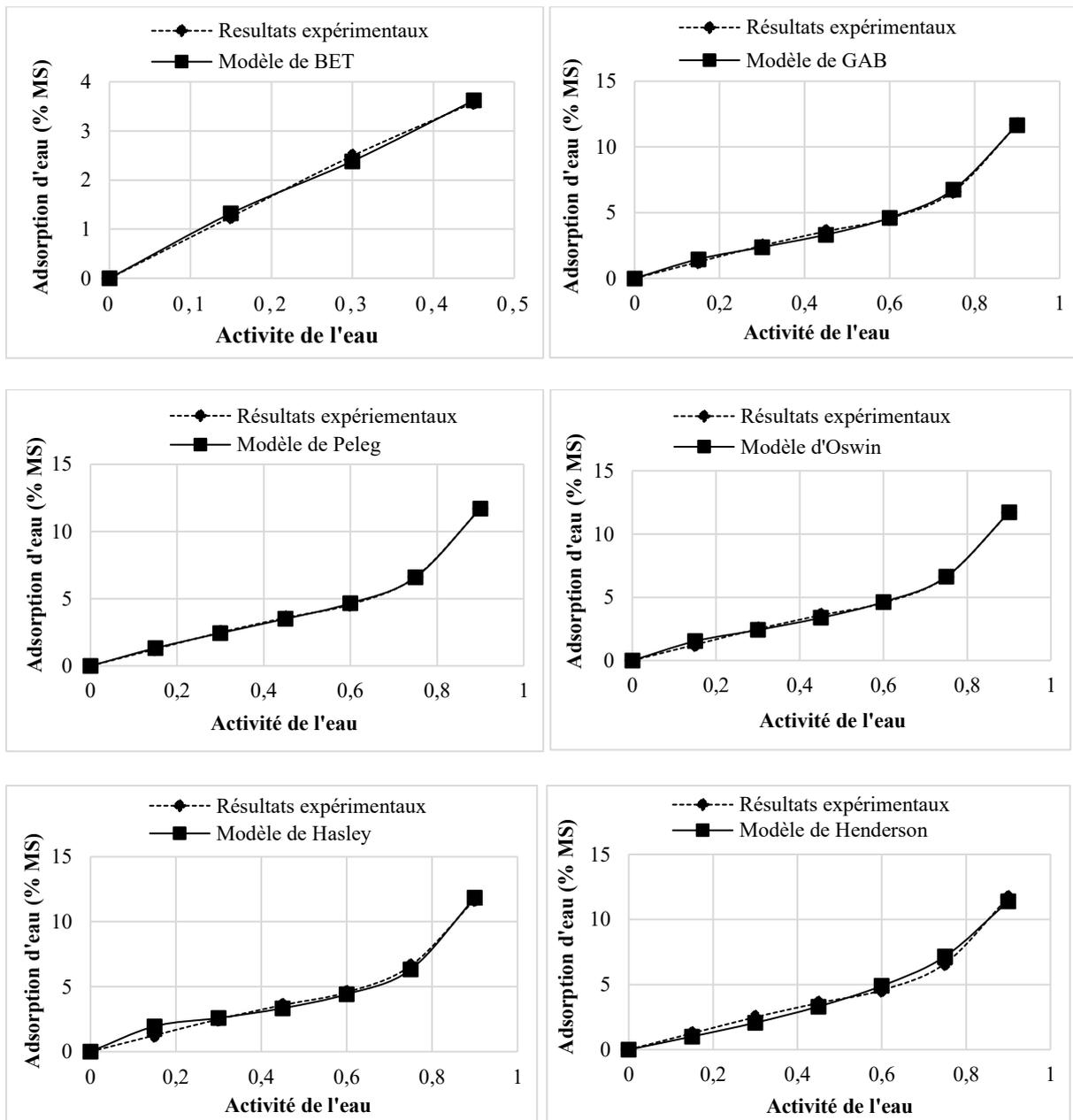


Figure IV-20 : Données expérimentales d'humidité d'équilibre du matériau thermopressé comparées aux isothermes prédites par les modèles

Ces comparaisons permettent de constater que dans les deux cas (raffinat et matériau) les courbes du modèle de Peleg coïncident parfaitement avec celles de l'expérience, et celles du modèle de GAB sont quasi superposables à celles de l'expérience. La courbe du modèle de Henderson dans le cas du raffinat et celle d'Oswin pour le matériau sont aussi presque superposables à celle de l'expérience.

IV.4.2.2.1.c. Sélection du modèle

Les paramètres statistiques de chaque modèle, pour le raffinat d'extrusion (**Tableau IV-17**) et pour le matériau thermopressé (**Tableau IV-18**) ont servi à la comparaison et à la sélection des meilleurs modèles. Le coefficient de corrélation r est le premier critère d'ajustement.

Tableau IV-17 : Résultats statistiques pour le raffinat d'extrusion

	BET	GAB	Peleg	Oswin	Hasley	Henderson
r	0,957	0,999	1	0,997	0,989	0,999
EMR (%)	15,337	2,179	0,269	7,789	13,723	1,810
EST	0,886	0,435	0,044	1,118	2,203	0,464

Tableau IV-18 : Résultats statistiques pour le matériau thermopressé

	BET	GAB	Peleg	Oswin	Hasley	Henderson
r	0,947	0,999	1	0,999	0,996	0,996
EMR (%)	18,968	4,572	1,802	4,585	10,690	8,902
EST	0,568	0,403	0,163	0,282	0,804	0,950

L'analyse statistique des sept modèles montre que les coefficients de corrélation de ces modèles pour les deux isothermes sont tous élevés ($>0,98$), à l'exception du modèle de BET (0,957 pour le raffinat d'extrusion et 0,947 pour le matériau thermopressé) pour des humidités relatives comprises entre 0% et 45%. Ceci montre que le modèle de BET ne traduit pas correctement les résultats expérimentaux. Ce qui d'ailleurs se traduit par des valeurs élevées d'Erreur Standard de la Teneur en eau (EST) (0,886 pour le raffinat et 0,568 pour le matériau) et d'Erreur Moyenne Relative (EMR) (15,337% pour le raffinat et 18,968% pour le matériau).

Ainsi, dans le cas du raffinat d'extrusion chacun des cinq autres modèles (GAB, Peleg, Oswin, Hasley et Henderson) donne un ajustement raisonnable avec des Erreurs Moyennes Relatives (EMR) comprises entre 5 et 10%. Par contre, dans le cas du matériau, l'EMR du modèle de Hasley est supérieure à 10% (13,723% pour le raffinat et 10,69% pour le matériau), ce qui traduit un mauvais ajustement de l'isotherme du matériau par ce modèle. Les quatre autres modèles (GAB, Peleg, Oswin et Henderson) donnent un ajustement raisonnable.

Toutefois, la comparaison des coefficients de corrélation r , des Erreur Standard de la Teneur en eau (EST) et des EMR pour les deux adsorbants (raffinat et matériau) montre que le modèle empirique de Peleg présente les coefficients de corrélations les plus élevés (égaux à 1) et les EST les plus faibles (0,044 pour le raffinat, 0,163 pour le matériau), de même que les EMR les plus faibles (0,269% pour le raffinat, 1,802% pour le matériau).

Au terme de ces comparaisons, le modèle de Peleg à quatre paramètres semble correspondre au modèle le plus adapté pour décrire les isothermes d'adsorption du raffinat d'extrusion des graines de neem et du matériau obtenu par thermopressage de celui-ci.

Les valeurs des erreurs résiduelles des sept points expérimentaux (**Tableau IV-19**) étant faible, leur répartition semble relativement aléatoire. Ceci valide à la fois la méthode d'estimation et le modèle retenu.

Tableau IV-19 : Erreurs résiduelles (e_i) du modèle de Peleg des différents points expérimentaux

Humidité relative (%)	0	15	30	45	60	75	90
Raffinat d'extrusion	0	0,014	-0,031	0,028	-0,012	0,003	0,000
Matériau thermopressé	0	-0,075	-0,051	0,076	0,093	0,027	-0,003

Cependant, le modèle théorique de GAB à trois paramètres présente aussi un bon ajustement puisque dans le cas du raffinat et du matériau, ses coefficients de corrélations sont supérieurs à 0,98 ($r = 0,999$ dans les deux cas) et ses Erreurs Moyennes Relatives sont inférieures à 5% (2,179% pour le raffinat et 4,572% pour le matériau).

La teneur en eau de la monocouche est donnée par la constante X_0 du modèle de GAB, qui présente le meilleur ajustement que celui de BET ($X_0 = 5,284$ pour le raffinat et $X_0 = 2,409$ pour le matériau).

Parmi les modèles étudiés, celui de Peleg ajuste le mieux les résultats expérimentaux des isothermes d'adsorption du raffinat et de l'agromatériau, avec des courbes prédites qui se superposent parfaitement à celles de l'expérience. Le modèle de GAB est le deuxième meilleur modèle d'absorption d'eau de ces adsorbants. Les modèles de Henderson pour raffinat et d'Oswin pour le matériau thermopressé donnent néanmoins un bon ajustement.

IV.4.2.2.2. Analyse et interprétation des isothermes d'adsorption d'eau à partir des modèles de Peleg et de GAB

Le modèle empirique de Peleg, permettant de mieux comprendre la vitesse d'adsorption d'eau par les adsorbants (Peleg, 1993) et le modèle théorique de GAB, considéré comme un modèle adapté pour représenter les isothermes d'adsorption de biopolymères (Geneau, 2006) sont pour cela exploités dans l'interprétation des résultats.

IV.4.2.2.2.a. Allure des isothermes

Les valeurs du paramètre C de l'équation de GAB dans les Tableaux II-7 et II-8, permettent de caractériser les isothermes d'adsorption. Lorsque $C \leq 10$, l'isotherme est de type III, alors que pour $C \geq 10$, l'isotherme est de type II (Kakou *et al.*, 2015). Dans cette étude, les valeurs du paramètre C sont inférieures à 10 (5,937 et 7,202, respectivement pour le raffinat et le matériau). Ainsi, ces résultats indiquent que les courbes représentatives des isothermes d'adsorption d'eau du raffinat d'extrusion des graines de neem et du matériau thermopressé en fonction de l'humidité relative de l'atmosphère, (Figure IV-18) sont du type III. Ce type d'isotherme, caractéristique d'une adsorption multimoléculaire (épaississement progressif de la couche adsorbée), avec des interactions milieu poreux/gaz adsorbé faible, est cohérent avec la composition de la matière adsorbante. L'allure sigmoïdales à 25°C des isothermes confirme que le raffinat et le matériau sont constitués de biopolymères en particulier de fibres (cellulose, hémicelluloses, lignines) (Geneau, 2006).

L'observation de ces courbes montre que le raffinat d'extrusion est plus hygroscopique que le matériau thermopressé. Et la masse d'eau adsorbée par ces adsorbats augmente en fonction de l'activité de l'eau. Cependant, le rythme d'augmentation n'est pas uniforme. Le tracé des courbes de l'équation donnant l'expression de f'' (Peleg) en fonction de l'humidité relative (**Figures IV-21 et IV-22**) permet de bien comprendre le processus d'évolution de la masse d'eau adsorbée en fonction de l'humidité relative (Peleg, 1993).

$$f''(\text{Peleg}) = \frac{d^2 X_{\text{eq}}}{da_w^2} = (A B(B-1)a_w^{B-2}) + (C D(D-1)a_w^{D-2})$$

Avec :

$f''(\text{Peleg})$: Fonction dérivée seconde de l'équation du modèle de Peleg ($X_{\text{eq}} = A a_w^B + C a_w^D$)

X_{eq} : Adsorption à l'équilibre prédit par le modèle de Peleg ;

a_w : Activité de l'eau ;

A, B, C et D : Constantes du modèle de Peleg.

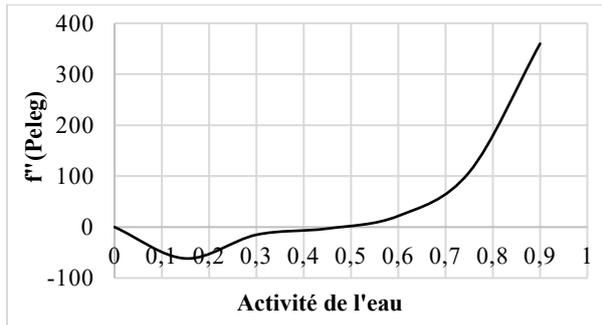


Figure IV-21 : Vitesse d'adsorption d'eau ($f''(\text{Peleg})$) par le raffinat d'extrusion en fonction de l'activité de l'eau

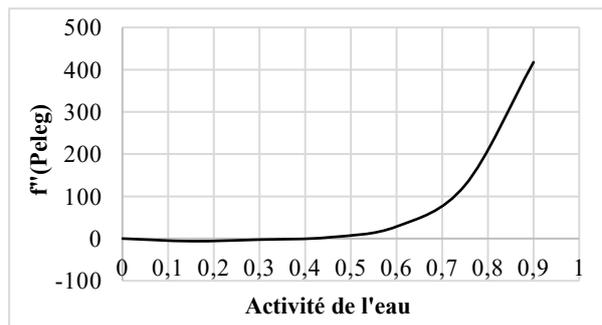


Figure IV-22 : Vitesse d'adsorption d'eau ($f''(\text{Peleg})$) par l'agromatériau thermopressé en fonction de l'activité de l'eau

Les deux courbes représentant $f''(\text{Peleg})$ en fonction de l'activité de l'eau présentent une partie positive localisée aux humidités relatives moyennes ($>50\%$) et une partie négative aux faibles humidités relatives ($<50\%$). Cela indique que la vitesse d'adsorption d'eau en fonction de l'humidité relative (HR) diminue dans le domaine de faibles humidités relatives et augmente dans le domaine des humidités relatives élevées. À des HR inférieures à 48% pour le raffinat d'extrusion et inférieures à 40% pour le matériau thermopressé, nous constatons une baisse de la vitesse d'absorption d'eau quand l'HR augmente.

Pour le raffinat d'extrusion, à des HR inférieures à 30%, cette diminution est très marquée et présente deux allures différentes :

- Entre 0 et 15% d'HR, il y a une diminution progressive de la vitesse d'adsorption.
- Entre 15 et 30% d'HR, la vitesse d'absorption d'eau augmente progressivement, ce qui justifie la première inflexion de la courbe expérimentale de l'isotherme entre 0 et 15% d'HR pour le raffinat. Cette inflexion est peu marquée dans le cas de l'agromatériau et se situe entre 0 et 20% d'HR. Elle correspondrait à la formation de la monocouche d'eau sur les groupements polaires aisément accessibles de l'adsorbant.

Dans les deux cas, raffinat et matériau, la vitesse d'adsorption augmente progressivement avec l'augmentation de l'HR du milieu lorsque cette dernière est supérieure à 50%. Remarquons que pour des HR élevées (supérieures à 80%), la vitesse d'adsorption d'eau par ces adsorbants augmente de manière exponentielle en étant plus marquée dans le cas du matériau.

La seconde inflexion (entre 70 et 80% d'HR pour le raffinat et entre 60 et 80 % pour le matériau) traduit la fin de la formation de la multicouche d'hydratation des biopolymères (Geneau, 2006) et est plus marquée dans le cas du matériau.

IV.4.2.2.b. Affinité pour l'eau du raffinat d'extrusion des graines de neem et du matériau thermopressé

Dans le modèle GAB, qui conduit à une bonne représentation des isothermes d'adsorption pour de nombreuses matières végétales contenant des biopolymères, les coefficients X_0 , C et K peuvent être reliées à l'affinité du matériau pour l'eau :

- * X_0 , qui mesure la quantité d'eau adsorbée pour former la couche monomoléculaire correspond à la saturation de chaque site primaire d'adsorption par une molécule d'eau, peut être considéré comme un indice d'hygroscopie du matériau et de ses constituants. Rappelons que ce premier phénomène d'adsorption correspond à l'eau fortement liée sur les sites polaires libres directement accessibles à la surface du substrat, comme l'amidon, les protéines ou les fibres, grâce à la formation de liaisons hydrogènes ou sous l'effet des forces de Van Der Waals.

- * C , la constante de Guggenheim, relie la formation de la monocouche à la chaleur de sorption et peut être considérée comme un indice de la capacité du matériau à condenser l'eau vapeur sous forme d'une eau fortement liée.

- * K , facteur correctif relatif à la chaleur de sorption totale des multicouches d'eau (couches polymoléculaires qui viennent s'adsorber sur la monocouche initiale), peut être considéré comme un indice de l'état de l'eau dans ces multicouches, intermédiaires entre les solides et les liquides. Plus K sera proche de 1, plus l'eau contenue dans la multicouche se comportera comme de l'eau liquide (Pérez-Alonso *et al.*, 2005).

La comparaison des valeurs de ces coefficients obtenus pour le raffinat d'extrusion des graines de neem avec celles relevées pour plusieurs autres matières dans la littérature (Abdillahi, 2014; Geneau, 2006) montre que (**Tableau IV-20**) :

Tableau IV-20 : Valeur des paramètres GAB pour les isothermes d'adsorption d'eau du raffinat d'extrusion des graines de neem et matériau thermopressé (200°C, 200 kg/cm², 4 min) et comparaison aux données relevées dans la littérature

Graine	Neem		Tournesol ⁽¹⁾				Blé ⁽²⁾		
Matière	Raffinat d'extrusion	Matériau thermopressé	Tourteau délipidé broyé	Coque broyé	Farine d'amande délipidé	Isolat protéique	Grain broyé	Farine	Amidon
Coefficient GAB									
X ₀ (g d'eau/g MS)	5,284	2,409	5,03	5,66	4,87	5,27	8,78	8,11	9,6
C	5,937	7,202	5,937	5,372	6,436	7,021	4,66	15,3	15,61
K	0,773	0,889	0,869	0,814	0,90	0,874	0,69	0,7	0,65
Teneur protéines (% MS)	3,43	-	31,5	2,4	56,2	82	12,8	12,8	0,3
Teneur fibres (% MS)	78,95	-	45,6	80,2	19,4	-	11,2	1,7	0

⁽¹⁾ Geneau, 2006

⁽²⁾ Abdillahi, 2014

▪ Le caractère hygroscopique du raffinat d'extrusion des graines de neem est proche de celui d'un tourteau de tournesol délipidé, se traduisant par des valeurs de X_0 pour la quantité d'eau adsorbée sous forme de monocouche respectivement de 5,3 et 5, nettement plus faibles que celles relevées pour des matières riches en amidon (8,1 à 9,6) comme le grain de blé broyé, la farine de blé ou l'amidon de blé. Ce qui s'explique par la structure polyhydroxylée de l'amidon, propice à la formation de liaison hydrogène entre l'eau et les fonctions hydroxyles en plus grand nombre et plus accessibles que dans les protéines ou les biopolymères des fibres : $X_0 = 9,6$ pour l'amidon de blé, 5,27 pour un isolat protéique de tournesol (à 82% de fibres). Bien que ces comparaisons de valeur de X_0 doivent être pondérées par le fait que ces matériaux possèdent des surfaces spécifiques identiques pour l'adsorption (différence de granulométrie des particules), elles semblent indiquer que la contribution des protéines et celle des fibres à l'hygroscopie du matériau seraient voisines. Dans le raffinat d'extrusion des graines de neem, elle serait essentiellement liée à la forte proportion des fibres qu'il contient (79% de fibres pour moins de 3,5% de protéines).

▪ La capacité à condenser l'eau vapeur sous forme d'une couche fortement liée est identique pour le raffinat d'extrusion des graines de neem et le tourteau de tournesol délipidé (C voisin de 5,9 pour les deux matières). Remarquons que ce sont les fibres qui semblent le plus contribuer à minimiser cette capacité à condenser l'eau [$C = 5,37$ pour les coques de tournesol broyées à 80% de fibres et très peu de protéines (2,4%), et 6,43 et 7,02% respectivement pour une farine d'amande et un isolat protéique de tournesol à 56 et 82% de protéines]. Cet effet de la présence de fibres qui jouerait le rôle d'un effet barrière à la condensation est encore plus net dans les matières riches en amidon : 11% de fibres dans le grain de blé broyé suffisent à diminuer le coefficient C d'un facteur 3 par rapport à une farine de blé.

▪ L'eau adsorbée par la formation de la multicouche sur les matières riches en protéines se rapproche le plus du comportement de l'eau libre (K varie de 0,87 à 0,9 pour le tourteau de farine d'amande et l'isolat protéique de tournesol), alors que les fortes interactions avec les matières riches en amidon l'en écartent nettement (K varie de 0,65 à 0,7 pour l'amidon, la farine et le grain de blé). Dans le cas du raffinat d'extrusion des graines de neem, la valeur de K (0,775) est plus proche de celle pour les coques de tournesol broyées (0,81), traduisant le fait que les interactions de l'eau adsorbée en multicouche sur les fibres sont d'intensité intermédiaire entre celles avec les protéines et avec l'amidon.

Le tracé des isothermes d'adsorption à partir du modèle GAB pour le raffinat d'extrusion, le tourteau de tournesol et le grain de blé broyé (**Figure IV-23**) montre alors que les différences

d'affinité pour l'eau deviennent significatives à partir d'une humidité relative supérieure à 60% : à 90% d'HR, le raffinat d'extrusion de graines de neem ne contient que 16% d'eau, nettement moins que les autres matières.

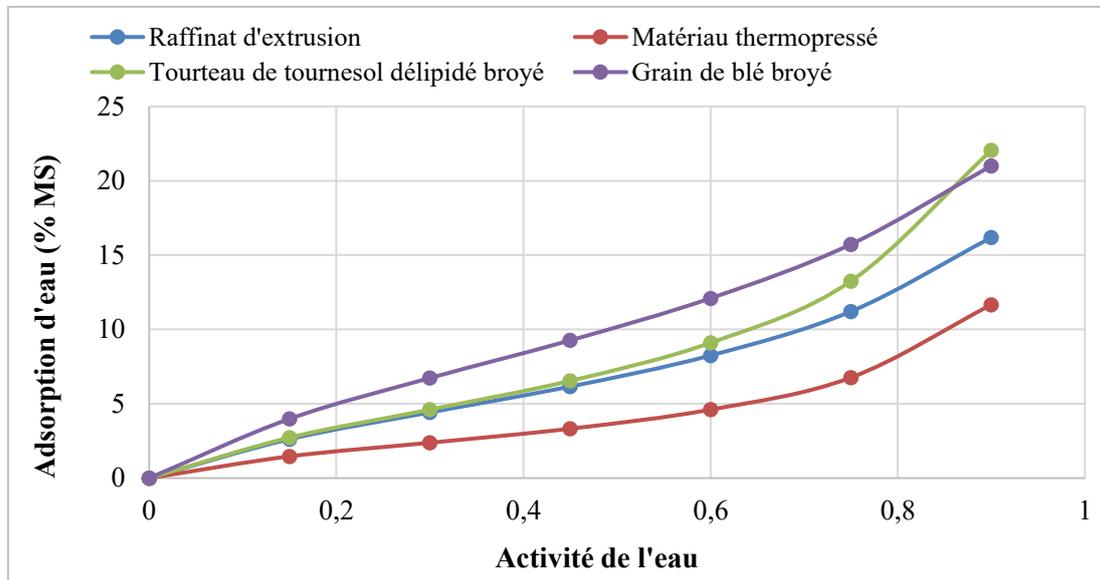


Figure IV-23 : Comparaison du tracé des isothermes d'adsorption d'eau d'après le modèle GAB pour le raffinat d'extrusion des graines de neem, le matériau thermopressé (200°C, 200 kg/cm², 4 min), le tourteau de tournesol délipidé broyé et le grain de blé broyé

Le thermopressage à 200°C sous 200 kg/cm² pendant 4 minutes du raffinat d'extrusion conduit alors à un matériau encore moins affine de l'eau : la faible valeur de X_0 (2,41) traduit sa faible hygroscopie et la quantité d'eau adsorbée en fonction de l'humidité relative est nettement plus faible que celle dans le raffinat natif : à 90% HR, elle reste inférieure à 12%. Remarquons que ce phénomène n'a pas été observé dans le cas du thermopressage du tourteau de tournesol délipidé (Geneau, 2006) qui contient beaucoup plus de protéines (31% pour 45% de fibres). Il peut donc être attribué à la densification du matériau et l'autoliasion des fibres dans les conditions du thermopressage, diminuant l'accessibilité des fonctions hydroxyles de leurs biopolymères constitutifs.

En conclusion, cette faible sensibilité à l'adsorption d'eau du raffinat d'extrusion des graines de neem et des matériaux auxquels il conduit par thermopressage pourra être exploitée pour former une couche de protection externe dans l'assemblage multicouche de composites fibreux. Et la présence d'azadirachtine résiduelle dans cette couche de protection (**Figure IV-**

24) pourrait en outre apporter au matériau thermoformé une résistance contre l'attaque des insectes.

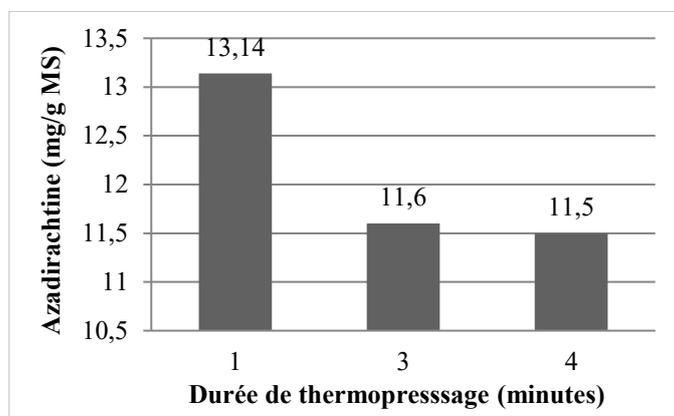


Figure IV-24 : Teneur en azadirachtine des matériaux thermopressés (200°C, 200 kg/cm²) à partir du raffinat d'extrusion des graines de neem

IV.5. Conclusion

Le fractionnement des graines de neem par pressage et extraction aqueuse en extrudeur bi-vis BC 21, dans les conditions de fractionnement prédéfinies, permet de produire trois fractions :

- Une huile brute issue de l'étape de pressage des graines, fournissant après centrifugation une huile claire (rendement égal à 63% par rapport à l'huile brute de pressage, soit 20% des lipides de la graine). Cette huile vierge peut trouver plusieurs applications telles qu'en cosmétique, en savonnerie, en formulation d'émulsions, en biocarburant, en solvant, etc.
- Un extrait aqueux sous forme d'un filtrat issu de l'étape d'extraction et qui contient l'essentiel des lipides, des protéines et de l'azadirachtine des graines. La séparation solide/liquide par centrifugation de cet extrait a conduit à l'obtention de deux phases :
 - Un fraction insoluble contenant plus de protéines (32,4%), moins de lipides (15,3%) et beaucoup moins d'azadirachtine que la graine. Compte tenu de sa teneur en azadirachtine, ce solide peut être directement utilisé comme biopesticide et après traitement, être utilisé dans l'alimentation animale.
 - Une émulsion (ou filtrat clarifié) dont la teneur en azadirachtine (5,8 g/kg), est beaucoup plus élevée que celle de la graine.

Après son traitement par homogénéisation sous pression (APV 1000, 2 cycles à 300 bars), l'émulsion a subi deux procédés de séparation :

- Une séparation par décantation pendant 3 heures conduisant à une émulsion huile dans l'eau et une phase liquide essentiellement constitué du solvant, et ne contenant qu'au plus 8% de matière sèche. La poursuite de la décantation jusqu'à 24 h permet d'augmenter la concentration en lipides. Ce procédé permet d'obtenir une émulsion dont la teneur en azadirachtine est de 6,42 g/kg de matière sèche.
- Une séparation par centrifugation (9000 g pendant 15 min) conduit à l'obtention d'une émulsion concentrée avec une teneur en azadirachtine équivalente (6,43 g/kg MS). Cette émulsion contient près de la moitié de l'azadirachtine des graines et au plus 5% des protéines de la graine, et une phase liquide solvant.
- Une autre possibilité de traitement des filtrats clarifiés issus de l'extraction aqueuse et hydroalcoolique des graines de neem en extrudeur bi-vis consiste à les concentrer par lyophilisation. Ce procédé permet d'obtenir des poudres dans lesquelles l'azadirachtine est stable à la température ambiante pendant quelques mois.

■ Un raffinat solide sous forme d'extrudat issu du pressage du mélange solide/liquide constitué essentiellement de fibres (de l'ordre de 79%) avec très peu de lipides (6%), de protéines (3%) et d'azadirachtine (0,09 g/kg). Ce coproduit du pressage-extraction aqueuse a été étudié pour sa valorisation comme agromatériau et l'étude de ses propriétés thermiques, thermomécaniques et son comportement vis-à-vis de l'eau ont permis de définir les conditions du thermopressage des raffinats d'extrusion.

Les résultats obtenus à partir d'un plan d'expériences, notamment les courbes d'isoréponses montrent que l'augmentation de la pression densifie le matériau et que le module d'élasticité est surtout sensible à la pression du thermopressage. Le thermopressage du raffinat d'extrusion des graines de neem fournit des agromatériaux relativement rigides (modules d'élasticité compris entre 1500 et 2300 MPa) mais fragiles (résistance à la rupture voisine de 0,5 MPa). La présence d'azadirachtine résiduelle dans ces matériaux, de 11,5 à 13,1 mg/g, pourra créer une résistance contre l'attaque des insectes.

L'étude du comportement de l'agromatériau montre que plus le matériau est dense et présente un module d'élasticité élevé, meilleure est sa tenue dans l'eau. Et la comparaison de son

isotherme d'adsorption d'eau atmosphérique avec celle de l'extrudat nous permet de constater que le matériau est moins hygroscopique que l'extrudat d'origine.

La modélisation des isothermes d'adsorption d'eau du raffinat d'extrusion et de l'agromatériau thermopressé a révélé que c'est le modèle de Peleg est le plus approprié. Le modèle de GAB est le deuxième meilleur modèle d'absorption d'eau de ces absorbants.

L'analyse des isothermes d'adsorption d'eau à partir de ces deux modèles, indique que les isothermes d'adsorption d'eau du raffinat d'extrusion des graines de neem et du matériau thermopressé, sont de type III. Ce type d'isotherme, caractéristique d'une adsorption multimoléculaire, est cohérent avec la composition essentiellement fibreuse de la matière adsorbante.

Au regard de ces résultats sur le fractionnement bi-vis de graines de neem et des traitements des différentes fractions obtenues, un schéma de bioraffinage de la graine de neem (**Figure IV-25**) peut être proposé pour la valorisation intégrée de ses constituants.

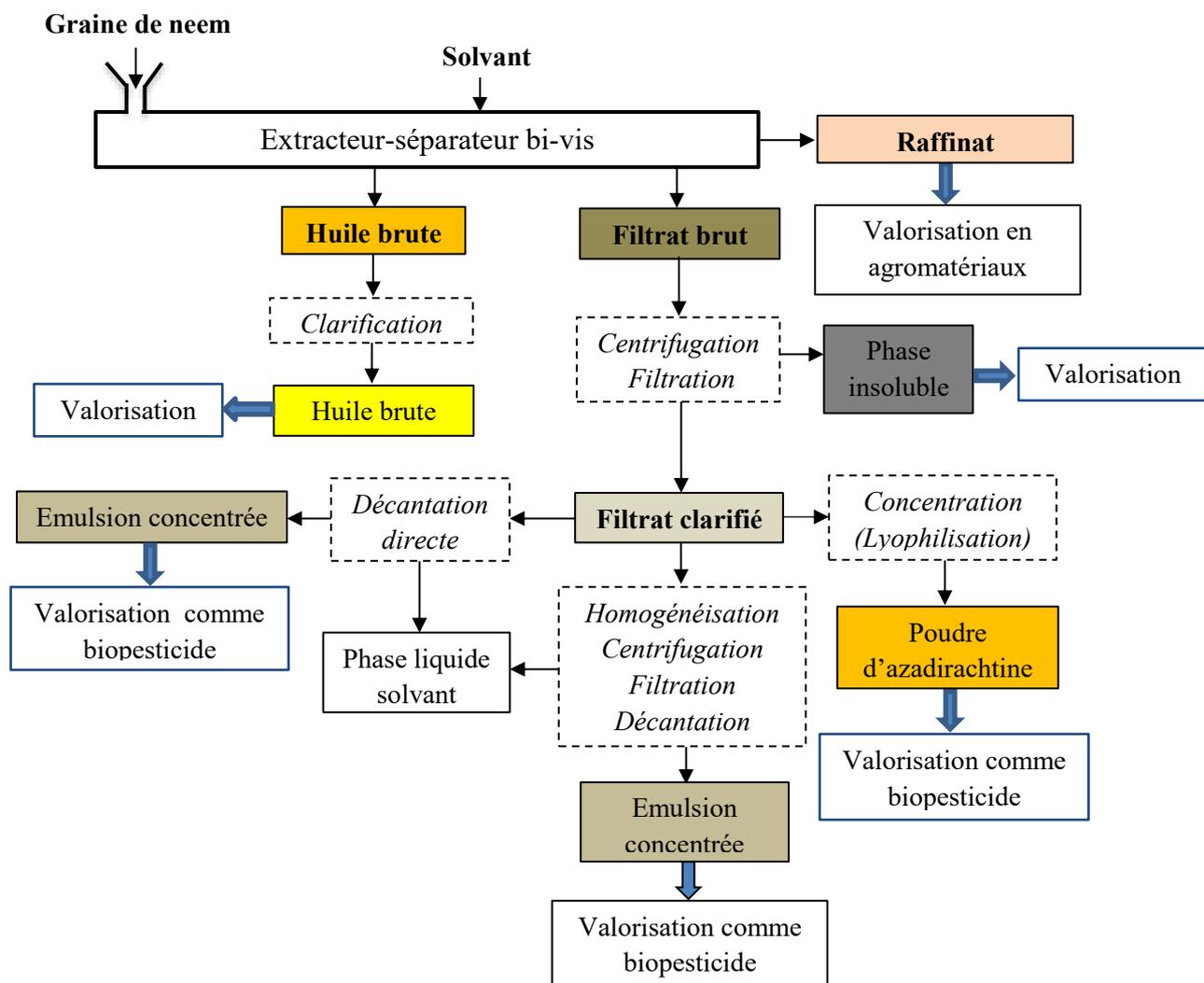


Figure IV-25 : Schéma de bioraffinage de la graine de neem par fractionnement en extrudeur bi-vis

CONCLUSION GENERALE

CONCLUSION GENERALE

De nos jours, les directives environnementales encouragent l'exploitation et la valorisation des ressources issues de la biomasse au détriment des ressources fossiles, ce qui contribue au développement des secteurs de l'agro-industrie. Ces nouvelles orientations ont poussé les états à intégrer le développement durable dans leurs objectifs de développement.

Une des préoccupations devient l'optimisation et la mise en œuvre des procédés efficaces de transformation des agroressources. Dans le cas du neem et du dattier du désert, deux graines oléagineuses qui, en plus de l'huile et des protéines qu'elles contiennent, sont caractérisées par la présence de molécules actives. Pour la graine de neem, c'est principalement de l'azadirachtine, connue pour ses propriétés insecticides. C'est pourquoi beaucoup de travaux de recherche se sont intéressés à l'extraction de l'huile et de l'azadirachtine, à la purification et la formulation de l'azadirachtine sous forme d'un biopesticide commercialisable, et aux traitements des tourteaux d'extraction pour leur utilisation en alimentation animale.

Les travaux que nous avons réalisés s'inscrivent dans la continuité des travaux précédents de Mamadou Faye (Faye, 2010) sur un nouveau procédé de fractionnement de la graine de neem et visent au fractionnement des graines de neem en extrudeur bi-vis pour la valorisation intégrée de ses extraits (huile et azadirachtine) et du raffinat selon le concept de la bioraffinerie. Un autre objectif a été le fractionnement analytique de la graine de dattier du désert, ce qui nous a permis d'ouvrir ses perspectives de fractionnement en extrudeur bi-vis.

Ainsi, au vu de l'ensemble des **résultats du fractionnement analytique des deux graines** et en tenant compte des possibilités de valorisation des constituants, quelques schémas de fractionnement sont envisageables :

- Dans le cas de la graine de dattier du désert, le fractionnement mécanique par décorticage des graines et pressage des amandes permettra la production d'une huile (rendements entre 30 et 60% en fonction du potentiel lipidique) destinée à l'alimentation et d'un tourteau riche en protéines (42,3%) pour l'alimentation animale. Le fractionnement aqueux des amandes permettra de coextraire l'huile et les métabolites secondaires, notamment les saponines sous forme d'une émulsion valorisable en agrochimie, pharmacie, cosmétique ou alimentaire. Les coques essentiellement fibreuses pourront être transformées en granulats (pouvoir calorifique de 18,3 MJ/kg) et utilisées comme combustible pour les usages domestiques ou les chaudières à biomasse.

- Dans le cas de la graine de neem, deux schémas de fractionnement peuvent être envisagés :

- un décorticage des graines et fractionnement des amandes par pressage de l'huile (rendements pouvant aller jusqu'à 49% d'huile par rapport à la masse sèche des amandes) ou d'un pressage et extraction aqueuse ou hydroéthanolique de l'azadirachtine, et production d'un raffinat riche en protéines (48%) et moins riche en fibres (14%) utilisable pour l'alimentation animale.
- un fractionnement sans décorticage des graines par pressage de l'huile (rendements pouvant aller jusqu'à 29% d'huile par rapport à la masse sèche des graines) ou d'un pressage et extraction aqueuse ou hydro-éthanolique de l'azadirachtine et production d'un raffinat enrichi en fibres (62%) et moins riche en protéines (17%) pour la fabrication agromatériaux.

Dans tous les cas, l'huile produite peut être exploitée dans le domaine de la cosmétique et savonnerie, de l'énergie (biocarburant), de l'agrochimie (formulation de biopesticide à base d'azadirachtine), des biosolvants ou de la pharmacie.

L'étude du fractionnement par extraction aqueuse et hydro-alcoolique des graines de neem en extrudeur bi-vis BC 21 a permis une séparation solide/liquide efficace qui a conduit à un filtrat brut et un raffinat solide.

■ Le raffinat solide représente 50 à 56% de la matière sèche des graines. La teneur en lipides augmente légèrement avec le taux d'éthanol mais reste faible (5 à 7,6%). Il en est de même pour les protéines, mais ces dernières sont en proportion plus importante (6,3% à 12%). En effet, très peu de protéines sont extraites au filtrat hydroéthanolique à 75% d'éthanol. Cet extrudât est constitué majoritairement de constituants pariétaux (cellulose, hémicelluloses et lignines). La teneur en azadirachtine est faible et a tendance à diminuer avec le taux d'éthanol croissant (0,54 à 0,82 g/kg), ce qui correspond à 13,5 à 17,9% de l'azadirachtine contenue dans les graines.

Ainsi, le fractionnement des graines de neem dans l'extrudeur bi-vis par l'eau et les mélanges hydroéthanoliques conduit à un raffinat sous forme d'un extrudât constitué essentiellement de fibres, délipidé, partiellement déprotéiné et contenant très peu d'azadirachtine. Ceci témoigne d'une efficacité de ce procédé d'extraction.

■ Dans le filtrat brut, la matière sèche et la teneur en lipides (57% pour l'eau seule à 61% pour l'éthanol 75%) augmentent avec l'augmentation du taux d'éthanol dans le solvant. Ces lipides représentent 86 à 92% (92% dans le filtrat brut aqueux) des lipides des graines. La teneur en azadirachtine augmente avec le taux d'éthanol croissant dans le solvant (de 3,7 g/kg à 4,4

g/kg), soit entre 83 et 86% de l'azadirachtine de la graine. Cependant, les rendements en protéines y diminuent lorsque la proportion de l'éthanol dans le solvant augmente (de 74 à 44%). Dans tous les cas, le filtrat brut ne contient que très peu de fibres.

La centrifugation (2000 g pendant 10 min) du filtrat brut a conduit dans tous les cas à une séparation d'un filtrat clarifié et d'une phase insoluble dont les compositions et les rendements dans les différents constituants (lipides, protéines et azadirachtine) sont variables selon le taux d'éthanol dans le solvant.

- La phase insoluble séparée est une suspension très épaisse contenant de 35 à 39% du solvant introduit dans l'extrudeur. La teneur en lipides des phases insolubles diminue (de 52 à 32%) lorsque le taux d'éthanol augmente tant que l'eau reste le solvant majoritaire (jusqu'à 50% d'éthanol). Elle contient 24 à 48% des lipides de la graine. Les protéines constituent 15 et 19% de la matière sèche et représentent 33 à 47% des protéines de la graine. Cette phase contient 14 à 21% des constituants non lipidiques et non protéiques, et 10 à 13% de l'azadirachtine de la graine. Sa composition s'apparente ainsi à celle des amandes de neem broyées.
- Le filtrat clarifié obtenu est constitué essentiellement de solvant (77 à près de 86%), soit de 50 à 56% du solvant introduit dans l'extrudeur. Sa matière sèche diminue avec le taux d'éthanol dans le solvant de 22% (eau) à 14% (éthanol 75%) de matière sèche de la graine. La quantité de lipides dans cette phase augmente avec la proportion d'éthanol dans l'eau alors que celle en protéines diminue. Le filtrat clarifié contient 42 à 64% (45% dans le filtrat clarifié aqueux) des lipides de la graine et augmente avec le taux d'éthanol (entre 0 et 50% d'éthanol) et est de 34% dans l'éthanol à 75%. Ce filtrat clarifié contient jusqu'à 41% (33% dans le filtrat clarifié aqueux) des protéines de la graine et 69 à 77% (70% dans le filtrat clarifié aqueux) de l'azadirachtine de la graine.

L'homogénéisation sous haute pression (APV 1000, 2 cycles à 300 bars) des filtrats clarifiés, suivie d'une centrifugation (9000 g pendant 15 min) et d'une filtration (toile nylon maille 50 µm) ont conduit à la séparation d'une émulsion et d'une phase solvant.

- La proportion d'émulsion obtenue à partir du filtrat clarifié varie (de 19 à 35%) selon la proportion d'éthanol dans le solvant. Elle est constituée en majorité d'huile (62 à 83% de la matière sèche), représentant 66 à près de 100% des lipides du filtrat clarifié.

Cette émulsion concentrée est stabilisée par des protéines qui jouent le rôle de tensioactif et contient entre 32 et 54% de l'azadirachtine de la graine.

- La phase liquide solvant, constituée essentiellement du solvant d'extraction (6 à 8% de matière sèche) est de composition variable selon la proportion d'éthanol dans l'eau. Elle contient entre 10 et 42% de l'azadirachtine de la graine pour une quantité croissante d'éthanol et au plus 38% de lipides mais très peu de protéines dans tous les cas.

Pour les différents solvants étudiés, du point de vue de l'efficacité de l'extraction et de la séparation des constituants de la graine, l'eau seule s'est avérée être le meilleur solvant du fractionnement des graines de neem en extrudeur bi-vis.

L'étude du fractionnement des graines de neem par pressage et extraction par solvant en extrudeur bi-vis BC 21 a été mise en œuvre grâce à une configuration et un profil de vis adapté, définissant quatre zones dans le fourreau (alimentation en graines, trituration des graines et extraction solide-liquide et séparation solide-liquide).

■ **Le fractionnement des graines de neem par pressage et extraction aqueuse en extrudeur bi-vis** a montré que plus de 92% des lipides (32% sous forme d'une huile exprimée et 60% entraînés au filtrat aqueux d'extraction), 85% des protéines (dont la quasi-totalité dans le filtrat aqueux d'extraction) et 90% de l'azadirachtine des graines peuvent être extraits. L'extrudât est efficacement pressé et représente 44% de la matière sèche des graines. Sa teneur en lipides n'est plus que de 5,5% (moins de 8% des lipides de la graine), en protéines de 3,4% (moins de 15% des protéines de la graine) et en azadirachtine de 0,37 g/kg (9,5% de l'azadirachtine de la graine). Ces résultats témoignent d'une efficacité du procédé pressage-extraction, comparé à l'extraction directe.

Ainsi, outre le fait qu'elle permet d'obtenir une nouvelle fraction sous forme d'une huile brute de neem, la mise en œuvre de l'étape de pressage des graines dans l'extrudeur bi-vis, assure une meilleure efficacité de l'entraînement des protéines, des lipides ainsi que de l'azadirachtine par l'eau lors de l'étape d'extraction consécutive réalisée dans le même extrudeur bi-vis.

■ **Le fractionnement des graines de neem par pressage et extraction hydroéthanolique en extrudeur bi-vis** a également conduit, à l'exception des protéines, à des rendements en lipides (58%) et en azadirachtine (81%), légèrement supérieurs par comparaison à ceux obtenus en extraction directe sans étape de pressage en amont (55% et 80,7% respectivement

pour les lipides et l'azadirachtine). La comparaison des résultats du pressage/extraction hydroalcoolique à ceux du pressage/extraction aqueuse montre que l'introduction d'une part d'éthanol équivalente à l'eau pour l'étape d'extraction n'améliore pas les rendements.

Même si le fractionnement aqueux par extraction directe et celui par pressage-extraction conduisent à des rendements satisfaisants du filtrat aqueux, ces résultats pourront être améliorés par un essorage plus poussé de l'eau contenue dans la phase insoluble.

Le fractionnement des graines de neem pour la production d'huile, d'un extrait protéique, d'une émulsion riche en azadirachtine et d'une base d'agromateriau, réalisé en extrudeur bi-vis BC 21, dans les mêmes conditions que celles du fractionnement précédant, a permis de produire trois fractions :

- La fraction huile brute issue du pressage, après une séparation par centrifugation (4000 g, 10 min), a fourni une huile claire avec un rendement de 63% par rapport à l'huile brute recueillie, soit 20% des lipides de la graine. Le culot séparé est gras (61,5% de lipides), et contient 7% de lipides. Il pourra faire l'objet d'une extraction au solvant pour améliorer le rendement. Cette huile ne contenant pratiquement pas d'azadirachtine, elle peut avoir des applications dans des domaines tels que le cosmétique et la savonnerie, les solvants, la formulation d'émulsion, l'énergie, etc.

- La fraction filtrat brut de l'extraction aqueuse recueillie est un extrait contenant 49% de la matière sèche des graines et la séparation solide-liquide par centrifugation a conduit à un extrait phase insoluble et un extrait émulsion.

- L'extrait insoluble de graine de neem présente une matière sèche de 33,7% et contient 81,5% des protéines de la graine. Il est constitué de 32,4% de protéines, 15,3% de lipides et 0,7 g/kg MS d'azadirachtine. Compte tenu de cette teneur en azadirachtine, l'extrait insoluble peut être utilisé pour la protection des farines et tourteaux contre les ravageurs. Sachant que l'azadirachtine est dégradé par des traitements thermiques (> 60°C), des études préalables de stabilité devant être réalisées pour permettre de valider sa valorisation dans l'alimentation animale. D'autres voies de valorisation doivent aussi être étudiées comme celle des colles et résines à base de protéines végétales pour la production d'agromatériaux.
- L'extrait émulsion (ou filtrat clarifié) de graine de neem contient 72% de lipides (48% des lipides de la graine), 4% de protéines, peu d'autres constituants et l'essentiel de l'azadirachtine (79,4% de l'azadirachtine de la graine) avec une teneur de 5,8 g/kg de

matière sèche de l'émulsion. La décantation directe (3 heures), sans homogénéisation sous pression de cet extrait émulsion diluée issu de la séparation centrifuge (2000 g pendant 10 min) a permis d'obtenir une émulsion concentrée huile dans l'eau contenant 21% de lipides (près de 60% des lipides du filtrat clarifié) pour 65% d'eau. Cette émulsion concentrée contient 58% des protéines, 17% des autres constituants et 41% de l'azadirachtine du filtrat clarifié. Remarquons que le prétraitement de mélange du filtrat clarifié par agitation vigoureuse (ultraturax à 3000 rpm pendant 3 minutes) n'augmente pas la quantité d'émulsion obtenue. Ce prétraitement semble donc surtout favoriser la coalescence des gouttelettes lipidiques sous forme d'une émulsion eau dans l'huile (66,7% de lipides pour 32% d'eau).

L'étude du traitement du filtrat clarifié visant à l'optimisation de la séparation devrait permettre d'obtenir de nouveaux extraits du fractionnement des graines de neem en extrudeur bi-vis :

- Une émulsion concentrée qui pourrait trouver ses applications comme ingrédient dans la fabrication de crèmes et savons cosmétiques. Et la production d'une huile ou d'un concentré de protéines à partir du filtrat clarifié a été possible grâce à des essais de séparation triphasique.
- Un extrait riche en azadirachtine obtenu par concentration de la phase aqueuse tels que les essais de lyophilisation directe de filtrats clarifiés issus de l'extraction aqueuse et hydroalcoolique des graines de neem en extrudeur bi-vis et formation de poudres d'azadirachtine. Ce procédé de lyophilisation des filtrats clarifiés a été globalement rentable ; la quasi-totalité des protéines des filtrats (près de 100%) et l'essentiel de l'azadirachtine (88,5 à 93% de l'azadirachtine du filtrat clarifié) se retrouvent dans les poudres lyophilisées dans lesquelles l'azadirachtine est stable sur plusieurs mois à température ambiante.
- Une émulsion du type huile dans l'eau (20% de lipides pour 74% d'eau) est séparée par décantation (3 heures) à température ambiante et contient 73% de sa matière sèche, 80% des lipides, 52% des protéines, 57% des autres constituants et 80% de l'azadirachtine du filtrat clarifié. La poursuite de la décantation des lipides, quantitative au bout de 24 heures a conduit à une émulsion plus concentrée (92% de matière sèche extraite) constituée des 3/4 des protéines et 2/3 des autres constituants avec 78% d'azadirachtine. Cette voie a permis d'obtenir une émulsion dont la concentration en azadirachtine est de 6,4 g/kg de matière sèche (1,6 g/kg d'émulsion), mais celle obtenue par séparation centrifuge est plus concentrée en lipides (55% de lipides pour 35% d'eau) et en azadirachtine (4,2 g/kg d'émulsion). Cette

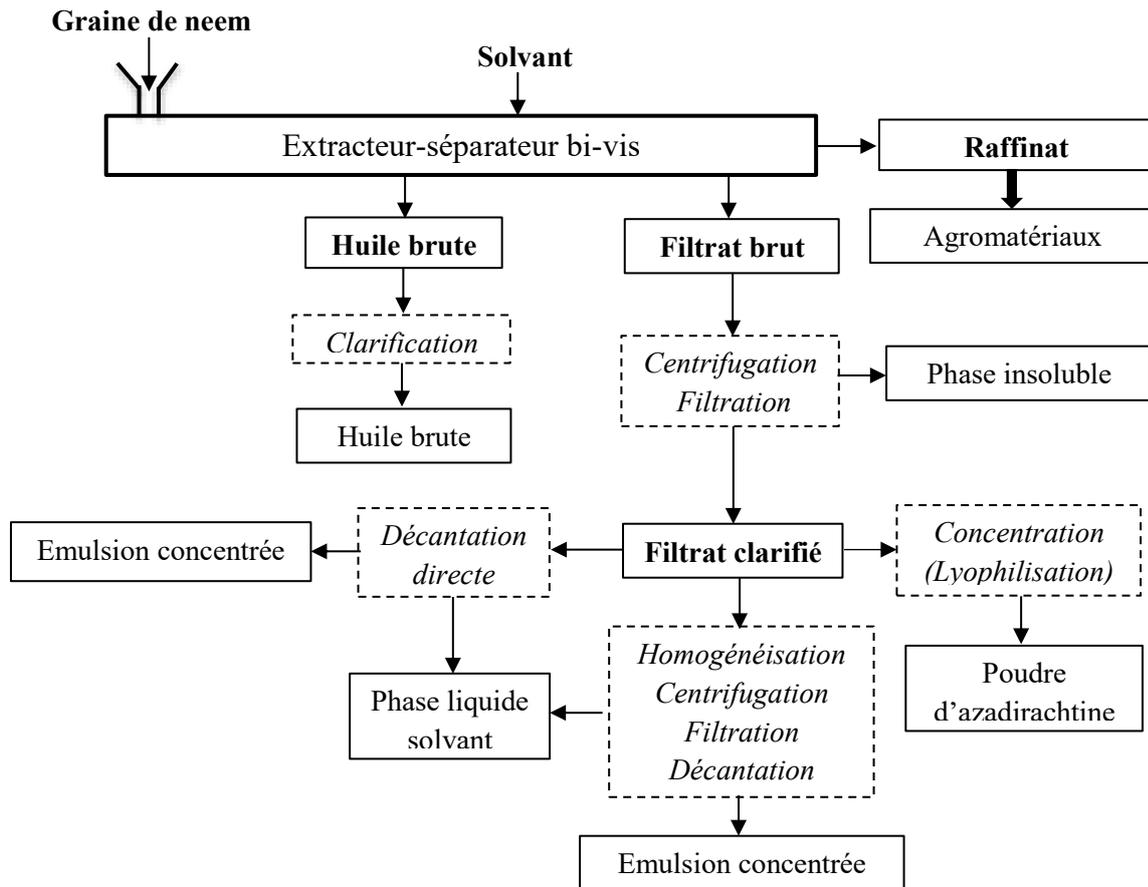
émulsion est stable à température ambiante, sans démixtion apparente jusqu'à 4 mois de stockage à 4°C avec un faible rythme de dégradation de l'azadirachtine.

■ La fraction raffinat solide des graines de neem est constituée par des particules de petite taille (87% des particules 250 µm et 1,6 mm). Sa masse sèche est composée essentiellement de fibres (près de 79%), très peu de lipides (6%), de protéines (3%) et d'azadirachtine (0,09 g/kg). Sa faible teneur en protéines et la présence de l'azadirachtine et éventuellement d'autres molécules actives responsables de l'amertume des graines de neem, nécessitant des traitements préalables de détoxification et de neutralisation de l'amertume, réduit les possibilités de son utilisation directe en alimentation animale. Ainsi, cette fraction raffinat d'extrusion a été étudiée pour son utilisation comme agromatériau.

Les essais de caractérisation de propriétés thermiques, thermomécaniques et du comportement vis-à-vis de l'eau ont permis de confirmer l'aptitude du raffinat à représenter un matériau d'intérêt et de définir les conditions du thermopressage des raffinats d'extrusion.

Les résultats obtenus à partir d'un plan d'expériences (matrice de Doehlert) montrent qu'entre 180 et 190°C, l'augmentation de la pression densifie le matériau. Toutefois, cet effet de la température est moins sensible au-delà de 200 kg/cm². Le module d'élasticité est surtout sensible à la pression du thermopressage.

Le fractionnement de la graine de neem pour la valorisation de ses constituants par bioraffinage est proposé selon le schéma simplifié suivant :



Au vue de l'ensemble de ces études, plusieurs points peuvent faire l'objet de poursuites de recherches ultérieures :

- L'étude d'un procédé de fractionnement des graines de dattier du désert notamment en extrudeur mono et bi-vis pour la production d'huile, d'un extrait émulsion et d'un tourteau.
- L'amélioration de ce procédé de fractionnement des graines de neem, en particulier sur :
 - L'étude de l'optimisation du fractionnement hydroéthanolique, surtout du ratio massique des mélanges eau-éthanol et des traitements du filtrat pour une meilleure séparation et concentration de l'azadirachtine dans les extraits finaux (émulsions et poudres).
 - L'étude des conditions de conservation des émulsions d'azadirachtine.
 - L'Analyse du Cycle de Vie de ce procédé de fractionnement ainsi que les produits obtenus afin d'évaluer l'impact environnemental.

PARTIE EXPERIMENTALE

V. PARTIE EXPERIMENTALE

V.1. Déterminations analytiques

V.1.1. Broyage de la matière végétale

Le broyage de la matière végétale est effectué à l'aide d'un broyeur à couteaux de type Ika Werke MF 10 basic, muni de tamis de mailles différentes. Selon la taille de particules préconisée, les tamis à maille de 0,5 mm, 1 mm et 2 mm sont utilisés.

V.1.2. Teneur en matière sèche, en eau et en Composés Organiques Volatils (COV)

La teneur en Matière Sèche (MS) est déterminée selon la norme française NF V 03-603. Elle correspond à la perte de masse subie par un échantillon d'environ 1 g après un séchage à l'étuve, à 103°C jusqu'à l'obtention d'une masse constante. La teneur en matière sèche est calculée selon la relation suivante :

$$MS = \frac{M_f - T}{M_i - T} \times 100$$

MS : Teneur en matière sèche (%);

M_f : Masse du creuset et de son contenu séché (en g);

M_i : Masse du creuset et de son contenu humide (en g);

T : Tare du creuset (en g).

Aussi exprimée en pourcentage massique, la teneur en eau, notée H se déduit de la valeur de la MS par la relation suivante :

$$H = 100 - MS$$

V.1.3. Teneur en matières minérales et en matières organiques

La teneur en matières minérales 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 3 heures conformément à la norme française NF V 03-922. Après incinération, on obtient des cendres blanches, gris-claires ou rougeâtres, visiblement dépourvues de charbon.

L'échantillon est ensuite refroidi dans un dessiccateur et pesé après l'atteinte de la température du laboratoire. La teneur en cendres se calcule selon la formule suivante :

$$MM = 100 \times \frac{M_f - T}{M_i - T}$$

MM : Teneur en matière minérale de l'échantillon par rapport à la matière sèche (%);

M_i : Masse du creuset et de son contenu sec (en g);

M_f : Masse du creuset et de son contenu après calcination en gramme (en g);

T : Tare du creuset (en g).

V.1.4. Teneur en huile des matières végétales

La teneur en huile des matières végétales est déterminée selon la méthode normée d'extraction au soxhlet, NF ISO 734-1. Le solvant d'extraction est le cyclohexane, celui-ci n'entraîne pas les constituants non oléagineux des graines, tels que les protéines et les fibres. Une quantité d'environ 30 g de matières 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 est introduit un volume de 200 mL de cyclohexane. La durée de l'extraction est de 6 heures minimum, durée considérée comme suffisante pour épuiser la matière de son potentiel lipidique.

La teneur en lipides est déterminée par la formule suivante :

$$\text{Huile (\% MS)} = 100 \times \frac{M_{bf} - M_{bi}}{M_{ech}}$$

M_{bi} : Masse du ballon à vide (en g);

M_{bf} : Masse du ballon contenant l'extrait lipidique (en g);

M_{ech} : Masse de l'échantillon sec contenue dans la cartouche (en g).

V.1.5. Teneur en huile des phases émulsions et « protéiques »

La teneur en huile des phases émulsions et des phases « protéiques » est déterminée par extraction au cyclohexane suivie d'une centrifugation. Une masse d'environ 2 g d'échantillon pesée dans un petit tube de centrifugation dans lequel un volume de 10 mL de cyclohexane y est ajouté. Le mélange est agité au vortex pendant 3 minutes et centrifugé à l'aide d'une centrifugeuse Sigma 6-16K à 3 000 g pendant 10 minutes. Trois extractions successives sont effectuées afin d'épuiser toute l'huile contenue dans les phases. Les trois extraits cyclohexaniques sont introduits dans un ballon, puis évaporés au rotavapor et l'huile est séchée dans une étuve à 50°C pendant 12 heures avant d'être pesée.

$$\text{Huile (\% MS)} = 100 \times \frac{M_{\text{bf}} - M_{\text{bi}}}{M_{\text{ech}}}$$

M_{bi} : Masse du ballon à vide (en g) ;

M_{bf} : Masse du ballon contenant l'extrait lipidique (en g) ;

M_{ech} : Masse de l'échantillon sec contenue dans la cartouche (en g).

V.1.6. Teneur en huile des poudres d'azadirachtine obtenues par lyophilisation

La teneur en huile des lyophilisats est déterminée par extraction au cyclohexane suivie d'une centrifugation. Une masse d'environ 5 g d'échantillon est pesée dans un petit tube de centrifugation dans lequel un volume de 10 mL de cyclohexane est ajouté. Le mélange est agité vigoureusement au vortex pendant trois minutes et centrifugé à l'aide d'une centrifugeuse Sigma 6-16K à 3 000 g pendant 10 minutes. Trois extractions successives sont réalisées afin d'épuiser toute l'huile contenue dans la poudre. Les trois extraits cyclohexaniques sont introduits dans un ballon, puis évaporés au rotavapor et l'huile est séchée dans une étuve à 50°C pendant 12 heures avant d'être pesée.

$$\text{Huile (\% MS)} = 100 \times \frac{M_{\text{bf}} - M_{\text{bi}}}{M_{\text{ech}}}$$

M_{bi} : Masse du ballon à vide (en g) ;

M_{bf} : Masse du ballon contenant l'extrait lipidique (en g) ;

M_{ech} : Masse de l'échantillon sec contenue dans la cartouche (en g).

V.1.7. Teneur en huile des phases «organiques» et «saturée en sel»

La teneur en huile de ces deux phases est déterminée par extraction liquide/liquide, au cyclohexane à l'aide d'une ampoule à décanter. Une masse d'environ 10 à 15 g d'échantillon est pesée puis introduite dans une ampoule à décanter. Ensuite, un volume d'environ 30 mL de cyclohexane y est ajouté et le mélange est agité vigoureusement puis laissé au repos. L'opération est répétée trois fois sur le même échantillon afin d'extraire tout son potentiel lipidique. Les trois extraits cyclohexaniques sont introduits dans un ballon, puis évaporés au rotavapor et l'huile est séchée dans une étuve à 50°C pendant 12 heures avant d'être pesée.

$$\text{Huile (\% MS)} = 100 \times \frac{M_{\text{bf}} - M_{\text{bi}}}{M_{\text{ech}}}$$

M_{bi} : Masse du ballon à vide (en g) ;

M_{bf} : Masse du ballon contenant l'extrait lipidique (en g) ;

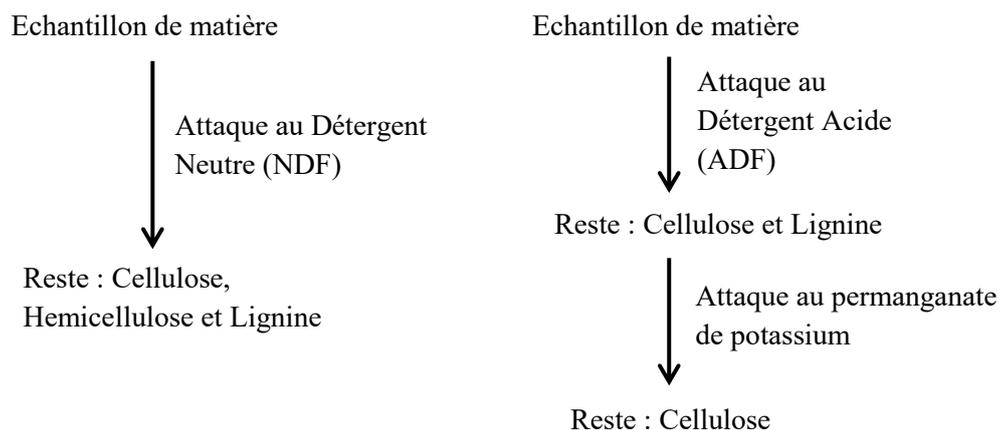
M_{ech} : Masse de l'échantillon sec contenue dans la cartouche (en g).

V.1.8. Teneur en fibres (constituants pariétaux) des solides

La méthode de Van Soest et Wine (Van Soest, 1963; Van Soest et Wine, 1967, 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 à 1,0 gramme de prise d'essai). Cette méthode gravimétrique se pratique dans des frittés spéciaux, de porosité 2 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 ($KMnO_4$) ;
- calcination des échantillons après les attaques NDF et au permanganate.

Ces différentes attaques sont réalisées dans un appareil de type Tecator Fibertec M1017 et peuvent être résumées dans le schéma suivant :



À 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 (Éthylène Diamine Tétra Acétate de sodium) et permet de solubiliser l'ensemble des constituants non pariétaux (protéines, pectines, etc.). La fraction organique du résidu insoluble représente alors la somme des constituants suivants : hémicelluloses, celluloses et lignines. 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 de chauffage 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 (Cétyl Triméthyl Ammonium Bromure) 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 effectuée 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 demi 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 :

$$C = 100 \times \frac{(M_{f3} - M_{f0}) \times (1 - \frac{MM_a}{100})}{(M_{f1} - M_{f0}) \times \frac{MS}{100}}$$

C : Teneur en celluloses par rapport à la matière sèche (%);

M_{f0} : Masse du fritté vide (en g);

M_{f1} : Masse du fritté contenant l'échantillon (en g);

M_{f3} : Masse du fritté sec après l'attaque de la lignine au permanganate de potassium (en g);

MS : Teneur en matière sèche de l'échantillon de départ (%);

MM_a : Teneur en matière minérale du résidu ADF (%).

$$L = 100 \times \frac{M_{f2} - M_{f3}}{(M_{f1} - M_{f0}) \times \frac{MS}{100}}$$

L : Teneur en lignines par rapport à la matière sèche (%);

M_{f2} : Masse du fritté sec après la réaction ADF (en g).

$$HC = 100 \times \frac{(M_{f2} - M_{f0}) - \frac{MS}{100} \times (M_{f1} - M_{f0}) \times \left(\frac{MM_{f0}}{100} + \frac{C}{100} + \frac{L}{100}\right)}{(M_{f1} - M_{f0}) \times \frac{MS}{100}}$$

HC : Teneur en hémicelluloses par rapport à la matière sèche de l'échantillon (%);

MM_n : Teneur en matière sèche du résidu NDF (%).

V.1.9. Teneur en protéines

La teneur en protéines est déterminée par la méthode du Kjeldahl selon la norme française NF V 18-100. Elle consiste en la détermination de la teneur en azote total (NTK) contenu dans l'échantillon pour obtenir un sel d'ammonium. En présence d'une solution alcaline, ce sel libère de l'ammoniac qui est ensuite piégé et quantifié par un dosage acido-basique.

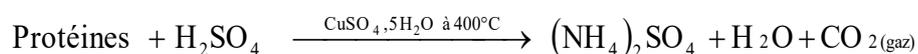
Par convention, la teneur en protéines de l'échantillon est alors obtenue en multipliant la teneur en azote total par un facteur de conversion empirique (F). Ce coefficient prend en compte la masse molaire moyenne des acides aminés composant les protéines à quantifier. Il est généralement fixé à 6,25 pour les matières végétales sur la base d'une teneur moyenne en azote dans les protéines de 16%. Dans le cas des graines de neem, ce coefficient calculé à partir de l'aminogramme est égal à 6,03 (Faye, 2010).

Cette analyse est réalisée à l'aide d'un appareil automatique composé d'un Analyseur Tecator-Foss Kjeltex 8400 et Passeur Kjeltex 8420 (**Figure V-1**) et consiste en la transformation par minéralisation de l'azote organique contenu dans l'échantillon traité (400 mg) en azote minéral (ammoniac) puis en un dosage acido-basique de cet ammoniac.

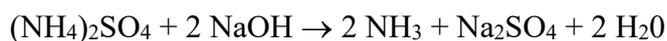


Figure V-1 : Photo de l'analyseur de protéines Kjeltec 8400 et Passeur Kjeltec 8420

■ La minéralisation de l'échantillon est réalisée grâce au bloc de minéralisation Tecator Digestor 2020. L'acide sulfurique (12,5 mL) utilisé est à 95% et la réaction est catalysée par deux pastilles de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ pendant environ une heure à 400°C . Au cours de cette minéralisation, les protéines contenues dans l'échantillon se transforment en sulfate d'ammonium en application de la réaction suivante :



■ L'alcalinisation dont le principe est de convertir l'ion ammonium (NH_4^+) en ammoniac (NH_3), grâce à l'action d'une base (NaOH), se fait selon la réaction suivante :



■ Le dosage de l'ammoniac se fait grâce au Tecator-Foss Kjeltec 8400. Après avoir installé les tubes dans le passeur Kjeltec 8420, l'analyseur Kjeltec 8400 délivre de l'eau distillée puis de la soude à 40% dans le tube pour transformer les ions ammonium en ammoniac. La distillation du contenu du tube permet d'entraîner à la vapeur l'ammoniac produit par l'ajout de soude, que l'on piège dans une solution d'acide borique à 1% colorée par un mélange indicateur (vert de bromocrésol et rouge de méthyle).

■ La quantité d'acide borique qui a servi à neutraliser l'ammoniac dégazé est compensée lors du dosage par de l'acide chlorhydrique titré à 0,1 N afin de revenir à la couleur de départ de l'acide borique-indicateur.

■ 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.

La teneur en azote totale est obtenue par la formule suivante :

$$\% \text{ N} = 100 \times \frac{(V_E - V_B) \times N \times 14,007}{M \times \frac{MS}{100}}$$

$$\% \text{ Protéines} = \text{N} \times \text{F}$$

V_E : Volume d'acide utilisé pour la titration de l'échantillon (en L) ;

V_B : Volume utilisé pour la titration du blanc (en L) ;

N : Normalité de l'acide chlorhydrique (mol.L^{-1}) ;

M : Masse de l'échantillon (en g) ;

MS : Teneur en matière sèche de l'échantillon (%) ;

F : Facteur de conversion de l'azote en protéines ($F=6,03$).

V.1.10. Teneur en composés polyphénoliques

L'extraction des polyphénols est effectuée sur les graines déshuilées et broyées à 0,5 mm. Une masse de 15 g d'échantillon est macérée dans 300 mL de méthanol à 80 % (v/v) pendant 24 heures sous agitation permanente. Après filtration, l'extrait hydrométhanolique est conservé au réfrigérateur pendant 48 h. Le dosage est effectué sur le filtrat selon la méthode de Folin-Ciocalteu, avec le réactif de Folin-Ciocalteu. Ce réactif est composé d'un mélange d'acide phosphotungstique et de l'acide phosphomolibdique. L'oxydation des phénols réduit ce réactif en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène. L'intensité de la couleur est proportionnelle au taux de composés phénoliques oxydés.

Dans des tubes à hydrolyse est introduit 1 mL de filtrat dans lesquels on ajoute, dans l'ordre, 0,5 mL de réactif de Folin, 7,5 mL d'eau distillée et 1 mL d'une solution de carbonate de sodium (Na_2CO_3). Après mélange, les tubes sont placés à 70°C pendant 10 min et refroidis à 20°C. L'absorbance est mesurée à 700 nm et les résultats sont exprimés à l'aide d'une courbe d'étalonnage de l'acide gallique. La teneur en polyphénols totaux est exprimée en mg Equivalent d'Acide Gallique (EAG) par gramme de matière sèche.

V.1.11. Teneur et composition en huile essentielle

▪ Extraction

L'extraction des composés volatils de la graine de neem est réalisée par hydro-distillation. Une masse de 100 g de graines broyées à l'aide d'un broyeur à lame est introduite dans le ballon de l'hydro distillateur contenant 1 L d'eau. L'ensemble est porté à ébullition pendant 6 heures. La fraction volatile obtenue est ensuite récupérée avec du pentane puis séchée par un flux d'azote gazeux selon la méthode préconisée par la pharmacopée française.

La teneur en huile essentielle (HE) est calculée selon la formule suivante :

$$\text{HE} = 100 \times \frac{M_h - M_v}{M_{\text{ech}}}$$

HE : Teneur en huile essentielle (%) ;

M_h : Masse du flacon contenant l'huile essentielle (en g) ;

M_v : Masse du flacon vide (en g) ;

M_{ech} : Masse sèche de l'échantillon (en g).

▪ Analyse

L'analyse est dans une première étape réalisée en CPG (Range 2) afin de déterminer les proportions des différents éléments de la fraction volatile de la graine de neem dans les conditions suivantes :

- Chromatographe Varian Star GC FID HP 5890 ;
- Colonne apolaire VF 5ms : Longueur : 30 m, diamètre 0,32 mm et film 1 µm ;
- Programmation de la température : température initiale 40°C, montée en température de 40°C à 280°C à raison de 5°C par minute (temps d'analyse 48 minutes). ;
- Volume injecté : 0,5 µL ;
- Injection : Split 1,50 mL/min ;
- Température d'injection : 200°C ;
- Pression de tête de colonne : 15 psi ;
- Détecteur : FID à 280°C.

L'identification des composés est effectuée en spectrométrie de masse (MS) à l'aide d'un appareil de type Agilent 5973 dans les mêmes conditions d'analyse qu'en GC.

V.1.12. Extraction, purification et quantification de l'azadirachtine

La détermination de la teneur en azadirachtine des graines, amandes et coques de neem a nécessité 3 étapes : l'extraction, la purification et l'analyse. Ce protocole opératoire est adapté des travaux d'extraction et de dosage d'azadirachtine (Govindachari *et al.*, 1990; Jarvis *et al.*, 1999; Johnson *et al.*, 1996; Johnson et Morgan, 1997; Kaushik, 2002; Kumar et Parmar, 1996; Rengasamy *et al.*, 1993; Silva *et al.*, 2007; Warthen *et al.*, 1984; Yakkundi *et al.*, 1995; Yamasaki *et al.*, 1986).

V.1.12.1. Extraction et purification pour la détermination des teneurs en azadirachtine des graines et des amandes

L'extraction est effectuée à l'aide d'un réacteur batch double enveloppe, muni d'un agitateur mécanique (**Figure V-2**). L'azadirachtine est extrait sur une masse d'environ 80 g de matière broyée à 1 mm, par un volume de 400 mL de méthanol absolu. Au total, trois extractions successives sont réalisées pour une durée totale de 12 heures (4 heures par extraction). Les extraits sont mélangés puis filtrés.



Figure V-2 : Photo du réacteur utilisé pour l'extraction de l'azadirachtine au solvant

L'extrait est ensuite déshuilé à l'aide d'une ampoule à décanter par un volume équivalent d'hexane. Cette opération est effectuée trois fois. Après délipidation, l'azadirachtine est extrait par du dichlorométhane. Cette opération est répétée trois fois afin d'extraire la totalité de l'azadirachtine contenu dans cette phase. L'extrait dichlorométhanique est concentré à sec

à l'aide d'un évaporateur rotatif dont la température du bain marie est fixée à 35°C. Le solide est repris par de l'acétonitrile puis dilué et filtré à l'aide d'un filtre PTFE 0,22 µm.

V.1.12.2. Extraction et purification de l'azadirachtine des amandes

Dans les essais d'extraction réalisés avec différents solvants, à partir de l'amande de neem, l'azadirachtine est extrait sur un échantillon de 50 g d'amandes broyées à différentes granulométries (0,5 mm, 1 mm, 2 mm) par 250 mL de méthanol absolu. La température d'extraction est fixée à 20°C, 30°C ou 40°C pour une durée de 3 heures et demi. L'extrait est séparé du raffinat solide par décantation puis filtration. Le filtrat est concentré sous vide à l'aide d'un évaporateur rotatif à 35°C jusqu'à un volume proche de 100 mL.

La purification des extraits est effectuée selon le type de solvant utilisé. L'extrait est dilué par un volume équivalent de méthanol dans le cas de l'extraction à l'eau, par un volume équivalent d'eau dans le cas de l'extraction au méthanol et à l'éthanol, par un volume équivalent d'un mélange éthanol-eau (v/v) dans le cas de l'extraction hydro-éthanolique et par un volume équivalent d'un mélange méthanol-eau (v/v) dans le cas de l'extraction à l'acétate d'éthyle, au cyclohexane et à l'hexane. L'extrait est déshuilé à l'aide d'une ampoule à décanter par un volume équivalent d'hexane. Cette opération est effectuée trois fois afin d'enlever toute l'huile contenue dans cette phase. L'azadirachtine est extrait par du dichlorométhane en trois extractions successives et concentré à sec à l'évaporateur rotatif à 35°C. Le solide est ensuite repris par de l'acétonitrile, dilué et filtré à l'aide d'un filtre PTFE 0,22 µm.

V.1.12.3. Extraction et purification de l'azadirachtine des phases insolubles

L'azadirachtine est extrait de la phase insoluble à l'aide d'un réacteur batch, sous agitation, à partir de 50 g d'échantillon par 80 mL de méthanol absolu. L'opération s'est réalisée en trois extractions successives de 3 heures chacune afin d'épuiser la quantité d'azadirachtine contenue dans la phase insoluble. Les extraits sont mélangés, décantés, dilués et filtrés à l'aide d'un filtre PTFE 0,22 µm.

V.1.12.4. Extraction et purification de l'azadirachtine des phases émulsions et « protéiques »

L'azadirachtine est extrait des phases émulsions et protéiques après la démixtion de celles-ci par du méthanol absolu. Une masse d'environ 2 à 4 g d'échantillon est exactement pesée dans

un petit tube de centrifugation à laquelle un volume de 10 mL de méthanol absolu y est ajouté.

Le mélange est ensuite homogénéisé à l'aide d'un vortex pendant 3 minutes, puis centrifugé à 3 000 g pendant 10 minutes à l'aide d'une centrifugeuse Sigma 6-16K. Cette opération est répétée trois fois afin d'épuiser la quantité d'azadirachtine contenue dans l'émulsion. Les extraits méthanoliques sont dilués puis filtrés à l'aide d'un filtre PTFE 0,22 µm.

V.1.12.5. Extraction et purification de l'azadirachtine des phases liquides solvant

La teneur en azadirachtine des phases liquides solvant est déterminée après extraction et purification. Un volume de 50 mL est mélangé avec un volume équivalent de méthanol absolu. Les extraits composés d'un mélange hydro-méthanolique sont dilués ensuite filtrés à l'aide d'un filtre PTFE 0,22 µm.

V.1.12.6. Extraction et purification de l'azadirachtine des poudres

L'azadirachtine est extrait des lyophilisats par du méthanol absolu. Une masse d'environ 3 g de lyophilisat est pesée avec précision dans un petit tube de centrifugation, dans laquelle un volume de 10 mL de méthanol est ajouté. Le tout est agité pendant trois minutes au vortex afin d'assurer au mieux le contact solide-liquide. L'échantillon est ensuite centrifugé à 3 000 g pendant 10 minutes à l'aide d'une centrifugeuse Sigma 6-16K. Cette opération est répétée très fois afin d'épuiser la quantité d'azadirachtine contenu dans le lyophilisat. Les extraits méthanoliques sont mélangés et purifiés puis filtrés à l'aide d'un filtre PTFE 0,22 µm.

V.1.12.7. Extraction et purification de l'azadirachtine des plaques thermopressées

L'extraction de l'azadirachtine est réalisée sur des plaques finement broyées. Une masse d'environ 5 g d'échantillon est introduit dans un petit tube de centrifugation. On y ajoute un volume de 10 mL de méthanol absolu. Le mélange est agité pendant trois minutes au vortex puis centrifugé à 3 000 g pendant 10 minutes à l'aide d'une centrifugeuse Sigma 6-16K. Cette opération est répétée trois fois afin d'épuiser la quantité d'azadirachtine contenue dans l'échantillon. Les extraits méthanoliques sont mélangés et purifiés puis filtrés à l'aide d'un filtre PTFE 0,22 µm.

V.1.12.8. Dosage des extraits d'azadirachtine

Les extraits d'azadirachtine purifiés et filtrés selon les méthodes citées plus, sont dosés en Chromatographie Liquide Haute Performance à l'aide d'un appareil Dionex Ultimate 3 000,

muni d'une colonne C18 (100 × 3 mm Omnispher 3 C18), maintenue à 30°C et d'un détecteur UV-visible. La longueur d'onde est maintenue à 215 nm. La phase mobile est constituée par un mélange acétonitrile-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 maintien à 65% pendant 5 minutes.

V.1.13. Détermination de la composition en acides gras des huiles

La composition en acides gras est déterminée par analyse des Esters Méthyliques d'Acides Gras (EMAG) en Chromatographie en Phase Gazeuse (CPG) selon la norme NF ISO 5508. Elle nécessite deux étapes : l'extraction et l'estérification des acides gras.

L'extraction des acides gras correspond à la solubilisation des triglycérides de 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 EMAG et faciliter la séparation. Pour cela, environ 15 mg d'huile extraite au soxhlet sont pesées dans un tube à essai et solubilisées par 1 mL de TBME (Tert Butyl Methyl Ether). Puis, à 100 µL de solution (huile + TBME) on ajoute 50 µL de TMSH (TriMéthyl Sulphonium Hydroxyde 0,5 M dans le méthanol). La réaction d'estérification 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 50 m, diamètre interne 0,25 mm, épaisseur de film 0,25 µm) ;
- Programmation de la température : 185°C pendant 40 minutes, puis montée en température de 185 à 250°C à raison de 15°C/min et en fin 250°C pendant 10,68 minutes (temps d'analyses 55,01 minutes) ;
- Injection : Split 1 : 100, 1 µL, 250°C pendant 55 minutes ;
- 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.1.13. Détermination de la composition en stérols des huiles

La détermination de la composition en phytostérols des huiles est réalisée en trois étapes : la saponification des composés saponifiables, l'extraction des insaponifiables et l'analyse.

▪ **Saponification**

Elle consiste au préalable à la préparation d'une solution d'étalon interne de Cholestanol 2 mg/mL dans le chloroforme. Ensuite 50 µL de la solution de cholestanol sont pesées dans un tube à vis de 10 mL. Après évaporation du chloroforme à température ambiante, on ajoute exactement 150 mg d'huile. La saponification est réalisée par ajout de 2 mL de KOH 1M dans l'éthanol suivie d'une agitation au vortex et d'un chauffage à 75°C au bain marie pendant 10 minutes.

▪ **Extraction de l'insaponifiable**

Après refroidissement du mélange réactionnel à température ambiante, un volume de 1 mL d'eau distillée y est ajouté et le tout est agité au vortex. Ensuite, un volume de 6 mL d'isohexane y est ajouté avant une nouvelle agitation au vortex. Après décantation (séparation des phases), la phase hexanique qui correspond à l'insaponifiable est récupérée dans un micro tube pour l'analyse en CPG.

▪ **Analyse**

Avant de procéder à l'analyse des insaponifiables, la silylation qui consiste à ajouter à 160 µL d'extrait insaponifiable avec 40 µL de réactif de silylation (1 mL MSHFBA : Méthyl Trimethyl Silyl Hepta FluoroButyr Amide + 50 µL 1 méthyl imidazole) est réalisée. Le mélange réactionnel est chauffé pendant 5 minutes à 103°C pour favoriser la silylation.

L'analyse est réalisée en CPG à l'aide d'un appareil de type Perkin Elmer dans les conditions suivantes :

- Colonne : CPSil 8 CB (Varian), longueur 30 m, diamètre 0,25 mm et film 0,25 µm ;
- Gaz vecteur : Hélium ;
- Pression en tête de colonne 100 KPa ;
- Injection on-column : 1µL ;
- Programmation de la température de l'injecteur : 55°C pendant 0,5 minute, puis montée en température de 55 à 340°C à raison de 200°C/min et 340°C pendant 30 minutes ;
- 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/min et 260°C pendant 5,5 minutes puis montée en température de 260 à 300°C à raison de 2°C/min ensuite maintien de la

température pendant 10 minutes à 300°C, enfin montée en température de 300 à 350°C à raison de 45°C/min et 350°C pendant 3 minutes ;

- Détecteur : FID à 365°C.

V.1.15. Détermination de la composition en tocophérols des huiles

Le dosage des tocophérols contenus dans l'huile de neem, par étalonnage externe, est effectué selon la norme EN ISO 9936. Les étalons utilisés sont le α , le γ et le δ -tocophérols. Environ 10 mg d'huile sont dilués dans 1 mL de cyclohexane. L'échantillon est analysé en HPLC dans les conditions chromatographiques suivantes :

- Chaîne HPLC Dionex ;
- Colonne : Kromasil 100 SIL 5 μ (250×4 mm) ;
- Eluant : Isooctane 99,5% / isopropanol 0,5% ;
- Débit : 1,1 mL/min ;
- Détecteur : Fluorimètre, $\lambda_{ex} = 290$ nm et $\lambda_{em} = 317$ nm.

V.1.16. Détermination de la composition en glycérides des huiles

La détermination du profil glycéridique est réalisée en deux étapes : la silylation des glycérides et leur analyse en CPG couplée à un détecteur à ionisation de flamme (FID).

▪ Silylation

Elle consiste à ajouter 5 mL de cyclohexane dans 5 mg d'huile. Ensuite un volume de 160 μ L de cette solution est additionné de 40 μ L de réactif de silylation (50 μ L de méthyl imidazole dans 1 mL de MSHFBA : N-Méthyl-N-Triméthyl Silyl-Hepta Fluoro Butyr Amide) et chauffé pendant 2 à 3 minutes à 103°C pour favoriser la silylation. L'intérêt de la silylation est de rendre les glycérides plus volatiles afin de faciliter la séparation en CPG.

▪ Analyse

L'analyse est réalisée en Chromatographie en Phase Gazeuse à l'aide d'un appareil de type Parkin Elmer dans les conditions suivantes :

- Colonne : CP Sil 8CB low bleed MS de Varian, longueur 15 m, diamètre interne 0,32 mm, épaisseur du film 0,25 μ m ;
- Gaz vecteur : Hélium. Pression en tête de colonne 15 psi ;
- Injection on column : 1 μ L, Température : 55°C pendant 0,5 min, puis 200°C/min jusqu'à 340°C et maintien à 340°C pendant 40 minutes ;

- Four : 55°C pendant 0,5 minute, augmentation à raison de 45°C/min jusqu'à 80°C, 10°C/min jusqu'à 360°C, et 360°C pendant 16 minutes ;
- Détecteur : FID à 365°C.

Les composés sont identifiés par comparaison de leurs temps de rétention à ceux des standards de référence et la quantification est effectuée par étalonnage externe.

V.1.17. Détermination de la composition en acides aminés des protéines

Le dosage des acides aminés contenus dans la graine de neem, est effectué selon la Norme Européenne. Le mode opératoire dépend des acides aminés à examiner. La cystéine et la méthionine doivent être oxydées pour devenir respectivement l'acide cystéique et de la méthionine sulfone avant hydrolyse. La tyrosine doit être dosée dans l'hydrolysât d'échantillons non oxydés. Les autres acides aminés peuvent être dosés soit dans un échantillon oxydé soit dans un échantillon non oxydé. Une prise d'essai contenant 10 mg d'azote, soit 319,5 mg d'échantillon déshuilé, broyé à 0,5 mm est mise dans un tube à hydrolyse. Dans ce tube est ajouté 1mL de HCl 6 N pour 10 mg de protéines, soit un volume de 6,24 mL d'acide. L'échantillon est ensuite placé à l'étuve à 103°C pendant 24 heures pour assurer l'hydrolyse totale. À la sortie de l'étuve, les tubes refroidis sont transvasés dans de petits béchers. Le pH est ajusté à 2,2 avec du NaOH à 30% et la solution est ensuite transvasée dans une fiole jaugée de 25 mL et complétée jusqu'au trait de jauge avec du tampon citrate à pH 2,2. Enfin, la solution est filtrée à l'aide de filtres PTFE 0,45 µm.

Ce filtrat est analysé en chromatographie liquide d'échange ionique à l'aide du Biochrom 30⁺ selon les conditions suivantes :

- Type de colonne : Colonne PEEK remplie avec résine échangeuse de cation ;
- Température colonne : 20 à 99°C ;
- Pression d'usage : 24 à 150 bars ;
- Volume d'injection : 1 à 5000 µL ;
- Détection : Photomètre 440 à 570 nm.

V.1.18. Détermination de la répartition granulométrique de l'extrudât (tourteau)

La répartition de la taille des particules du tourteau de graines de neem, obtenue après extrusion en bi-vis BC 21 est effectuée sur tamis vibrant de type Bioblock Scientific fabriqué par la société Retsch et équipé de tamis normalisés (ASTM). Une masse de 100 g d'échantillon est tamisée pendant 12 minutes à 70% de l'intensité maximale de vibration des

tamis. Les mesures sont répétées trois fois et la répartition granulométrique est déterminée à partir d'une moyenne des 3 essais.

V.1.19. Caractérisation physico-chimique des huiles

L'indice d'acide (I_a) est la masse (en mg) de potasse (KOH) nécessaire pour neutraliser les Acides Gras Libres (AGL) contenus dans 1 g de matière grasse. Il est déterminé selon la norme française AFNOR T60-204.

Une prise d'essai d'environ 1 g d'huile (pesée précisément) est dissoute dans 20 mL d'un mélange éthéro-éthanolique. Un essai blanc est effectué en même temps. L'acidité de l'huile est neutralisée par une solution de KOH d'environ 0,1 N.

L'indice d'acide est calculé selon la relation :

$$I_a = \frac{(V_1 - V_0) \times N \times M_{\text{KOH}}}{M}$$

I_a : Indice d'acide (mg.g^{-1}) ;

V_0 : Volume en mL de KOH pour l'essai blanc ;

V : Volume en mL de KOH pour le dosage ;

N : Titre de la potasse alcoolique en N ;

M : Masse en g de l'huile.

V.1.19.1. Détermination de l'indice d'acide

L'indice d'acide (I_a) est la masse (en mg) de potasse (KOH) nécessaire pour neutraliser les Acides Gras Libres (AGL) contenus dans 1 g de matière grasse. Il est déterminé selon la norme française AFNOR T60-204.

Une prise d'essai d'environ 1 g d'huile (pesée précisément) est dissoute dans 20 mL d'un mélange éthéro-éthanolique. Un essai blanc est effectué en même temps. L'acidité de l'huile est neutralisée par une solution de KOH d'environ 0,1 N.

L'indice d'acide est calculé selon la relation :

$$I_a = \frac{(V_1 - V_0) \times N \times M_{\text{KOH}}}{M}$$

I_a : Indice d'acide (mg.g^{-1}) ;

V_0 : Volume en mL de KOH pour l'essai blanc ;

V : Volume en mL de KOH pour le dosage ;

N : Titre de la potasse alcoolique en N ;

M : Masse en g de l'huile.

V.1.19.2. Détermination de l'indice de saponification

L'indice de saponification (I_s) est la masse (en mg) d'hydroxyde de potassium (KOH) nécessaire pour neutraliser les acides gras non estérifiés et saponifier les esters d'acides gras contenus dans un gramme de matière grasse. Il est déterminé selon la norme AFNOR T60-206.

Une prise d'essai d'environ 2 g dans laquelle est ajouté un volume de 25 mL de solution éthanolique de KOH, le tout est chauffé pendant une heure (temps nécessaire pour obtenir une saponification totale des acides gras). Le chauffage a pour but d'accélérer la réaction de saponification. Le mélange est ensuite neutralisé par une solution de HCl. L'essai blanc permet de déterminer par différence la quantité de KOH n'ayant pas réagi après la saponification des acides gras contenus dans l'échantillon. Il s'agit d'un dosage en retour.

L'indice de saponification est calculé selon la formule suivante :

$$I_s = \frac{(V_0 - V_1) \times N \times M_{\text{KOH}}}{M}$$

I_s : Indice de saponification (mg.g^{-1}) ;

V_0 : Volume en mL de solution de HCl utilisée pour l'essai blanc ;

V_1 : Volume en mL de la solution HCl utilisée pour la détermination ;

N : Titre exact de la solution d'acide chlorhydrique utilisé (mol.L^{-1}) ;

M_{KOH} : masse molaire du KOH ;

M : Masse en g de l'échantillon.

V.1.19.3. Détermination de l'indice d'iode

L'indice d'iode d'une huile est la masse (en mg) de diiode (I_2) capable de se fixer sur les insaturations (double liaison le plus souvent) des acides gras de 100 g d'huile. Il détermine le degré d'insaturation des acides gras d'une huile ou d'un corps gras. L'indice d'iode est déterminé selon la norme française AFNOR T60-203.

Une prise d'essai d'environ 0,2 g de corps gras dans laquelle sont ajoutés 25 mL de cyclohexane et 10 mL du réactif de Wijs. Le mélange est fermé puis agité avant d'être gardé à l'obscurité pendant 45 minutes. Un volume de 100 mL d'eau distillée et 15 mL d'iodure de potassium (KI) y sont ajoutés et remis à l'obscurité pendant quelques minutes. L'échantillon et l'essai blanc sont dosés par une solution de thiosulfate de sodium ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$) de concentration ($0,1 \text{ mol.L}^{-1}$). De l'empois d'amidon est ajouté en fin de titrage pour repérer

avec précision l'équivalence. C'est un dosage en retour. L'indice d'iode est calculé selon la relation :

$$I_i = \frac{(V_0 - V) \times N \times 12,69}{M}$$

I_i : Indice d'iode (mg I₂.100g⁻¹) ;

V₀ : Volume en mL de thiosulfate de sodium consommé pour le titrage du blanc ;

V : Volume en mL de thiosulfate de sodium consommé pour le titrage de l'échantillon ;

N : Normalité du thiosulfate de sodium (mol.L⁻¹) ;

M : Masse de l'échantillon (g).

V.1.19.4. Détermination de l'indice de peroxyde

L'indice de peroxyde (I_p) est une caractéristique qui donne le nombre d'oxygène actif dans les chaînes organiques (acides gras, monoglycérides, diglycérides) d'une huile ou d'un corps gras. Cet oxygène actif peut être sous forme d'époxyde ou sous forme d'hypoperoxyde. Il s'exprime en meq d'O₂/kg de corps gras. Il est déterminé selon la norme française AFNOR T60-220.

Une masse exactement connue, d'environ 2 g de corps gras est dissoute dans 25 mL d'un mélange de chloroforme et d'acide acétique, agité puis placé au placard pendant 5 minutes. Un volume de 75 mL d'eau est ensuite ajouté pour arrêter la réaction. L'échantillon et le blanc sont titrés immédiatement avec le thiosulfate de sodium jusqu'à disparition de la coloration violette. L'indice de peroxyde est calculé selon la relation suivante :

$$I_p = \frac{(V - V_0) \times 10}{M}$$

I_p : Indice de peroxyde (meq d'O₂.kg⁻¹) ;

V : Volume en mL de thiosulfate de l'échantillon ;

V₀ : Volume en mL de thiosulfate de l'essai blanc ;

M : Masse en g de l'échantillon.

V.1.19.5. Détermination de l'indice de cétane

L'indice de cétane est déterminé selon la méthode ASTM D 976, qui consiste à mesurer le délai d'inflammation ou d'allumage entre le début de l'injection et le début d'inflammation de l'huile utilisée comme carburant. Le principe consiste à déterminer la masse volumique de

l'échantillon à 15°C et les températures auxquelles 10%, 50% et 90% (en volume) de produits se sont condensés (points de distillation). Il est calculé selon la formule suivante :

$$I_{\text{cetane}} = 45,2 + 0,0892T_{10N} + (0,131 + 0,901B)T_{50N} + (0,0523 - 0,42B)T_{90N} \\ + 0,0049 [(T_{10N})^2 - (T_{90N})^2] + (107)(B) + 60(B)^2$$

$$T_{10N} = T_{10} - 215 \quad \text{avec } T_{10N} : \text{Point de distillation 10\% condensé (}^\circ\text{C)}$$

$$T_{50N} = T_{50} - 260 \quad T_{50N} : \text{Point de distillation 50\% condensé (}^\circ\text{C)}$$

$$T_{90N} = T_{90} - 260 \quad T_{90N} : \text{Point de distillation 90\% condensé (}^\circ\text{C)}$$

$$B = [e^{(-3,5)(DN)}]^{-1}$$

$$D_N = D - 850$$

D est la densité à 15°C en g.mL⁻¹

L'indice de cétane peut aussi être estimé selon la formule empirique suivante :

$$I_{\text{cetane}} = \frac{46,3 + 5458}{I_s - 0,225 \times I_i}$$

I_{cétane} : Indice de cétane ;

I_s : Indice de saponification (mg KOH.g⁻¹) ;

I_i : Indice d'iode (g I₂.100g⁻¹).

V.1.19.6. Détermination du facteur INS

Le facteur INS (*Iodine Number Saponification value*) représente la différence entre l'indice de saponification et l'indice d'iode. Il est déterminé par calcul selon la relation suivante :

$$\text{INS} = I_s - I_i$$

I_s : Indice de saponification (mg KOH.g⁻¹) ;

I_i : Indice d'iode (g I₂.100g⁻¹).

V.1.19.7. Détermination de l'indice de réfraction

L'indice de réfraction est une caractéristique physique qui permet de confirmer la pureté d'une matière ou d'une substance. Dans le cas de nos analyses, il est déterminé par lecture directe à l'aide d'un réfractomètre ABBE modèle RMT (EXACTA+OPTECH France 77646 CHELLES France).

V.1.19.8. Détermination de la densité

La densité est déterminée selon la norme AFNOR T60-214. Les densités des différents lots sont déterminées par la méthode de pesée à 25°C. L'eau prise comme référence est à 4°C (température à laquelle la masse volumique est égale 1000 kg /m³). La densité est calculée par la relation suivante :

$$d = \frac{M}{M_e}$$

M : masse de l'échantillon (g) ;

M_e : masse d'un même volume d'eau (g).

V.1.19.9. Détermination de la viscosité

La viscosité dynamique est la résistance à l'écoulement d'un liquide soumis à la pesanteur. Elle consiste à mesurer le temps d'écoulement par gravimétrie d'un volume d'huile donné dans un viscosimètre à capillaire de type Cannon-Fenske, calibré sous une charge de liquide reproductible et à une température contrôlée avec précision. Elle est déterminée selon la norme ASTM D 445 et calculée en multipliant le temps par la constante d'étalonnage du viscosimètre.

V.1.19.10. Détermination du pouvoir calorifique

Le pouvoir calorifique (PC) est l'énergie thermique libérée par une réaction de combustion d'un kilogramme de combustible. Il représente l'enthalpie de la réaction de combustion par unité de masse. Il existe deux types de pouvoir calorifique :

- Le Pouvoir Calorifique Supérieur (PCS) qui représente 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 (PCI) qui est l'énergie issue de la combustion sans tenir compte de la chaleur latente de vaporisation de l'eau.

Le pouvoir calorifique est calculé selon la relation suivante (Haidara, 1996) :

$$P_{CI} = 11380 - I_i - 9,15 \times I_s$$

P_{CI} : Pouvoir Calorifique Inférieur (kcal.kg⁻¹) ;

I_i : Indice d'iode (mg I₂.100g⁻¹) ;

I_s : Indice de saponification (mg.g⁻¹).

V.1.19.11. Détermination du point éclair

Le point éclair est la température la plus basse à laquelle la flamme provoque l'inflammation (ou flash) des vapeurs émises au-dessus de la prise d'essai avec propagation sur toute l'étendue de la surface du liquide, dans les conditions d'essai spécifiées. Il est déterminé selon la méthode ASTM D 93 à l'aide d'un appareil de type Pensky-Martens. La coupelle de l'appareil est chauffée uniformément et agitée dans les conditions normalisées. La présentation d'une flamme lors de l'ouverture de la trappe de la coupelle se fait à intervalle de temps réguliers.

V.1.19.12. Détermination du point d'écoulement et du point de congélation

Le point d'écoulement est la plus basse température à laquelle un produit peut couler encore lorsqu'il est refroidi dans des conditions normalisées. Le point de congélation est la température à laquelle le liquide congèle. Ces deux paramètres ont été déterminés selon la méthode normalisée ASTM D 97. L'échantillon préalablement chauffé est refroidi à une température déterminée et ses caractéristiques d'écoulement sont observées à intervalles de 3°C.

V.1.19.13. Détermination du point trouble

Le point trouble est la température à laquelle une huile commence à se cristalliser et à produire un trouble distinct, discernable à l'œil nu. Il est déterminé selon la méthode ASTM D 2500. L'échantillon est refroidi à une vitesse déterminée et est examiné périodiquement. La température à laquelle est observée la première apparition d'un trouble au fond du tube à essai est notée ; elle correspond au point trouble.

V.2. Fractionnement aqueux des amandes de dattier du désert en contacteur agité

V.2.1. Protocole du fractionnement

Le fractionnement des amandes de dattier du désert par extraction aqueuse est réalisé selon le schéma suivant :

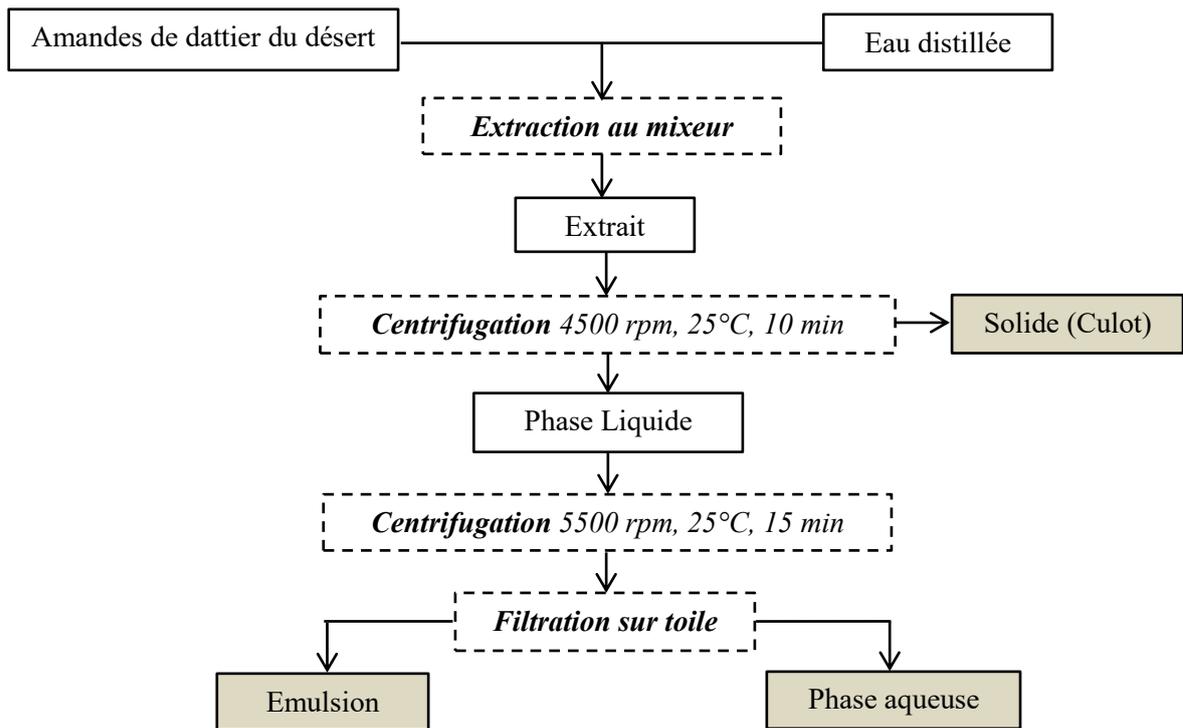


Figure V-3 : Schéma du fractionnement aqueux des amandes de dattier du désert au Mixeur

Le fractionnement comporte les étapes d'extraction et de séparation suivantes :

- Les amandes de dattier du désert sont broyées à 1 mm à l'aide d'un broyeur de type Retsch, équipé d'un tamis de maille 1 mm. Une masse égale à 100 g d'amandes broyées est mélangée à 400 g d'eau distillée, soit un ratio solide-liquide de 1/4. Le tout est introduit dans un mixeur de type GFR Blender équipé à sa base de quatre pales cisaillantes. La vitesse de rotation des pales est réglée à 80% de sa vitesse maximale pendant 5 minutes.
- Le mélange liquide-solide est centrifugé à une vitesse de 4500 rpm à 25°C pendant 10 minutes à l'aide d'une centrifugeuse Universal 16A afin d'isoler le culot de centrifugation qui constitue la phase solide. Le surnageant liquide est constitué du mélange émulsion-eau.
- Ce mélange est centrifugé une nouvelle fois pendant 15 minutes à une vitesse de 5500 rpm et à une température de 25°C.
- Les deux phases sont ensuite séparées par filtration sur une toile. Le perméat constitue la phase aqueuse alors que la phase émulsion est retenue sur la toile.

V.2.2. Détermination des teneurs en lipides des phases émulsion et solide

La teneur en lipides des phases émulsion et solide est déterminée par extraction avec du cyclohexane suivie d'une centrifugation. Une masse d'environ 2 g de l'échantillon est pesée

dans un petit tube de centrifugation. Un volume de 10 mL de cyclohexane y est ajouté. Le mélange est agité au vortex pendant 3 minutes puis centrifugé à l'aide d'une centrifugeuse de type Universelle 16A à 3 000 rpm pendant 10 minutes. Trois extractions successives sont réalisées afin d'épuiser tous les lipides contenus dans les phases. Les trois extraits cyclohexaniques sont introduits dans un ballon, puis évaporés au rotavapor et l'huile est séchée dans une étuve à 50°C pendant 12 heures avant d'être pesée.

$$\text{Huile (\% MS)} = 100 \times \frac{M_{bf} - M_{bi}}{M_{ech}}$$

M_{bi} : Masse du ballon à vide (en g) ;

M_{bf} : Masse du ballon contenant l'extrait lipidique (en g) ;

M_{ech} : Masse de l'échantillon sec contenue dans la cartouche (en g).

V.3. Mise en œuvre de l'extrudeur bi-vis de type Clextral BC 21

V.3.1. Description de l'extrudeur bi-vis BC 21

L'extrudeur bi-vis mis en œuvre pour le fractionnement des graines de neem (extraction par solvant, et pressage de l'huile et extraction au solvant) est de type BC 21, fabriqué par la société Clextral. Il est constitué de 2 vis co-rotatives et co-pénétrantes, tournant dans le même sens et à la même vitesse. Ces vis sont portées par deux arbres parallèles dont les centres sont séparés de 21 mm. Le fourreau, en acier inoxydable est constitué de 7 modules de longueur 10 cm chacun. Ces modules sont numérotés de 1 à 7 à partir du module d'alimentation. Le Module 1 est ouvert vers le haut pour assurer l'alimentation en solide et le Module 6 vers le bas pour permettre l'écoulement du filtrat brut. Ces deux modules ne sont pas thermorégulés. Les cinq autres modules sont thermorégulés grâce à un système de chauffage par induction, assuré par des colliers chauffants et un système de refroidissement assuré par une circulation d'eau conduite par des électrovannes. Le moteur présente les caractéristiques suivantes :

- Puissance : 8,5 kW ;
- Vitesse maximale 2 000 rpm ;
- Vitesse d'entraînement des vis : 682 rpm.

V.3.2. Description des périphériques de l'extrudeur Clextral BC 21

V.3.2.1. L'armoire électrique

L'appareil est piloté à partir de l'armoire de commande à l'aide du logiciel Terminal Operator Intouch version 1.00 qui permet de régler les paramètres de fonctionnement de la bi-vis : la vitesse des vis, le débit d'alimentation en solide, les consignes de température des modules constituant le fourreau, etc. En plus de cela, l'armoire de commande indique des paramètres de l'extracteur pendant le fonctionnement (ampérage, vitesse de rotation des vis et les températures). Les caractéristiques techniques de l'armoire électrique sont les suivantes :

- Dimensions (en mm) : $2400 \times 670 \times 2350$;
- Poids : 500 kg ;
- Tension d'alimentation : 400 V – 50 Hz ;
- Intensité installée par phase : 80 A ;
- Débit d'air (ventilation) : 3340 m³/h.

V.3.2.2. Le doseur d'alimentation en solide

L'alimentation en solide est effectuée par un doseur pondéral qui débite le solide par entraînement grâce à une vis. Le débit est réglé grâce à une boîte de commande qui module la vitesse de rotation de la vis. Les caractéristiques du doseur sont les suivantes :

- Fabricant : K-TRON SODER ;
- Type : KCL-KT20 ;
- Volume de la trémie d'alimentation : 12 L ;
- Fréquence (vitesse de rotation des vis) maximale : 87 Hz.

V.3.2.3. La pompe d'alimentation du solvant

Le solvant est introduit dans l'extracteur grâce à une pompe volumétrique dont les caractéristiques sont les suivantes :

- Fabricant : KDM ;
- Type : K20-2 KAMP 112/16 ;
- Débit maximal : 20 L/h.

V.3.3. Mise en œuvre de l'extrudeur bi-vis de type Clextral BC 21

La mise en œuvre de l'extrudeur a consisté à :

- 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 la vitesse de rotation des vis et le débit d'alimentation en graines jusqu'aux valeurs souhaitées ;
- S'assurer que le(s) filtrat(s) d'expression s'écoule(nt) librement par les pores du (des) module(s) de filtration ;
- Injecter l'eau déminéralisée et augmenter doucement le débit jusqu'à la valeur souhaitée ;
- 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 (5 à 10 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 10 minutes pour chaque essai.

V.3.4. Lyophilisation des filtrats clarifiés

Le séchage par lyophilisation est réalisés à partir des filtrats clarifiés hydro-éthanolique et aqueux dont les compositions sont consignés dans le **Tableau V-1**. Les échantillons hydro-éthanolique ont subi une évaporation partielle de l'éthanol afin de faciliter sa congélation pendant la lyophilisation. Les échantillons sont séchés dans un lyophilisateur de type Cryonext. Le séchage par lyophilisation comporte deux phases : une congélation et une sublimation.

La phase de congélation a consisté à une diminution de la température jusqu'à -40°C avec une rampe de congélation de $-5^{\circ}\text{C}/\text{min}$, un palier de 5 min à -40°C , puis une augmentation jusqu'à 20°C avec une rampe de $0,1^{\circ}\text{C}/\text{min}$ afin de permettre la sublimation du liquide congelé. Le vide de la lyophilisation primaire est de 0,296 mbar et de 1,995 mbar lors de l'augmentation de la température.

V.3.5. Précipitation et séparation des protéines du filtrat par la méthode de séparation triphasique ou « *three phase partitioning* »

Une masse de 15 g (environ 15 mL) du filtrât est introduite dans un petit tube de centrifugation. Ensuite, 4,5 g de chlorure de sodium (30% par rapport à la masse de l'échantillon) sont ajoutés à cette phase. Le mélange est agité au vortex pendant 15 à 20 secondes. Un volume de 15 mL de butanol est ajouté et agité légèrement avant d'être placé au bain marie à 30°C pendant 3 heures. Après les trois heures d'incubation, les échantillons présentent une séparation en trois phases.

V.4. Mise en forme du raffinat d'extrusion des graines de neem en agromatériaux par thermopressage

La thermopresse mise en œuvre pour la fabrication des plaques est une presse hydraulique de type MAPA 50, fabriqué par la société Pinettes Emidecau Industries (**Figure V-4**). Elle est commandée par le logiciel Nemrodw et présente les caractéristiques techniques suivantes :

- Force : 500 kN (50 tonnes) ;
- Tension : 3×400 V ;
- Puissance installée : 21 kW ;
- Pression maximale : 300 bars.

Le moule utilisé pour la mise en forme des plaques est cubique, de dimensions 5 cm.

La mise en forme des plaques s'effectue en plusieurs étapes : la mise en température du moule (par conduction des plaques de la thermopresse au moule), le remplissage du moule, la fermeture du moule, la montée en pression à une vitesse de 10 bars/seconde, le maintien de la pression de consigne, la détente à une vitesse de 2 bars/seconde, l'ouverture du moule et le démoulage.

Les plaques refroidies, puis découpées en éprouvettes de dimension 5 cm x 1 cm sont conditionnées en enceinte climatique 60% d'humidité relative à 25°C pendant au moins une semaine avant d'être caractérisées.



Figure V-4 : Photo de la thermopresse MAPA 50

V.5. Caractéristiques physico-chimiques et mécaniques des matériaux

V.5.1. Densité mesurée des éprouvettes du matériau thermopressé

La densité des éprouvettes préalablement équilibrées est déterminée en mesurant leurs trois dimensions à l'aide d'un vernier et par pesée. La densité moyenne est déterminée sur trois valeurs pour chaque série d'éprouvettes.

V.5.2. Densité apparente en immersion au cyclohexane

Les mesures de densité en immersion au cyclohexane sont effectuées en triplicat sur des morceaux d'éprouvette de chaque série. L'appareil utilisé est une balance *Sartorius*, ayant une précision de 0,01 mg et munie d'un accessoire spécifique de pesée (représenté ci-dessous à droite).



La masse volumique déterminée à l'aide de cette balance utilise le principe d'Archimède. En effet, un solide immergé dans un liquide est soumis à la force appelée poussée hydrostatique. La valeur de cette force est égale au poids du volume du liquide déplacé par l'échantillon (solide).

Avec une balance hydrostatique qui permet d'effectuer aussi bien les pesées dans l'air (coupelle supérieure de l'accessoire de pesée) que dans le cyclohexane, il est possible de déterminer la masse volumique d'un solide (ρ) si l'on connaît la masse volumique du liquide (ρ_l) provoquant cette poussée hydrostatique (G) :

$$\rho = \frac{W(a) \times \rho_l}{W(a) - W(l)} \quad ; \quad G = W(a) - W(l)$$

Avec $W(a)$ et $W(l)$, respectivement les poids du solide dans l'air et dans le liquide (cyclohexane).

La balance est d'abord tarée, puis l'échantillon est placé sur le plateau supérieur de la structure de suspension et sa masse mesurée est notée. Ensuite, la balance est à nouveau tarée et l'échantillon est placé délicatement dans le support immergé. La masse est notée après 2 minutes d'immersion.

V.5.3. Reprise d'eau en immersion

Cette analyse présente un double intérêt. Il permet de vérifier la tenue d'un matériau en immersion dans l'eau de façon strictement visuelle. Elle permet aussi de quantifier l'eau qu'un matériau peut absorber.

La reprise en eau est évaluée en trois essais sur des éprouvettes de flexion équilibrée, de masse et de matière sèche connues. Ces éprouvettes sont immergées dans 30 mL d'eau distillée pendant 6 heures à 25°C. Puis, elles sont déposées brièvement sur un papier absorbant pour éliminer l'excédent d'eau en surface avant d'être pesées. La reprise en eau est estimée par différence.

V.5.4. Essais de flexion

Les éprouvettes de flexion sont équilibrées en enceinte climatiques à 25°C et 60% d'humidité relative pendant au moins une semaine conformément à la norme ISO 178.

Lors les essais de flexion, l'appareil utilisé est un banc d'essai JFC modèle H5KT. Le logiciel Q.MAT 4.53 permet à la fois de consigner les paramètres d'essais, d'acquérir et de traiter les données.

Le banc d'essai est alors équipé d'un module de flexion trois points et d'une cellule de force 100 N. L'écartement entre les deux points d'appui de l'éprouvette est de 30 mm. Le point de compression s'appuie à une vitesse de 3 mm/min sur l'éprouvette.

Le logiciel Q.MAT 4.53 calcule le module d'élasticité (σ_f) et la contrainte à la rupture en flexion (E_f) selon les équations suivantes :

$$\sigma_f = \frac{3 \times L}{2 \times b \times e^2} \times F_{\text{rupture}}$$

F_{rupture} : charge à la rupture ;

L : distance entre les points d'appui ;

b : largeur de l'éprouvette barre de flexion ;

e : épaisseur de l'éprouvette barre de flexion.

$$E_f = \frac{L^3}{4 \times b \times e^3} \times \frac{F_2 - F_1}{a_2 - a_1}$$

F_i est la force mesurée pour une déformation a_i .

V.5.5. Analyse enthalpie différentielle

L'analyse enthalpie différentielle (DSC) permet d'évaluer l'état de dénaturation des protéines dans les solides réduits sous forme de poudre par broyage. L'appareil mis en œuvre est un calorimètre de type Perkin Elmer Pyris 1. Il est constitué de deux fours en platine placés dans le même environnement isotherme. Le gaz de purge utilisé est de l'azote gazeux à un débit de 20 mL/min. Le calorimètre est également équipé d'un système de refroidissement Perkin Elmer Intracooler permettant d'atteindre une température minimale dans les fours de -65°C. La calibration en température et en énergie (chaleur molaire) est effectuée avant chaque campagne d'analyses à l'aide d'échantillons d'eau et d'Indium (respectivement 0,0°C et 156,6°C pour les températures de fusion).

Les échantillons analysés sont équilibrés en enceinte climatique (60 % d'humidité relative à 25°C) pendant deux semaines et leur humidité déterminée avant l'analyse. Ce qui permet d'éviter toute perte d'eau pendant la mesure. La prise d'essai de 10 à 20 mg environ est conditionnée dans des capsules hermétiques en acier de 60 μ L et serties avec un joint torique en caoutchouc autorisant une pression interne de 40 bars.

L'échantillon est positionné dans l'un des fours, l'autre four accueillant une capsule vide. Les deux fours sont chauffés à la même vitesse et suivant une rampe de température linéaire de 10°C/min, de 50 à 200°C. La différence de puissance (ΔW) à fournir aux deux fours pour les maintenir à la même température (T) est le signal collecté.

Une ligne de base est également soustraite aux spectres. Elle est obtenue en réalisant un balayage du domaine de température avec une capsule de mesure vide dans chaque four.

Le logiciel Pyris permet l'acquisition des grandeurs expérimentales mesurées et le traitement des thermogrammes afin de déterminer les températures de dénaturation (T_d) des protéines et les énergies nécessaires à cette transformation (enthalpies de dénaturation) (ΔH).

V.5.6. Analyse thermique mécanique dynamique des solides

Les analyses thermiques mécaniques dynamiques sont réalisées grâce à l'appareil Triton *Dynamic Mechanical Analysis* (DMA), piloté par le logiciel DMA Triton qui permet également de traiter les spectres mécaniques dynamiques (températures de relaxation, comparaison de spectres, etc.).

Cette technologie permet à la fois d'étudier le comportement thermique et mécanique dynamique aussi bien pour des poudres que pour des éprouvettes. Dans tous les cas, le matériau est d'abord déshydraté (2 à 3 jours en dessiccation sous vide à 60°C en présence de P_2O_5) avant d'être fixé dans le système de flexion 2 points (une fixation reste immobile tandis que l'autre oscille).

La poudre est placée dans une petite pochette métallique, inerte d'un point de vue des relaxations, dont les dimensions sont approximativement : 30 mm \times 7 mm \times 1,3 mm. Les éprouvettes analysées ont approximativement une longueur de 25 mm, une largeur de 10 mm et une épaisseur de 2,7 mm.

L'analyse est réalisée en multifréquence (1 Hz, 5 Hz et 10 Hz), le mors mobile, distant de 5 mm du mors fixe, se déplace d'une amplitude de 50 μ m. La plage de température est portée de -50°C à 250°C, en raison de 3°C/min.

V.5.7. Isotherme d'adsorption

Cette analyse est pratiquée de façon manuelle ou automatiquement grâce à l'appareil Dynamic Vapor Sorption (SMS, Grande Bretagne), selon la norme française NF X 15-014.

Elle permet de mesurer la masse d'eau atmosphérique adsorbée par les échantillons à analyser jusqu'à leur équilibre.

Les échantillons ont été préalablement équilibrés en enceinte climatique (60 % d'humidité relative à 25°C) pendant deux semaines. La masse et la teneur en matières sèches de chaque échantillon sont connues.

La reprise en eau est évaluée par conditionnement des échantillons pendant trois semaines dans une enceinte climatique contenant une solution saline saturée de chlorure de potassium qui lui confère une humidité relative de 85 % à 25°C dans l'espace libre de l'enceinte (norme française NF X 15-014). Afin d'éviter la prolifération de micro-organismes, une petite quantité de thymol cristallisé est également placée dans l'enceinte.

Lorsque les échantillons sont enfin équilibrés (environ trois semaines), ils sont pesés de nouveau. La masse d'eau adsorbée est alors calculée en fonction de l'activité de l'eau (a_w), à l'isotherme 25°C : $a_w = 0,60$ pour une humidité relative de 60 % puis $a_w = 0,85$ pour une humidité relative de 85 %. La reprise en eau est exprimée en pourcentage de matière sèche.

V.5.8. Analyse thermogravimétrique (ATG)

Les analyses sont effectuées sur des échantillons broyés finement et équilibrés. Elles sont réalisées à l'aide d'une thermobalance de type TGA-50 Series, sous air selon la montée de température à 5°C/min, de l'ambiante jusqu'à 750°C sous air. Les acquisitions ont lieu pendant la montée en température.

ANNEXES

ANNEXES

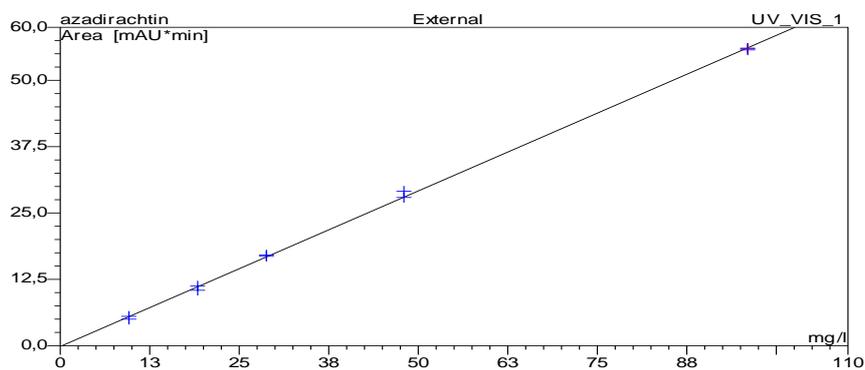


Figure AE-1 : Droite d'étalonnage HPLC de l'azadirachtine

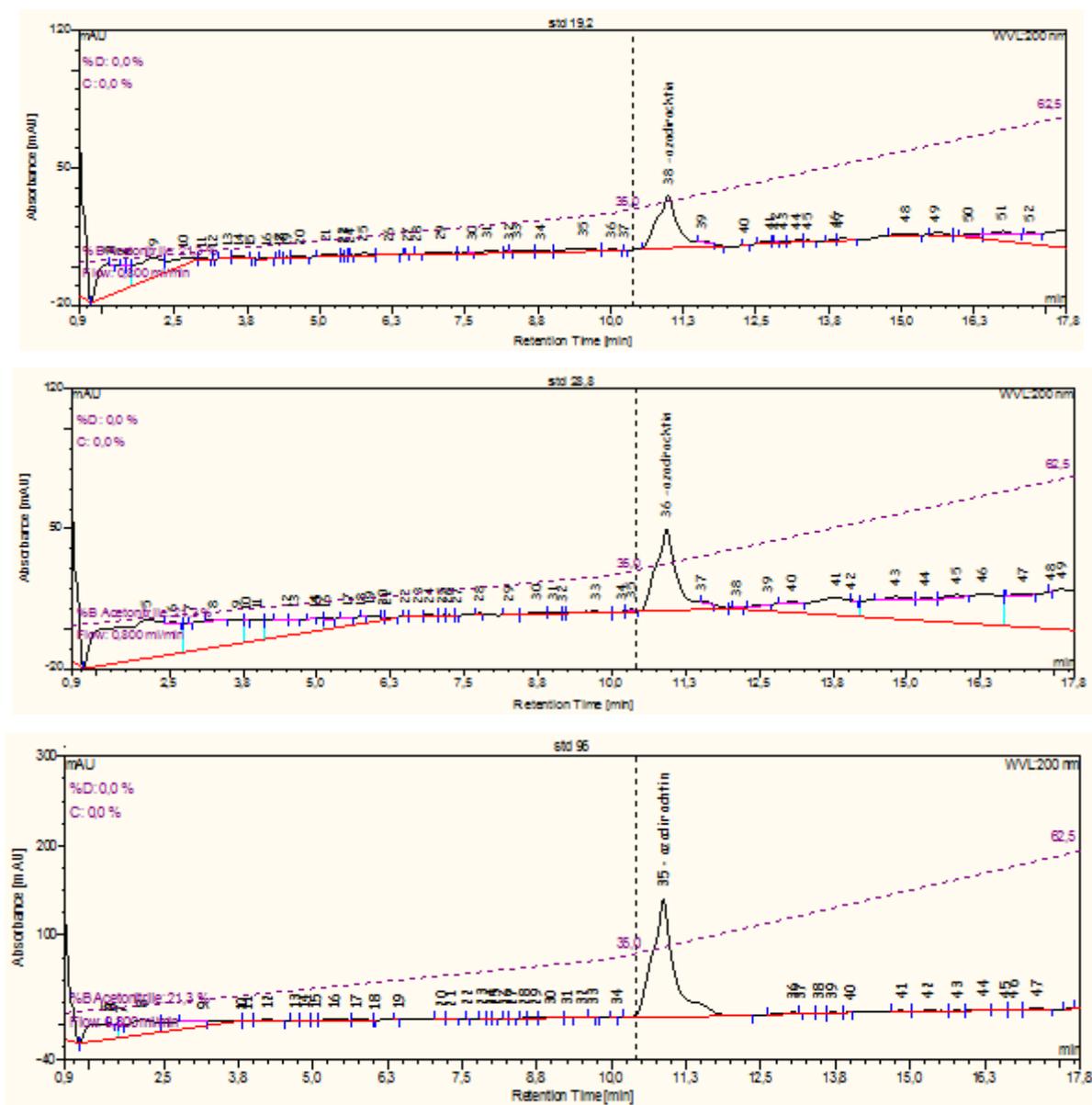
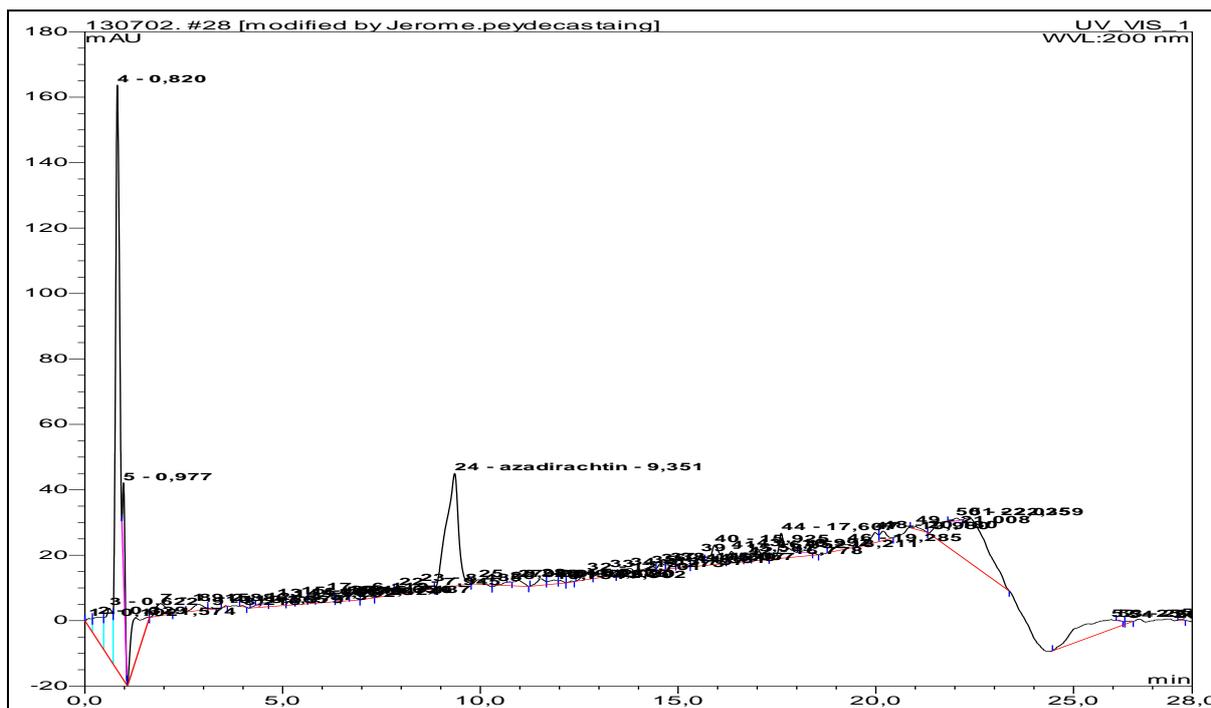
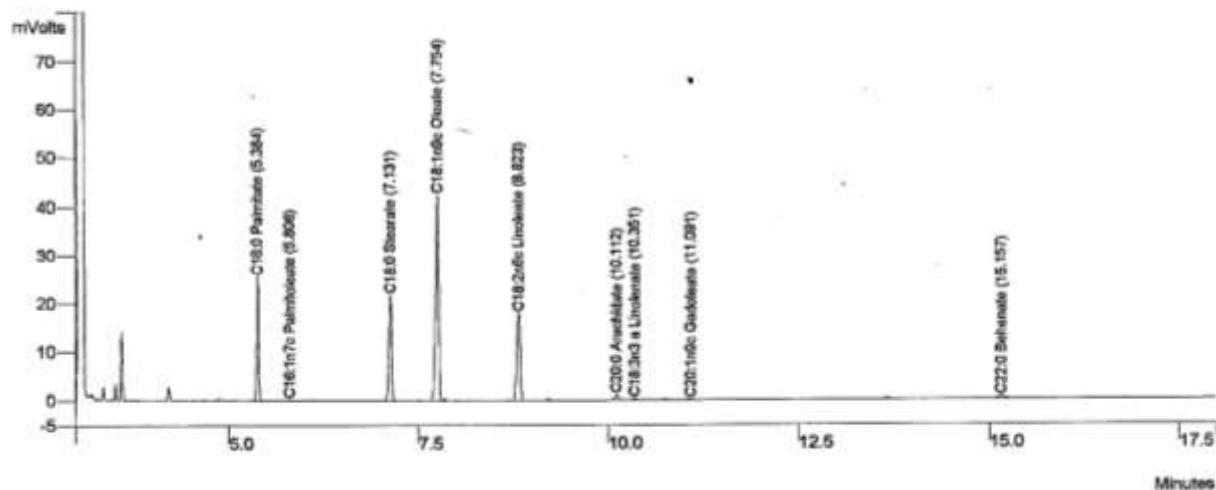


Figure AE-2 : Chromatogramme des étalons (19,2 ; 28,8 et 96 mg.L⁻¹) d'azadirachtine



Composition en acides gras

Data File: c:\star\gc3900 firme\muric\data\121011\ncem\ncem sox.run Instrument (Inj): GC3900 FAME
 Injection Date: 10/11/2012 12:15:45 **Sample ID: Neem Sox**
 Injection Method: c:\star\gc3900 firme\muric\mfame30.mth

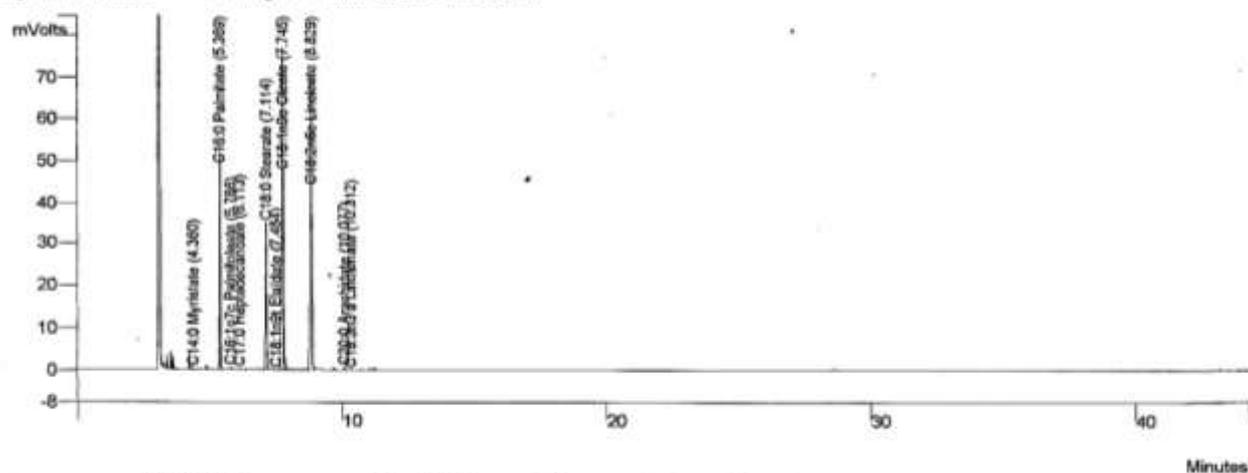


Peak Name	Result (%)	Ret. Time (min)	Area (counts)	Group
C16:0 Palmitate	15.71	5.384	44053	1
C16:1n7c Palmitoleate	0.12	5.806	331	1
C18:0 Stearate	18.38	7.131	51536	1
C18:1n9c Oleate	41.42	7.754	116161	1
C18:2n6c Linoleate	19.28	8.823	54069	1
C20:0 Arachidate	1.32	10.112	3690	1
C18:3n3 a Linolenate	0.43	10.351	1202	1
C20:1n9c Gadoleate	0.09	11.091	251	1
C22:0 Behenate	1.13	15.157	3157	1
Totals for Group 1	97.88		274450	
Totals	97.88		274450	

Figure AE-5 : Chromatogramme des acides gras de l'huile de neem

Composition en acides gras

Data File: c:\star\gc3900 fame\murie\data\130506djibril\balanites1.run Instrument (Inj): GC3900 FAME
 Injection Date: 05/07/2013 01:59:54 Sample ID: balanites1
 Injection Method: c:\star\gc3900 fame\murie\lame55.mth



Peak Name	Result (%)	Ret. Time (min)	Area (counts)	Group
C14:0 Myristate	0.18	4.360	1259	1
C16:0 Palmitate	13.19	5.369	94442	1
C16:1n7c Palmitoleate	0.17	5.786	1252	1
C17:0 Heptadecanoate	0.11	6.113	802	1
C18:0 Stearate	12.81	7.114	91673	1
C18:1n9t Elaidate	0.08	7.484	575	1
C18:1n9c Oleate	32.98	7.745	236053	1
C18:2n6c Linoleate	36.08	8.829	258228	1
C20:0 Arachidate	0.36	10.077	2605	1
C18:3n3 s Linolenate	0.04	10.312	312	1
Totals for Group 1	96.00		687201	
Totals	96.00		687201	

Figure AE-6 : Chromatogramme des acides gras de l'huile de dattier du désert

Dosage acides gras et glycérides

Data File: c:\star\data\murief\voies\neem.run

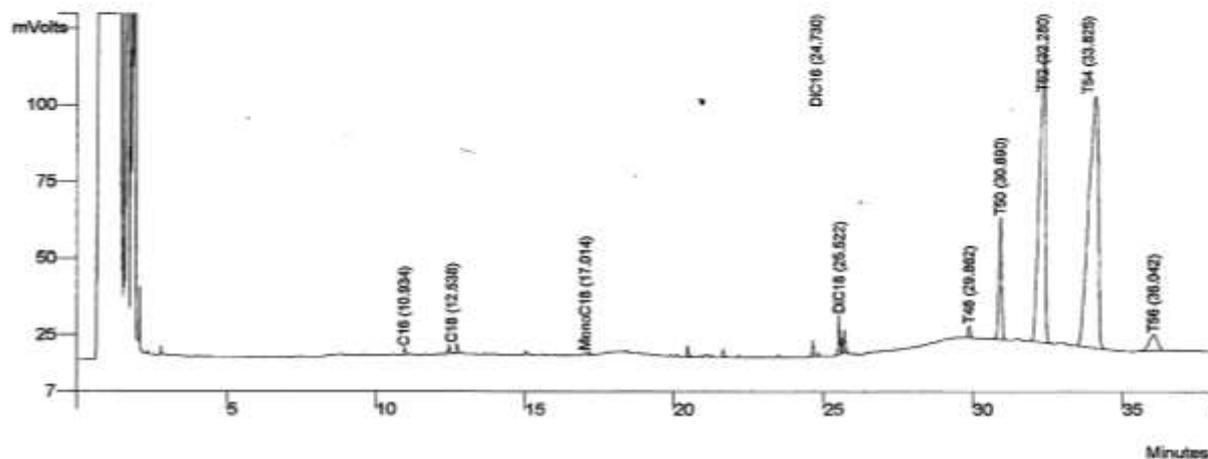
Injection Date: 06/12/2012 17:26:11

Injection Method: c:\star\methodes\180\murief\2012 12 01.mth

Calculation Method:

Sample: neem

Int. Std. Amounts



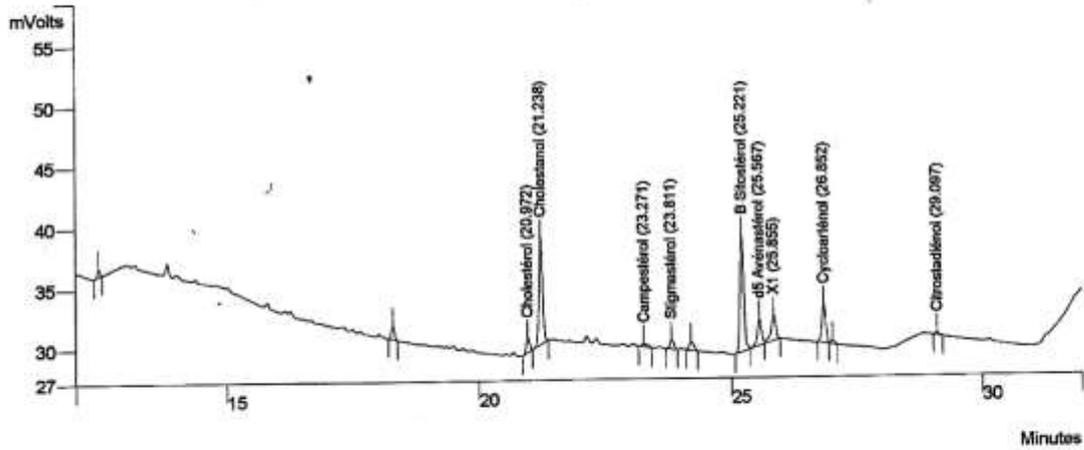
Peak Name	Result µg/ml	Ret. Time (min)	Area (counts)	Group
C16	2,128	10,934	10860	2
C18	5,258	12,538	26832	2
Totals for Group 2	7,386		37692	
MonoC18	0,936	17,014	6106	3
Totals for Group 3	0,936		6106	
DiC16	3,632	24,730	18333	4
DiC18	10,383	25,522	52409	4
Totals for Group 4	14,015		70742	
T48	4,388	29,862	18709	5
T50	67,044	30,890	268778	5
T52	346,136	32,280	1318432	5
T54	500,498	33,825	1806412	5
T56	27,534	36,042	99377	5
Totals for Group 5	945,600		3511708	
Totals	967,937		3626248	

Figure AE-7 : Chromatogramme des glycérides de l'huile de neem

Dosage des stérols

Data File: c:\star\data\muriel\sterols\130513djibril\baley1001.run
 Operator (Inj): mu
 Injection Date: 14/05/2013 07:17:38
 Injection Method: c:\star\methodes\b81\sterol.mth

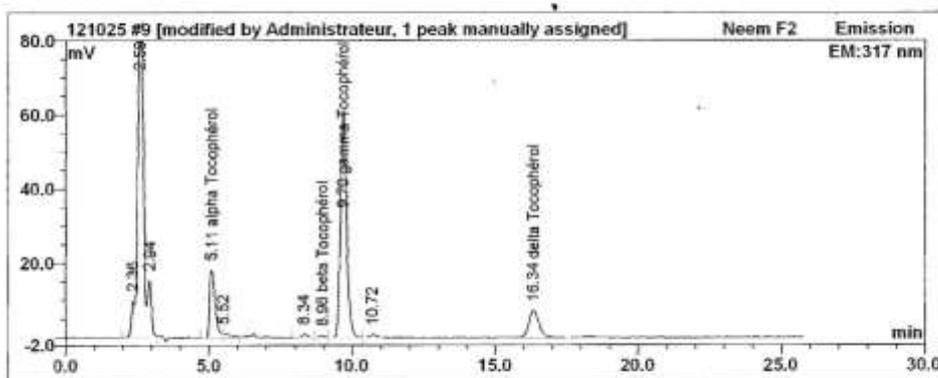
Balanites aegyptiaca (dattier du désert)
 Int. Std. Amounts
 Standard Peak Amount:
 Cholestanol Amount = 68.3
 Sample ID: Baley1
extraction à froid cyclohexane



Peak Name	Result µg / 100mg huile	Ret. Time (min)	Area (counts)	Group
Cholestérol	9,03	20,972	5957	1
Campestérol	3,41	23,271	2250	1
Stigmastérol	5,97	23,811	3939	1
B Sitostérol	76,57	25,221	50506	1
d5 Avénastérol	19,88	25,567	13112	1
Totals for Group 1	114,86		75764	
Cholestanol	Int Std	21,238	45053	0
X1		25,855	14559	0
Totals for Group 0	22,07		59612	
Cycloartérol	25,08	26,852	16541	3
Totals for Group 3	25,08		16541	
Citrostadiérol	1,51	29,097	995	2
Totals for Group 2	1,51		995	
Totals	163,52		152912	

Figure AE-8 : Chromatogramme des stérols de l'huile de dattier du désert

Echantillon: **Neem F2**
 Séquence : **121025** Volume injecté : **20.0**
 Emplacement : **Muriel\Tocopherols** Dilution : **10.2040**
 Sample Type: **unknown**
 Programme : **Tocopherol** Signal : **Emission**
 Méthode: **12_10_Tocos**
 Date d'inj.: **29/10/2012 11:27**



T. Ret. min	Peak Name	Amount mg/100g huile	Rel.Amount %	Area mV*min	Height mV
5.11	alpha Tocophérol	6.66	19.51	4.108	18.281
8.98	beta Tocophérol	0.19	0.56	0.124	0.548
9.70	gamma Tocophérol	23.44	68.72	15.221	61.110
16.34	delta Tocophérol	3.82	11.21	3.046	7.305
TOTAL		34.11	100.000	22.499	

Figure AE-9 : Chromatogramme des tocophérols de l'huile de neem

Echantillon: **Balanites cyclo**

Séquence : **130521**

Volume injecté : **20.0**

Emplacement : **Muriel\Tocopherols**

Dilution : **9.2600**

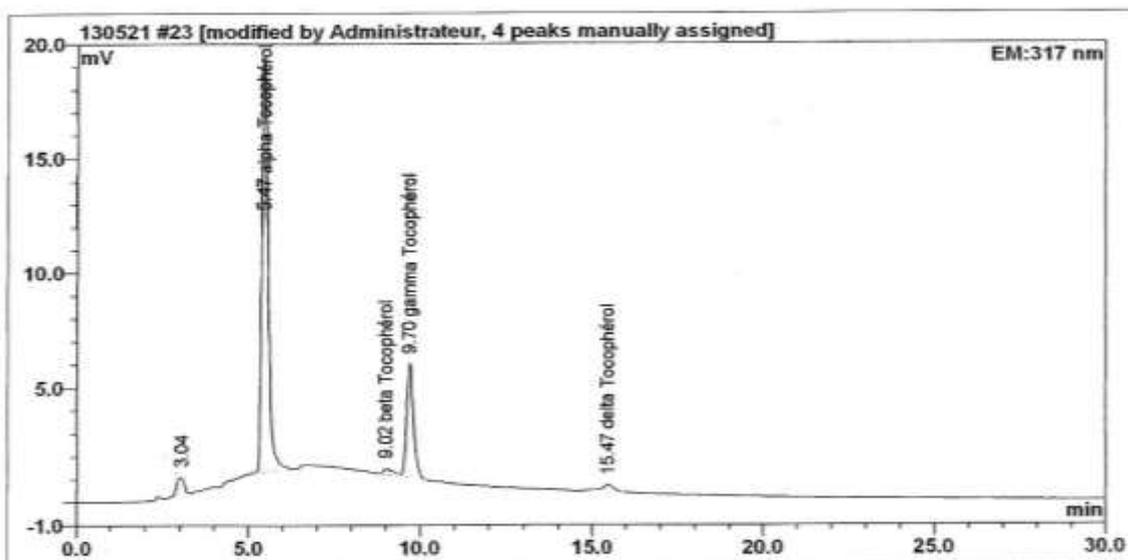
Sample Type: **unknown**

Programme : **Tocopherol**

Signal : **Emission**

Méthode: **13_05_Tocos**

Date d'inj.: **28/5/2013 16:13**



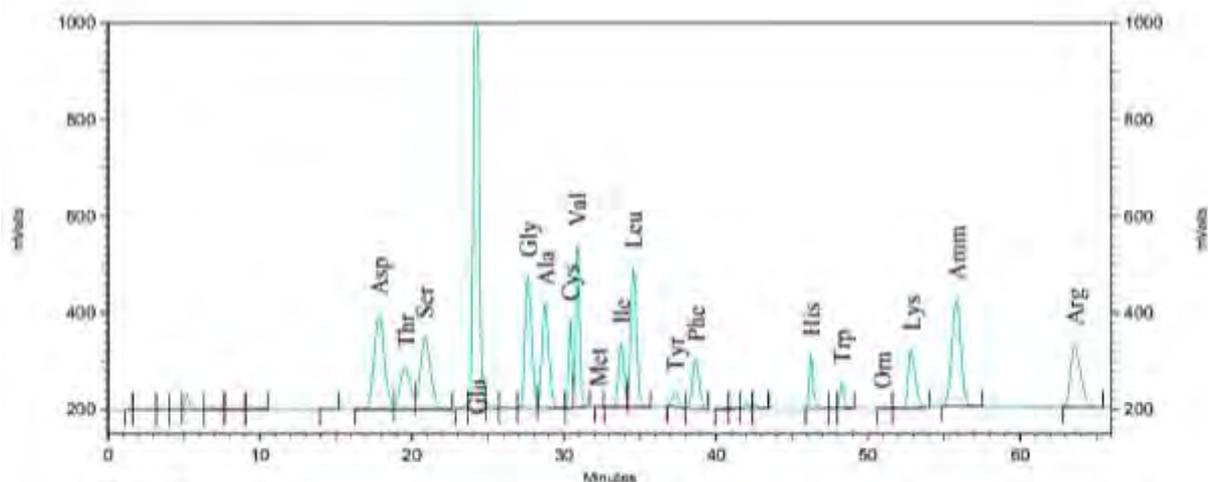
T. Ret. min	Peak Name	Amount mg/100g huile	Rel.Amount %	Area mV*min	Height mV
5.47	alpha Tocophérol	34.34	76.14	3.786	18.093
9.02	beta Tocophérol	0.51	1.12	0.063	0.243
9.70	gamma Tocophérol	9.53	21.13	1.182	4.937
15.47	delta Tocophérol	0.73	1.61	0.098	0.286
TOTAL		45.10	100.000	5.129	

Figure AE-10 : Chromatogramme des tocophérols de l'huile de dattier du désert

Biochrom 30

Method: C:\Data_Biochrom_30\Method\MethodMike.met
 Standard: C:\Data_Biochrom_30\Data\Neem_20130118.dat
 Date : 23/01/2013 11:40:56

Instrument Serial No ; 99610
 Column No ; u-2664
 Resin No ; 13605



570 Results

PK #	Name	Retention Time	Area	ESTD concentration	ISTD concentration	Units
10	Asp	17.866	9216490	26.059	0.000	nmol
11	Thr	19.565	3980081	11.126	0.000	nmol
12	Ser	20.865	6960067	18.484	0.000	nmol
14	Glu	24.298	22690331	60.152	0.000	nmol
17	Gly	27.632	8331177	20.866	0.000	nmol
18	Ala	28.765	6881091	18.207	0.000	nmol
19	Cys	30.431	2522817	6.035	0.000	nmol
20	Val	30.898	6182717	16.047	0.000	nmol
21	Met	32.265	51775	0.131	0.000	nmol
22	Ile	33.765	3459195	9.735	0.000	nmol
23	Leu	34.564	7681098	19.612	0.000	nmol
24	Tyr	37.331	1022171	2.640	0.000	nmol
25	Phe	38.664	3180556	8.458	0.000	nmol
30	His	46.230	2116275	5.249	0.000	nmol
32	Trp	48.264	1035462	0.000	0.000	nmol
33	Orn	50.930	84017	0.000	0.000	nmol
34	Lys	52.830	4021001	9.455	0.000	nmol
35	Amm	55.830	9320322	39.973	0.000	nmol
36	Arg	63.596	6079805	16.232	0.000	nmol
Totals			104816448	288.461	0.000	

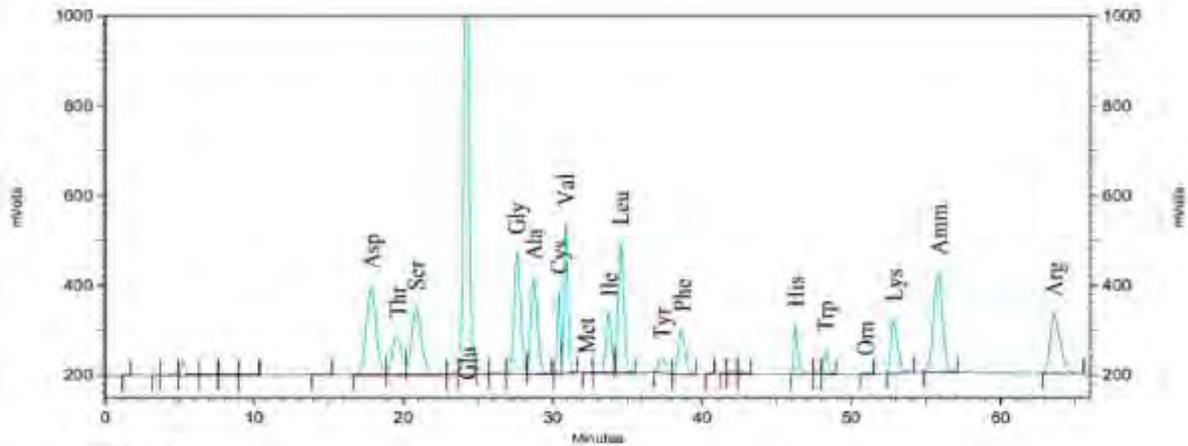
Volume : 1 µL

Figure AE-11 : Aminogramme des graines de neem

Biochrom 30

Method: C:\Data_Biochrom_30\Method\MethodMike.met
 Standard: C:\Data_Biochrom_30\Data\2Neem_20130118.dat
 Date : 23/01/2013 11:40:58

Instrument Serial No : 99610
 Column No : u-2664
 Resin No : 13605



570 Results						
PK #	Nom	Retention Time	Area	ESTD concentration	ISTD concentration	Units
9	Asp	17.866	9165342	25.914	0.000	nmol
10	Thr	19.565	3962923	11.078	0.000	nmol
11	Ser	20.865	6934873	18.417	0.000	nmol
13	Glu	24.298	22678860	60.121	0.000	nmol
16	Gly	27.598	8272362	20.719	0.000	nmol
17	Ala	28.731	6836728	18.089	0.000	nmol
18	Cys	30.431	2544880	6.088	0.000	nmol
19	Val	30.898	6138378	15.932	0.000	nmol
20	Met	32.231	43259	0.109	0.000	nmol
21	Ile	33.765	3447902	9.704	0.000	nmol
22	Leu	34.564	7647494	19.526	0.000	nmol
23	Tyr	37.331	1040741	2.688	0.000	nmol
24	Phe	38.664	3167769	8.424	0.000	nmol
29	His	46.264	2115705	5.248	0.000	nmol
31	Trp	48.297	1044186	0.000	0.000	nmol
32	Orn	50.930	78091	0.000	0.000	nmol
33	Lys	52.830	3778102	8.884	0.000	nmol
34	Amm	55.830	9274836	19.781	0.000	nmol
35	Arg	63.596	6130384	16.367	0.000	nmol
Totals			104302815	287.090	0.000	

Volume : 1 µL

Figure AE-12 : Aminogramme des graines de dattes du désert

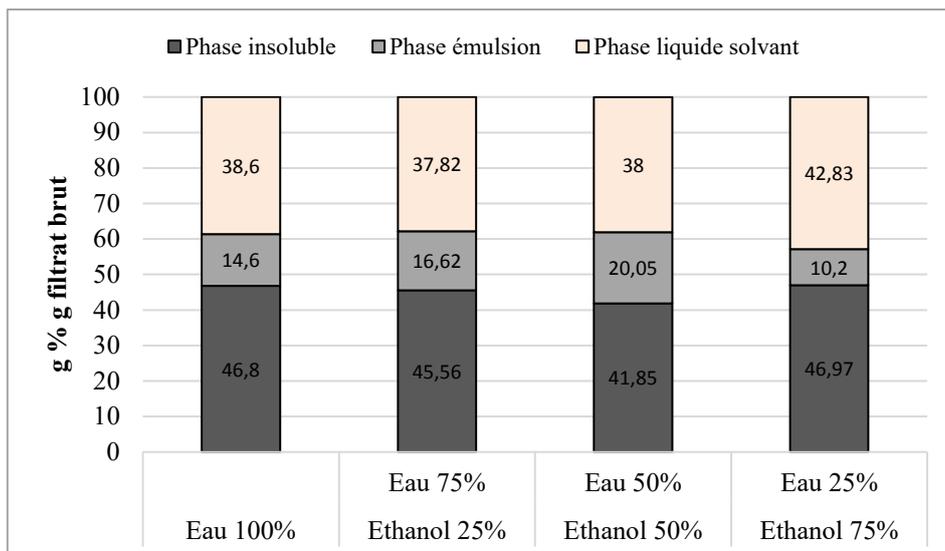


Figure AE-13 : Répartition des phases insoluble, émulsion et liquide solvant obtenues par extraction aqueuse et hydro-éthanolique des graines en extracteur-séparateur bi-vis BC 21

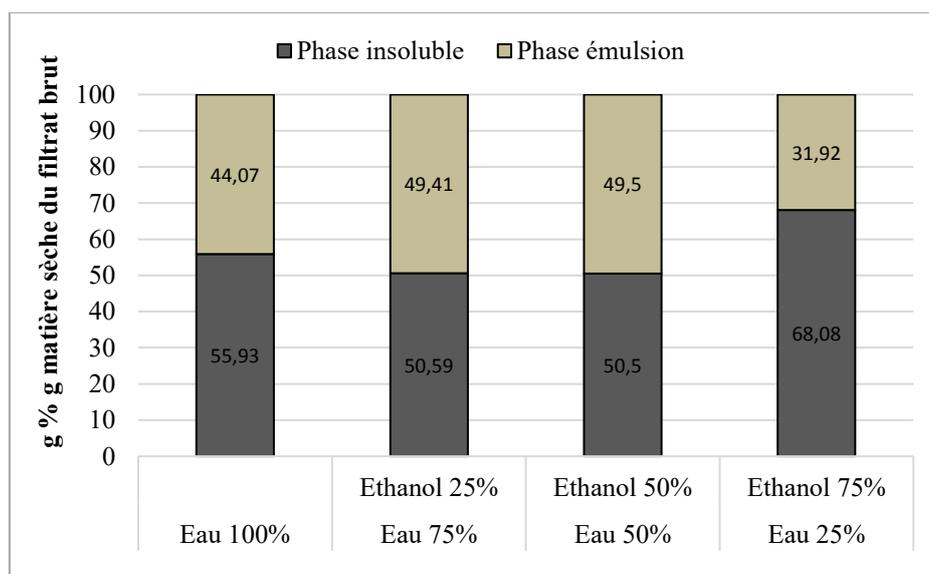


Figure AE-14 : Répartition de la matière sèche au filtrat clarifié obtenu par extraction aqueuse et hydro-éthanolique des graines en extracteur-séparateur bi-vis BC 21

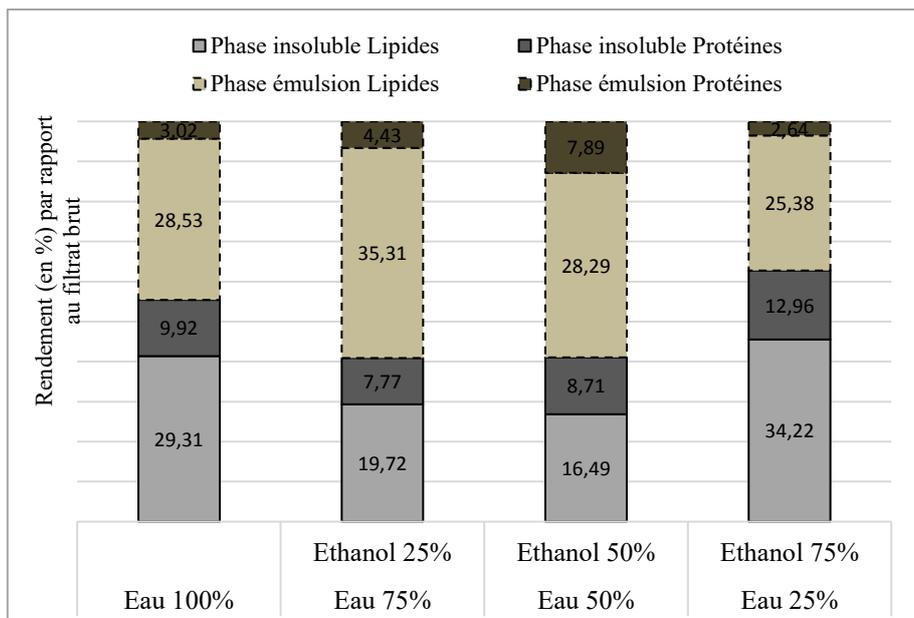


Figure AE-15 : Composition de la matière sèche au filtrat obtenu par extraction aqueuse et hydro-éthanolique des graines en extracteur-séparateur bi-vis BC 21

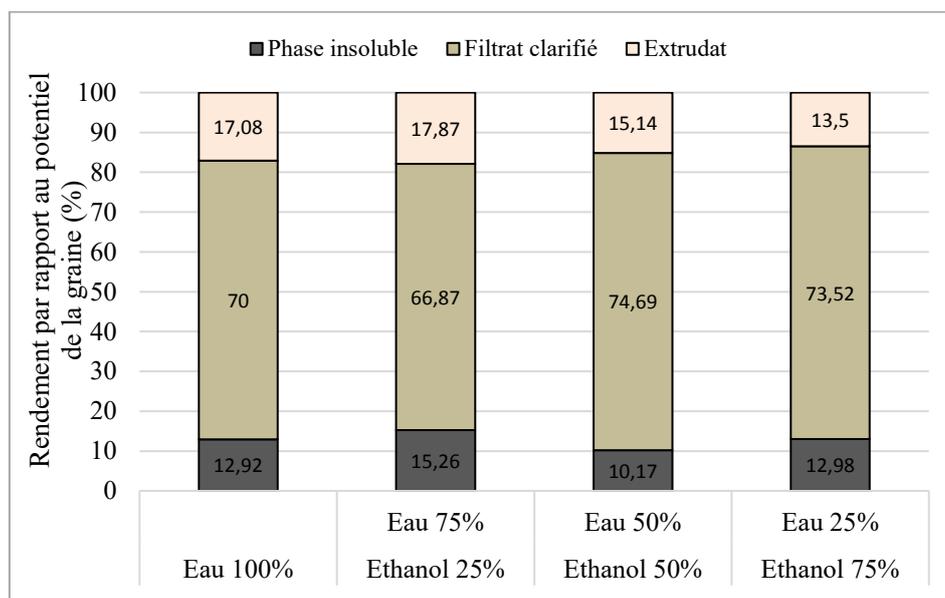


Figure AE-16 : Répartition de l'azadirachtine dans les trois phases obtenues par extraction aqueuse et hydro-éthanolique des graines en extracteur-séparateur bi-vis BC 21

Tableau AE-1 : Composition des filtrats lyophilisés

Composition	Filtrat hydro- éthanolique	Filtrat aqueux
Matière sèche (%)	10,22	9,94
Lipides (% MS)	79,66	73,39
Protéines (% MS)	17,98	19,60
Autres constituants (% MS)	2,36	6,93
Azadirachtine (g/kg MS)	10,18	8,42



Biodiesel production from Neem seeds (*Azadirachta indica* A. Juss) oil by its base-catalyzed Transesterification and its Blending with Diesel

Diedhiou Djibril^{1,2*}, Diatta Mamadou Lamine², Faye Mamadou^{1,2}, Vilarem Gerard¹, Sock Oumar² and Rigal Luc¹

¹Laboratoire de Chimie Agro-Industrielle (LCA), ENSIACET, INP Toulouse, 4 Allée Entile Monso - BP 44362 - 31030 Toulouse Cedex 4, FRANCE

²Laboratoire d'Electrochimie et des Procédés Membranaires (LEPM), Université Cheikh Anta Diop de Dakar, BP 5085 Dakar-fann, SENEGAL

Available online at: www.isca.in, www.isca.me

Received 7th September 2015, revised 15th September 2015, accepted 10th October 2015

Abstract

Biodiesel, a non-toxic, biodegradable and renewable fuel can be a solution to non-environmentally friendly and exhaustible fossil fuels. The triglycerides transesterification is the most used process in the biodiesel production. However, the blending of the oil with diesel is also used. Neem (Azadirachta indica A. Juss) seeds oil (NSO), a non-edible oil available in large quantities in Senegal may be a second generation feedstock for biofuel production. In this research, the study is focused on its transformation into biodiesel by NaOH catalyzed transesterification and its blending with diesel. The NSO physicochemical properties were determined and compared to those of diesel. The NSO consists of four major fatty acids: oleic acid (C18:1), linoleic acid (C18:2), stearic acid (C18:0) and palmitic acid (C16:0). These fatty acids represent 95.80% of all the fatty acids present in the NSO. The study of the effect of catalyst level, performed at 75°C and for molar ratio alcohol-oil 6:1 has revealed that a rate catalyst of 1% (w/w_{oil}) is more effective. The kinetic study of the reaction confirmed the high speed of the formation of the ethyl esters (NSOB) with conversion maximum rate achieved after 90 minutes. The physical and thermal properties of neem seeds oil biodiesel (NSOB) are close to those of diesel. However, those of the NSO-diesel blend (NSODB) are closer to those of the diesel.

Keywords: *Azadirachta indica*, neem seeds oil, biodiesel, transesterification, blending, diesel.

Introduction

During these last decades, the high price of fossil fuels, concerns about their depletion and the environmental issues justify the choice focused on the development of new energy sources. Biodiesel is one of the preferred alternatives of this sector. It is considered as a renewable, biodegradable, non-toxic and affordable fuel¹. Biodiesel is produced from any source of fatty acids by a transesterification reaction. Vegetable oils, however, are the most used in the biodiesel production. Edible vegetable oils for example rapeseed oil, soybean oil, sunflower oil, palm oil etc., constitute the first generation of feedstocks for biodiesel. However, the use of inedible oils for energy purposes can avoid conflicts between food and energy security. This is why the research is directed towards the use of non-edible oils which form the second generation of biodiesel feedstock². Thus, the neem seeds oil could be an interesting feedstock for biodiesel the production. The neem (*Azadirachta indica* A. Juss) is a plant of the botanical Meliaceae family, which is native to the Indian subcontinent³. In Senegal, its population is estimated between 18 and 30 million trees⁴. The neem tree can reach a height of 25-30 m in its home country, and sometimes up to 35 or 40 m in good growth conditions and about 5 to 15 m in Senegal^{5,6}. The neem tree normally begins to bear fruits after 3-5 years and become highly productive at 10 years. At maturity, the neem tree can produce up to 50 kg of fruits per year, equivalent to 30 kg of seeds per year⁷. The oil content varies

from 30 to 52% for the kernels and from 20 to 32% for the seeds^{8,9}. The neem oil has multiple uses, mainly for soaps, pesticides and pharmaceuticals¹⁰.

The aim of this work was to produce biodiesel in the form of fatty acids ethyl esters (FAEE) from neem seeds oil (NSO) by transesterification through NaOH catalysis. It was also to experiment the biodiesel production process by the blending of NSO and diesel (NSODB). Biodiesel properties were compared to those of diesel.

Material and Methods

Plant material: The biological material consisted of some neem oil obtained by solvent extraction from seeds collected in Senegal. These seeds coming from mature fruits, collected in August 2012, were cleaned and dried with sun exposure at open air and then in an oven at 40°C for 7 days.

Solvents and reagents: All the chemical reagents, standards and solvents of analytical grade, were purchased from Sigma-Aldrich, France.

The oil extraction: The oil used for the transesterification and the blending with diesel was extracted with the soxhlet method using cyclohexane as solvent. The soxhlet extractor was equipped at its base with a 250 mL flask in which 200 mL of

solvent were introduced. After that, the solvent extract was dry concentrated in a rotary evaporator at 35°C and further dried in an oven at 50°C.

Neem seeds oil, biodiesel physicochemical characterization:

The physicochemical properties were determined according to standardized methods: the density (ASTM 4052), the viscosity (ASTM D 445), the flash point (ASTM D 93), the freezing point (ASTM D 97), the pour point (ASTM D 97), the calorific value (ASTM D 4868), the acid value (AFNOR T60-204), the saponification value (AFNOR T60-206), the iodine value (AFNOR T60-203), the peroxide index (AFNOR T60-220), ash content (ASTM D 482), the carbon residue content (ASTM D 189), the sulphur content (ASTM D 4294), the sediment content (ASTM D 4052), the water content (ASTM D 9590). However, the refractive index was measured at 25°C by direct reading with a refractometer ABBE RMT model (EXACTA + OPTTECH France 77646 CHELLES, France) while the calorific value for the oil was estimated using the following empirical relationship: Calorific value = 11380 - Iodine value - 9.15 × saponification value¹¹.

Neem seeds oil fatty acids analysis: The fatty acid profile was performed by analysis of its fatty acids methyl esters (FAME) in gas chromatography (GC) using the French Standard NF ISO 5508. The esterification was carried out in two steps, solubilization of the oil by TBME (Tert-Butyl Methyl Ether) and addition of TMSH (trimethyl sulphonium hydroxide 0.5 M in methanol). The analysis was performed in 3800 type GC equipped with a Varian CP-select column for (Fatty acids Methyl Esters) FAME fused silica WCOT (length 50 m, internal diameter 0.25 mm, film thickness 0.25 µm) coupled with a flame-ionization detector (FID) heating the components at 250°C. The carrier gas was helium (flow rate of 1 mL/min). The injection was Split (1:100, 1 µL, 250°C for 55 min.). The temperature programming was 185°C for 40 min and then rise from 185°C to 250°C at 15°C/min and finally 250°C for 10.68 min (analysis time 55.01 min). The standard used was the MGFA (SI) and the data was processed with Varian Star software.

Transesterification of the neem seeds oil: Transesterification is a biodiesel production process. This is a reaction between oil and an alcohol, usually methanol or ethanol to have alkyl-esters (often methyl or ethyl) and glycerol. This process reduces the molecular weight of the oil, its viscosity, density and increases the volatility to bring them closer to those of diesel fuel¹². The reaction is reversible, so an excess of alcohol is used to shift the balance in the direction of the products (esters and glycerol) formation. A molar ratio alcohol-oil 6:1 is often used in the industrial process to achieve higher conversion rate to 98%¹³.

Methanol is the most frequently alcohol used. It is cheaper but

its higher toxicity makes ethanol a better choice. It leads to a full biofuel¹⁴. Transesterification is often catalyzed by a base, an acid or enzymes in order to improve the kinetic.

The transesterification was carried out with ethanol in a molar ratio 6:1 and the catalyst (sodium hydroxide) was fixed at 1% of the oil (w/w). The reaction was carried out using a jacketed reactor manufactured by PIGNAT Company (France), equipped with a stirrer EUROSTAR of Ika-Werke type at 75°C. The stirring speed was set at 1200 rpm. At the end of the transesterification, the reaction mixture was neutralized by a solution of citric acid at 6%. The separation of the two phases (glycerol and ester) was carried out using a separatory funnel after 24 hours of decantation.

Neem seeds oil and diesel blending: Blending is a biodiesel production process involving the dilution of vegetable oils with diesel fuel or with a solvent such as ethanol. Much research has focused on it and its effects have also been studied¹⁵⁻¹⁷. The NSO-diesel blend (NSODB) was made at a ratio 1:5 of the oil-diesel because the ratios of 1:10 to 1:5 were found to be satisfactory¹⁸. Then, the blending was homogenized by stirring in the reactor at room temperature before being analyzed.

Results and Discussion

Physicochemical properties of the neem seeds oil: Several physicochemical properties of the NSO were determined (table-1). The small amount of free fatty acids resulted in a low acidity index (9.10 mg.g⁻¹). This slight acidity will require little basic solution to neutralize the free fatty acids, which will not limit the performance of the transesterification reaction¹⁸⁻²⁰. Its high saponification index (200.54 mg.g⁻¹) revealed its high proportion of saponifiable. In this case, a high proportion of water or an insufficient amount of alcohol may cause soap formation during the reaction of transesterification. Its low water content (<0.05%) did not promote the saponification during the transesterification and subsequent operations of separation and washing after the transesterification. The ash (0.02%), lower than the maximum value (0.1%), won't affect the injection pump and the cylinder when in use in engines. The sulfur content (0.11%) is lower than the maximum limit required for use as a fuel. However, the carbon residue content sufficiently high (1.45%), which is higher than the maximum recommended limit for diesel (0.2%) may result in deposits after combustion²¹. The relatively high gross calorific value (39.53 MJ.kg⁻¹) can give the NSO a good criterion for biodiesel production. The high flash point (227°C) confirms the absence of risk of fire during handling or storage. The freezing point (10°C) and the pour point (12°C), well below those of diesel confirm the difficulty for use as fuel in the low-temperature conditions. The viscosity of the NSO which is 49.79 mm².s⁻¹ is considerably higher than that of diesel and, for fuel application, shall be reduced by conversion of the triglycerides into fatty acids esters or by dilution with diesel.

Neem seeds oil fatty acids composition: The four main fatty acids (Table-2) are oleic acid (41.91±0.69%), linoleic acid (19.59±0.44%), stearic acid (18.71±0.46%) and palmitic acid (15.59±0.27%). This high linoleic and oleic acid proportion is noted in *Jatropha* oil and *Pongamia Pinnata* (Karanja)^{22,23}. These fatty acids represent 95.80% of the total fatty acids of the neem seed oil. The fatty acid profile is similar to those presented in the literature²⁴. Indeed, the ratio unsaturated/saturated fatty acids, being at about 60%, confirm the unsaturated behaviour of the oil.

Table-1
Physicochemical properties of NSO

Characteristics	Value	Methods
Acid value (mg.g ⁻¹)	9.10	AFNOR T60-204
Saponification value (mg.g ⁻¹)	200.54	AFNOR T60-206
Iodine value (g.100g ⁻¹)	74.82	AFNOR T60-203
INS	126	-
Peroxyde value (meq O ₂ .kg ⁻¹)	1.49	AFNOR T60-220
Density at 25°C	0.912	ASTM D 4052
Refraction index at 25°C	1.465	Direct reading
Viscosity at 37.8°C (mm ² .s ⁻¹)	49.79	ASTM D 445
Calorific value (MJ.kg ⁻¹)	39.53	-
Flash point (°C)	227°C	ASTM D 93
Freezing point (°C)	10°C	ASTM D 97
Pour point (°C)	12°C	ASTM D 97
Ash (wt%)	0.02	ASTM D 482
Carbon residue (wt%)	1.45	ASTM D 189
	0.11	ASTM D 4294
Sediments (wt%)	0.01	ASTM D 4052
Water content (%v)	< 0.05	ASTM D 9590

Effect of Catalyst concentration on ester yield: The analysis of the effects of the catalyst concentration, at 0.5%, 1%, 1.5% of the oil (w/w), performed at 75°C for 4 hours (figure-1) shows that the catalyst is most effective when it is about 1%. Indeed, this concentration gives the best ester yield (about 98%). Higher levels led to the formation of soap. This causes a significant decrease in the formation of esters. The soap formation during the transesterification makes the separation and purification of the biodiesel harder. Similar results were obtained for *Brassica carinata* oil with KOH catalyst, on the Thumba oil with KOH-NaOH and on the rice bran oil with NaOH catalyst¹⁵⁻¹⁷.

Table-2
Fatty acids composition of neem seeds oil

Composition	%
C16:0 Palmitic acid	15.59±0.27
C16:1 Palmitoleic acid	0.12±0.00
C18:0 Stearic acid	18.71±0.46
C18:1 Oleic acid	41.91±0.69
C18:2 Linoleic acid	19.59±0.44
C20:0 Arachidic acid	1.33±0.01
C18:3 Linolenic acid	0.44±0.01
C20:1 Gadoleic acid	0.08±0.00
C22:0 Behenic acid	0.86±0.38
Saturated fatty acids	37.00
Unsaturated fatty acids	63.00

Effect of reaction time on ester yield: The effect of reaction time on the formation of the ethyl esters is analyzed at 75°C with 1% (w/w_{oil}) of catalyst and a molar ratio 6:1. The analysis carried out after 30 min, 60 min, 90 min, 120 min, 150 min 180 min, 210 min and 240 min (Figure-2) reveals that the formation of esters is quick. After 30 minutes, the ethyl esters yield is at 58% and after 60 minutes at 92%. However, the maximum rate conversion (93-95%) is reached after 90 minutes of reaction. These results are comparable to those of some other authors such as on *Jatropha* oil with KOH catalysis, on the oil Thumba with NaOH and KOH catalysis and on the palm oil in alkalic catalysis^{6,25,26}.

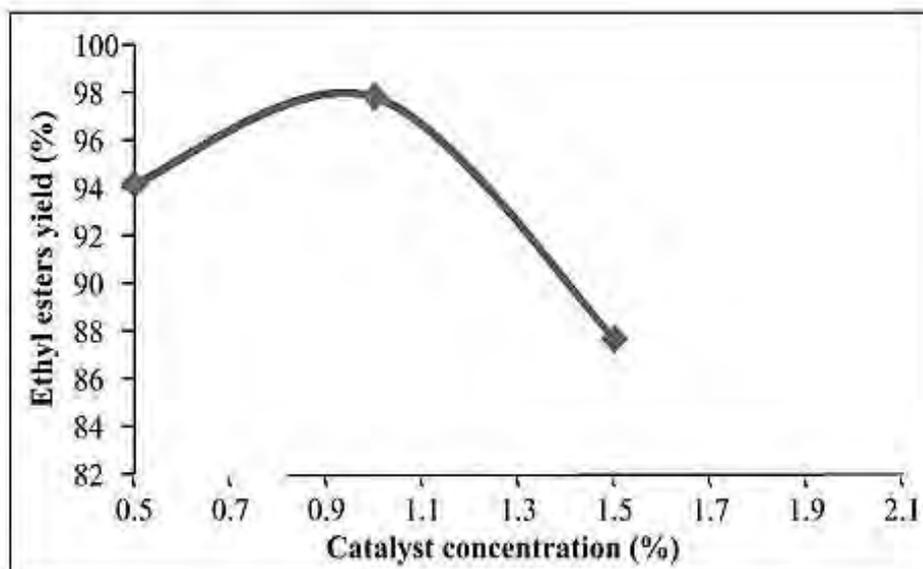


Figure-1
Effect of catalyst concentration on ethyl ester yield at 75°C, molar ratio 6:1

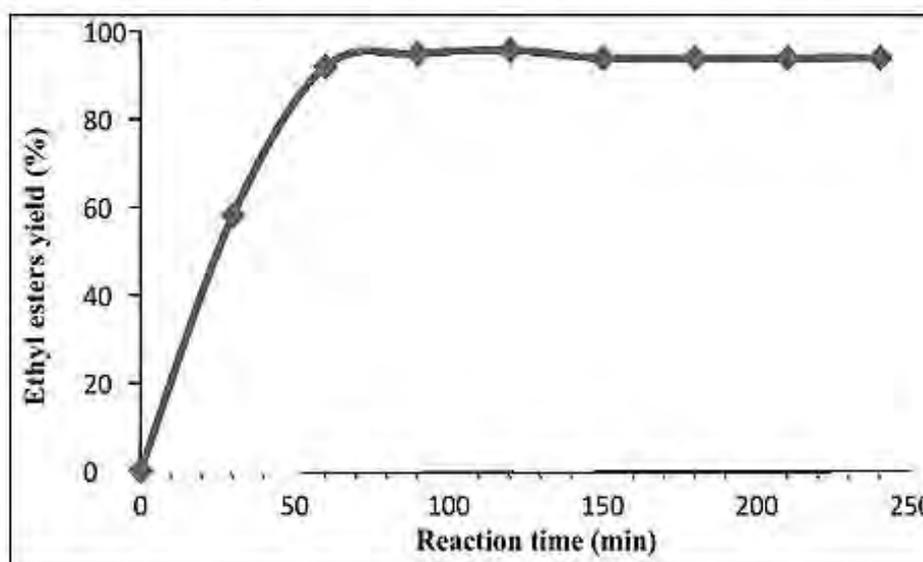


Figure-2
Effect of reaction time on ethyl ester yield at 75°C, molar ratio 6:1 and catalyst 1% (w/w)

Physicochemical properties of neem seeds oil biodiesel (NSOB) and neem seeds oil blended with Diesel (NSODB): The results show that the transesterification of the NSO leads to a significant change in its physical and thermal properties. The comparison of the NSOB properties with those of the oil reveals a decrease of the viscosity (49.79 to $35.80 \text{ mm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$) of the flash

point (227 to 64.3°C), of the freezing point (10 to 8°C), of the pour point (12 to 11°C) and an increase the of the gross calorific value (39.53 to $41.97 \text{ MJ} \cdot \text{kg}^{-1}$). These tendencies are also observed on *B. aegyptiaca* oil and its biodiesel, on *Jatropha* oil and its biodiesel and on *Simarouba glauca*²⁷⁻²⁹. However, concerning the composition, we can note an increase in levels of

some compounds such as ash carbon residue and sediments in the NSOB versus NSO. We remind that these compounds have adverse effects on the engines. The NSOB properties are compared with those of *Jatropha*, desert date, rapeseed and cotton methyl esters (table-3).

The transesterification of the NSO provides the NSOB, whose properties are close to those of the diesel (table-4). Its use in engines can thus be envisaged. The NSODB provides physical and thermal properties more similar to those of diesel. They confirm that *Jatropha* oil blend with diesel for a ratio 1:1 can be used in diesel engines without any major problems¹⁴.

Conclusion

The results of this work show that neem seeds oil (NSO) can be

developed as a renewable fuel. Its development as a biodiesel requires the transesterification of its triglycerides. The physical and thermal properties of the ethyl esters (NSOB) obtained by transesterification NSO with NaOH catalysis are close to those of diesel. The SNO-diesel blend (NSODB) provides even closer properties. Thus, the use of the NSOB and the NSODB as biofuel in the diesel engines can be envisaged.

Acknowledgements

We thank the Department for Cooperation and Cultural Action (SCAC) of the Embassy of France at Dakar (Senegal) for their financial support. We also thank the staff of SGS (Dakar) for having permitted to carry out part of our analysis in their petroleum products laboratory.

Table-3
Physicochemical properties of NSOB compared to those of *Jatropha*, desert date and rapeseed methyl esters

Properties	NSOB	<i>Jatropha</i> ¹³	Desert date ²⁷	Rapeseed ²⁰
Cetane number	41.63	-	-	-
Density at 15°C (kg.m ⁻³)	907.0	886	880	880
Viscosity at 37.8°C (mm ² .s ⁻¹)	35.80	38.60 (at 40°C)	4.8	7 (at 20°C)
Calorific value (MJ.kg ⁻¹)	41.97	39.84	39.23	41
Flash point (°C)	64.3	230	135	183
Freezing point (°C)	8	-	-	-
Pour point (°C)	11	-3.5	2	-12
Ash (wt%)	0.12	0.03	0.012	-
Carbon residue (wt%)	1.50	3.0	0.20	-
Sulfur (wt%)	0.11	0.11	-	-
Sediments (wt%)	0.83	-	-	-
Water content (%v)	< 0.05	1.4	0.0125	-

Table-4
Properties of NSOB and NSODB compared to the Diesel

Properties	NSOB	NSODB	Diesel ^{3f}	Methods
Cetane number	41.63	43.42	> 40	ASTM D 4737
Density at 15°C (kg.m ⁻³)	907.0	887.9	835 - 930	ASTM D 4052
Viscosity at 37.8°C (mm ² .s ⁻¹)	35.80	7.24	< 15	ASTM D 445
Calorific value (MJ.kg ⁻¹)	41.97	42.21	43.8	ASTM D 4868
Flash point (°C)	64.3	78.8	> 61	ASTM D 93
Freezing point (°C)	8	3	-	ASTM D 97
Pour point (°C)	11	0	< 15	ASTM D 97
Ash (wt%)	0.12	-	<0.1	ASTM D 482
Carbon residue (wt%)	1.50	-	<0.2	ASTM D 189
Sulfur (wt%)	0.11	-	<1.0	ASTM D 4294
Sediments (wt%)	0.83	-	<0.01	ASTM D 4052
Water content (%v)	<0.05	-	<0.05	ASTM D 9590

References

1. Tiwari A.K., Kumar A. and Raheman H., Biodiesel production from jatropha oil (*Jatropha curcas*) with high free fatty acids: An optimized process, *Biomass and Bioenergy*, **31**, 569-575 (2007)
2. Barnwal B.K. and Sharma M.P., Prospects of biodiesel production from vegetable oils in India, *Renew. Sustain. Energ.*, **9**, 363-378 (2005)
3. Chopra I.C., Gupta K.C. and Nazir B.N., Preliminary study of antibacterial substance from *Melia azadirachta*, *Indian J. Med. Research*, **40**, 511-515 (1952)
4. Fortin D., Lô M. And Maymart G., Plantes médicinales du Sahel, *ENDA Editions*, Dakar, (1997)
5. Schmutterer H., The neem tree, *Azadirachta indica* A. Juss and other meliaceae plants, *VCH: Weinheim* (1995)
6. Berhaut J., Flore illustrée du Sénégal, Tome VI. Dicotylédones: Linacées à Nymphycées, Dakar, (1979)
7. Schrnutterer H., Properties and potential of natural pesticides from the neem tree, *Azadirachta indica*, *Annr. Rev. Etromol.*, **35**, 271-297 (1990)
8. Kaura S.K., Gupta S.K. and 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 Hum. Nutr.*, **52**, 293-298 (1998)
9. Djenontin Tindo S., Amusan N., Dangou J., Wotto D.V., Avlessi F., Dahouénon-Ahoussi E., Lozano P., Pioch D. and Sahounbloué K.C.D., Screening of repellent, termiticidal and preventive activities on wood, of *Azadirachta indica* and *Carapa procera* (Meliaceae) seeds oils, *ISCA J. Biological Sciences.*, **1**(3), 25-29 (2012)
10. Imam H., Hussain A. and Ajjij A., Neem (*Azadirachta*

- indica* A. Juss) - A Nature's Drugstore: An overview, *ISCA International Research J. Biological Sciences.*, **1**(6), 76-79 (2012)
11. Haidara A.O., Valorisation d'une huile végétale tropicale : l'huile de pourghère, *Mémoire Maitrise, Université de Sherbrooke, Canada* (1996)
 12. Pramanik K., Properties and use of *Jatropha curcas* oil and diesel fuel blends in compression ignition engine, *Int. J. Renewable Energy.*, **28**, 239-248 (2003)
 13. Parawira W., Biodiesel production from *Jatropha curcas*: a review, *Scientific Res. and Essays.*, **5**(14), 1796-1808 (2010)
 14. Clark S.J., Wagner L., Schrock M.D. and Pienaar P.G., Methyl and ethyl soybean esters as renewable fuels for diesel engines, *J. of the American Oil Chemists' Society.*, **61**, 1632-1638 (1984)
 15. Dorado M.P., Ballesteros E., Lopezand F.J. and Mittelbach M., Optimization of alkali-catalyzed transesterification of *Brassica carinata* oil for biodiesel production, *Energy and Fuels.*, **18**, 77-83 (2004)
 16. Karnwal A., Kumar N., Hasan M.M., Chaudhary R., Siddiquee A.N. and Khan Z.A., Production of biodiesel from Thumba oil: Optimization of process parameters, *Iranica J. of Energy and Environment.*, **1**(4), 352-358 (2010)
 17. Sinha S., Agarwal A.K., Garg S., Biodiesel development from rice bran oil: Transesterification process optimization and fuel characterization, *Energy Conver. and Management.*, **49**(5), 1248-1257 (2008)
 18. Ma F., Clements I.D. and Hanna M.A., The effect of catalyst, free fatty acids and water on transesterification of beef tallow, *Trans ASAE.*, **41**, 1261-1264 (1998)
 19. Freedman B., Pryde E.H. and Mounts T.L., Variables affecting the yields of fatty esters from transesterified vegetable oils, *J. of American Oil Chemists' Society.*, **61**, 1638-1643 (1984)
 20. Goordrum J.W., Volatility and boiling points of biodiesel from vegetable oils and tallow, *Biomass and Bioenergy.*, **22**, 205-211 (2002)
 21. Vaitilingom G., Extraction, conditionnement et utilisation des huiles végétales pures biocarburant, *Conférence Internationale "Enjeu et perspectives des biocarburants pour l'Afrique"*, Ouagadougou, Burkina Faso (2007)
 22. Musa U. and Folorusho A., Characteristics of a typical Nigerian *Jatropha curcas* oil seeds for biodiesel production, *ISCA Research J. Chemical Sciences.*, **2**(10), 7-12 (2012)
 23. Bobade S.N. and Khyade V.B., Preparation of methyl ester (Biodiesel) from Karanja (*Pongamia Pinnata*) oil, *ISCA Research J. Chemical Sciences.*, **2**(8), 43-50 (2012)
 24. Kaushik N. and Vir S., Variations in fatty acid composition of neem seeds collected from the Rajasthan state of India, *Biochemical Soc. Transactions.*, **28**(6), 880-882 (2000)
 25. Syam A.M., Ynus R., Ghazi T.I.M. and Yaw T.C.S., Methanolysis of *Jatropha* oil in presence of potassium hydroxide catalyst, *J. of Applied Sciences.*, **9**(17), 3161-3165 (2009)
 26. Buasri A., Chaiyut N. and Kettlekha P., Mongkolwatee W., Boonrawd S., Biodiesel production from crude palm oil with a high content of free fatty acids and fuel properties, *CMU. J. Nat. Sciences.*, **8**(1), 115-124 (2009)
 27. Deshumukh S.J. and Bhuyar L.B., Transesterified Hingan (Balanites) oil as a fuel for compression ignition engines, *Biomass and Bioenergy.*, **33**, 108-112 (2009)
 28. Ban K., Kaieda M., Matsumoto T., Kondo A. and Fukuda H., Whole cell biocatalyst for biodiesel fuel production utilising *Rhizopus oryzae* cells immobilised within biomass support particles, *Biochem. Eng.*, **8**, 39-43 (2001)
 29. Mishra S.R., Mohanty M.K. and Pattanaik A.K., Preparation of Biodiesel from Crude oil of *Simarouba glauca* using CaO as a Solid Base Catalyst, *ISCA Research J. of Recent Sciences.*, **1**(9), 49-53 (2012)
 30. Vaitilingom G., Utilisations énergétiques de l'huile de coton, *Cahiers Agricultures.*, **15** (2006)
 31. ASTM (American Society for Testing and Materials)., *Spécifications sénégalaises applicables aux carburants, Norme sur le Diesel* (2011)

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Abdillahi, H.** (2014). Propriétés barrière et mécaniques d'agromatériaux thermoplastiques à base de farine de blé et de polyesters biosourcés et biodégradables. *Thèse de Doctorat*, INP, Toulouse.
- Addea-Mensah, I.** (1998). The uses of the neem (*Azadirachta indica*) in Ghana and their relations of the chemical constituents and biological activities. paper presented at the Proc. Seminar held Dodowa: the potentials of the neem trees in Ghana, 11–26.
- Aghfir, M., Kouhila, M., Jamali, A., Idlimam, A., Lamharrar, A. & Rhazi, M.** (2005). Isothermes d'adsorption-désorption des feuilles de romarin (*Rosmarinus officinalis*). paper presented at the 12^{ème} Journées Internationales de Thermique. Tanger, Maroc, 215–218.
- Aguirre-Loredo, R. Y., Rodriguez-Hernandez, A. I. & Velazquez, G.** (2016). Modelling the effect of temperature on the water sorption isotherms of chitosan films. *Food Science and Technology (Campinas)* **37**, 112–118.
- Ajaiyeoba, E. O. & Ekundayo, O.** (2007). Essential oil constituents of Aframomum melegueta (Roscoe) K. Schum. Seeds (*Alligator pepper*) from Nigeria. *Flavour and Fragrance Journal* **14**, 109–111.
- Al Ashaal, H. A., Farghaly, A. A., Abd El Aziz, M. M. & Ali, M. A.** (2010). Phytochemical investigation and medicinal evaluation of fixed oil of *Balanites aegyptiaca* fruits (Balantiaceae). *Journal of Ethnopharmacology* **127**, 495–501.
- Amalia Kartika, I.** (2005). 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.
- Amalia Kartika, I., Geneau, C., Pontalier, P. Y., Silvestre, F. & Rigal, L.** (2004a). Twin screw extrusion: a single step for three treatments of sunflower seeds. Paper presented at the Proceedings of the 16th International Sunflower Conference. Fargo, ND, USA, 805–810.
- Amalia Kartika, I., Pontalier, P. Y. & Rigal, L.** (2004b). Extraction of sunflower oil by twin screw extruder: screw configuration and operating conditions effects. paper presented at the Proceedings of the 16th International Sunflower Conference. Fargo, ND, USA, 811–816.
- Ameh, A. O., ISA, M. T. & Udoka, E. K.** (2010). Biodegradable Detergents from *Azadirachta Indica* (neem) Seed Oil. *Leonardo Electronic Journal of Practices and Technologies* 69–74.
- Anandan, S., Sastry, V. R. B., Musalia, L. M. & Agrawal, D. K.** (1996). Growth rate and nutrient efficiency of growing goats fed use a ammoniated neem (*Azadirachta indica*) seed kernel meal as protein supplement. *Small Ruminant Research* **22**, 205–212.
- Anon** (1985). An all-purpose tree for Africa of fers food and income. *Ceres* **5**, 6–7.

- Anto, F., Aryeetey, M. E., Anyorigiya, T., Asoala, V. & Kpikpi, J.** (2005). The relative susceptibilities of juvenile and adult *Bulinus globosus* and *Bulinus truncatus* to the molluscicidal activities in the fruit of Ghanaian *Blighia sapida*, *Blighia unijugata* and *Balanites aegyptiaca*. *Annals of Tropical Medicine & Parasitology* **99**, 211–217.
- Arnason, J. T., Philogene, B. J. R., Donskov, N. & Kubo, I.** (1987). Limonoids from the Meliaceae and Rutaceae reduce feeding, growth and development of *Ostrinia nubilalis*. *Entomologia Experimentalis Applicata* **43**, 221–226.
- Aruwayo, A. & Maigandi, S. A.** (2013). Neem (*Azadirachta indica*) seed cake/kernel as protein source in ruminants feed. *American Journal of Experimental Agriculture* **3**, 482–494.
- Aviara, N. A., Mamman, E. & Umar, B.** (2005). Some Physical Properties of *Balanites Aegyptiaca* Nuts. *Biosystems Engineering* **92**, 325–334.
- Awad, A. B., Chan, K. C., Downie, A. C. & Fink, C. S.** (2000). Peanuts as a source of β -sitosterol, a sterol with anticancer properties. *Nutr. Cancer* **36**, 238–241.
- Babiker, M. S.** (2012). Chemical Composition of Some Non-Conventional and Local Feed Resources for Poultry in Sudan. *International Journal of Poultry Science* **11**, 283–287.
- Barrek, S., Paise, O. & Grenier-Loustalot, M. F.** (2002). Caractérisation d'un nouvel insecticide naturel d'origine végétale et ses produits de dégradation en environnement contrôlé. CNRS.
- Bawa, G. S., Orunmuyi, M., Agbaji, A. S., Ladan, Z. & Okekeifi, U. O.** (2007). Effect of Different Methods of Processing Neem (*Azadirachta indica*) Seeds on Performance of Young Rabbits. *Pakistan Journal of Nutrition* **6**, 212–216.
- Bazus, B.** (1991). Raffinage des agroressources: extraction et caractérisations des glucuroxyanes des coques de tournesol. *Thèse de Doctorat*, INP, Toulouse.
- Beardsell, D., Francis, J., Ridley, D. & Robards, K.** (2002). Heath promoting constituents implemment derived edible oils. *Journal of Food Lipids* **9**, 1–34.
- Beentje, H. J.** (1994). *Nairobi: National Museums of Kenya Trees, Shrubs, and Lianas*. .
- Bein, E., Habte, B., Jaber, A., Birnie, A. & Tengnas, B.** (1996). *Useful trees and shrubs in Eritrea: Identification, propagation and management for agricultural and pastoral communities*. Nairobi, Kenya.
- Ben Amor, B.** (2008). Maitrise de l'aptitude technologique de la matiere végétale dans les operations d'extraction de principes actifs; texturation par Détente Instantanee Controlée DIC. *Thèse de Doctorat*, Université de la Rochelle, La Rochelle.
- Benge, M. D.** (1989). Cultivation and propagation of the neem tree. In *Jacobson, M., Focus on phytochemical. Vol I, The neem tree*. Boca Raton, FL: CRC Press, 1–18.
- Benhamou, A., Kouhila, M., Zeghmami, B. & Benyoucef, B.** (2010). Modélisation des isothermes de sorption des feuilles de marjolaine. *Revue des Energies Renouvelables* **13**, 233–247.

- Berger, A., Jones, P. J. H. & Abumweis, S. S.** (2004). Plant sterols: factors affecting their efficacy and safety as functional food ingredients. *Lipids in Health and Disease* **3**, 5.
- Berhaut, J.** (1979). *Flore illustrée du Sénégal. Tome VI. Dicotylédones : Linacées à Nymphycees*. Dakar.
- Besbes, S., Blecker, C., Deroanne, C., Bahloul, N., Lognay, G., Drira, N.-E. & Attia, H.** (2004). Date Seed Oil: Phenolic, Tocopherol and Sterol Profiles. *Journal of Food Lipids* **11**, 251–265.
- Biofil** (2008). Le nim (ou neem), l'arbre miracle. .
- Booth, F. E. M. & Wickens, G. E.** (1998). *Non-timber uses of selected arid zone trees and shrubs in Africa*. Rome.
- Bouvier, J. M.** (2006). *L'extrusion : un modele d'innovation et transfert technologique ; recueil de références 50 ans de qualité, d'innovation et de service*. Firminy: Clextal, 241–255.
- Bramley, P. M., Elmadfa, I., Kafatos, A., Kelly, F. J., Manios, Y., Roxborough, H. E., Schuch, W., Sheehy, P. J. A. & Wagner, K.-H.** (2000). Vitamin E. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **80**, 913–938.
- Breyer, J. M. & Brandwijk, M. G.** (1982). *The medicinal and poisonous plants of Southern and Eastern Africa*. London: Livingstone.
- Breytenbach, U., Clark, A., Lamprecht, J. & Bouic, P.** (2001). Flow cytometric analysis of the Th1-Th2 balance in healthy individuals and patients infected with the human immunodeficiency virus (HIV) receiving a plant sterol/sterolin mixture. *Cell Biology International* **25**, 43–49.
- Briffaud, J. & Melcion, J. P.** (1986). Aptitude variétale du tournesol au décorticage. *Revue Française des Corps Gras* **33**, 11–17.
- Brisson, S.** (1996). Procédé pilote de fractionnement des coques de tournesol: étude rhéologique de la fraction hémicellulosique et de ses applications en formulation. *Thèse de Doctorat*, INP, Toulouse.
- Brown, E. J., Khodr, H., Hider, C. R. & Rice-Evans, C. A.** (1998). Structural dependence of flavonoid interactions with Cu²⁺ ions: implications for their antioxidant properties. *Biochemical Journal* **330**, 1173–1178.
- Brunauer, S., Emmett, P. H. & Teller, E.** (1938). Adsorption of Gases in Multimolecular Layers - Journal of the American Chemical Society (ACS Publications). *Journal of the American Chemical Society* **60**, 309–319.
- Butterworth, J. H. & Morgan, E. D.** (1968). Isolation of a substance that suppresses feeding in locusts. *Chemical Communications* **23**.
- Butterworth, J. H. & Morgan, E. D.** (1971). Locust feeding inhibition of the seeds of the neem tree, *Azadirachta indica*. *Journal of Insect Physiology* **17**, 969–977.

- Celhay, C.** (2013). Fractionnement de coproduits de pin maritime (*Pinus pinaster*) et de peuplier (*Populus tremula*) pour l'obtention d'extraits polyphénoliques à activité antioxydante : procédé d'extraction aqueuse en extracteur bi-vis et étude des conditions subcritiques. *Thèse de Doctorat*, INP, Toulouse.
- Chabanon, G.** (2005). Hydrolyses enzymatiques d'isolats protéiques issus de tourteaux de colza : cinétique, modélisation, caractérisation et fonctionnalité des peptides. *Thèse de Doctorat*, INP de Lorraine, Nancy.
- Chapagain, B. P.** (2006). Characterization of desert date (*Balanites aegyptiaca*) saponins and their biological activities. *Doctor of Philosophy*, Ben-Gurion University of the Negev, Negrev.
- Chapagain, B. P. & Wiesman, Z.** (2007). Determination of saponins in the kernel cake of *Balanites aegyptiaca* by HPLC-ESI/MS. *Phytochemical Analysis* **18**, 354–362.
- Chapagain, B. P., Yehoshua, Y. & Wiesman, Z.** (2009). Desert date (*Balanites aegyptiaca*) as an arid lands sustainable bioresource for biodiesel. *Bioresource Technology* **100**, 1221–1226.
- Chaurasia, J.** (1978). Antibacterial activity of essential oils of four medicinal plants. *Indian Journal of Hospital Pharmacy* **15**, 166–168.
- Chemat, F.** (2011). *Eco-extraction du végétal : procédés innovants et solvants alternatifs*. .
- Chopra, I. C., Gupta, K. C. & Nazir, B. N.** (1952). Preliminary study of antibacterial substance from *Melia azadirachta*. *Indian Journal of Medical Research* **40**, 511–515.
- Chothani, D. & Vaghasiya, H.** (2011). A review on *Balanites aegyptiaca* Del (desert date): phytochemical constituents, traditional uses, and pharmacological activity. *Pharmacognosy Reviews* **5**, 55.
- Colas, D.** (2012). Etude de la bioraffinerie des plantes vertes: Application au fractionnement des protéines de Luzerne par extrusion bi-vis et chromatographie hydrophobe. *Thèse de Doctorat*, INP, Toulouse.
- Collins, S., Counet, C., Callemien, D. & Jerkovic, V.** (2011). *Polyphénols et procédés*. Paris, France.
- Cramer, R.** (1979). Neue Tetra- and Pentanortriterpenoide aus *Azadirachta indica* A. Juss (Meliaceae) mit insektenfräl3hemmender Wirkung. *Doctor Thesis*, University of Tübingen, Germany.
- Dai, J.** (1999). Microwave-assisted extraction (MAE) of neem and the development of a colorimetric method for the determination of azadirachtin related limonoids. *Thesis of Graduate Studies and Research*, University Montreal, QC, Canada.
- Debelmas, A. M. & Hache, J.** (1976). Etude pharmacologique de quelques plantes médicinales du Nepal. Toxicité aigue, étude comportementale et action sur le système nerveux central. *Plantes Médicinales et Phytothérapie* **10**, 118–138.

- Dekker, R. F. H. & Wallis, A. F. A.** (1983). Autohydrolysis-explosion as pre-treatment for the enzymic saccharification of sunflower seed hulls., 5(5), 311-316. *Biotechnology Letters* **5**, 311–316.
- Demir, C. & Cetin, M.** (1999). Determination of tocopherols, fatty acids and oxidative stability of pecan, walnut and sunflower oils. *Deutsche Lebensmittel-Rundschau* **95**, 278–282.
- Deshmukh, S. J. & Bhuyar, L. B.** (2009). Transesterified Hingan (Balanites) oil as a fuel for compression ignition engines. *Biomass and Bioenergy* **33**, 108–112.
- Devarkumar, C., Goswami, B. K. & Mukerjee, S. K.** (1985). Nematicidal principles from neem (*Azadirachta indica* A. Juss). Part I. Screening of neem kernel fractions against *Meloidogyne incognita*. *Indian Journal of Nematology* **15**, 0303-6960.
- Dial NDiaye, F.** (1997). Contribution à l'étude chimique et biochimique des graines de *Balanites aegyptiaca* (L.) Del. (Simarubaceae) et de *Parinari macrophylla* Sabine (Rosaceae). *Thèse de Doctorat*, Université de Dakar (UCAD), Dakar.
- Diallo, F. B., Bégin, D. & Gérin, M.** (2010). *La substitution des solvants par les esters méthyliques d'acides gras d'huiles végétales*. Bilans de connaissances, 90.
- Diedhiou, D., Faye, M., N'Diaye, S., Kane, C., Sock, O. & Rigal, L.** (2010). Etude de la variabilité des teneurs et de la caractérisation des huiles des graines de neem (*Azadirachta indica* A. Juss) selon différentes zones géographiques du Sénégal. *Journal de la Société Ouest-Africaine de Chimie* **5**, 15–24.
- Djenontin, T. S., Wotto, V. D., Avlessi, F., Lozano, P., Sohounhloué, D. K. C. & Pioch, D.** (2012). Composition of *Azadirachta indica* and *Carapa procera* (Meliaceae) seed oils and cakes obtained after oil extraction. *Industrial Crops and Products* **38**, 39–45.
- Doughari, J. H., Pukuma, M. S. & De, N.** (2007). Antibacterial effects of *Balanites aegyptiaca* L. Drel. and *Moringa oleifera* Lam. on *Salmonella typhi*. *African Journal of Biotechnology* **6**.
- Dubreucq, B., Grappin, P., Miquel, M., North, H., Rochat, C. & Jullien, M.** (2001). Nord : Impacts des Biotechnologies Recherche Approches moléculaires de la qualité et du développement des graines. *Oléagineux, Corps gras, Lipides* **8**, 487–495.
- Dufaure, C., Leyris, J., Rigal, L. & Mouloungui, Z.** (1999). A twin-screw extruder for oil extraction: I. Direct expression of oleic sunflower seeds. *Journal of the American Oil Chemists' Society* **76**, 1073–1079.
- Dwivedi, A., Joshi, V., Barpete, P. K., Akhtar, A. K., Kaur, A. & Kumar, S.** (2009). Anthelmintic Activity of Root Bark of *Balanites aegyptiaca* (L.) Del. *Ethnobotanical Leaflets* **13**, 564–567.
- Edem, D. O.** (2002). Palm oil: Biochemical, physiological, nutritional, hematological and toxicological aspects: A review. *Plant Foods for Human Nutrition* **57**, 319–341.
- Ekanem, J.** (1976). Dongo-yaro. Does it work ? *Nigerian Medical Journal* **8**, 8–10.

- Elamin, M. M. & Satti, A. A.** (2013). Insecticidal potentialities of *Balanites aegyptiaca* extracts against the khapra beetle (*Trogoderma granarium*). *Global Advanced Research Journal of Environmental Science and Toxicology* **2**, 005-010.
- El-Ghazali, G. E. B., El-Tohami, M. S. & El-Egami, A. A. B.** (1994). *Medicinal plants of the Sudan: Medicinal plants of the White Nile Provinces*. Kjatoum, Soudan.
- Elzaawely, A., Xuan, T., Koyama, H. & Tawata, S.** (2007). Antioxidant activity and contents of essential oil and phenolic compounds in flowers and seeds of *Alpinia zerumbet* (Pers.) B.L. Burtt. & R.M. Sm. *Food Chemistry* **104**, 1648–1653.
- Eppler, A.** (1993). Untersuchungen zum hemmenden Einfluß von Niem auf Virusinfektionen bei Pflanzen. II. Samen. *Med. Fac. Landbouww Iniversity of Gent* **58**, 1135–1144.
- Ermel, K., Pahlich, E. & Schmutterer, H.** (1987). 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)*.
- Evon, P.** (2008). 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.
- Evon, P., Kartika, I. A. & Rigal, L.** (2014). New Renewable and Biodegradable Particleboards from *Jatropha* Press Cakes. *Journal of Renewable Materials* **2**, 52–65.
- Evon, P., Vandenbossche, V., Pontalier, P. Y. & Rigal, L.** (2007). 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* **2**, 351–359.
- Evon, P., Vandenbossche, V., Pontalier, P. Y. & Rigal, L.** (2009). Aqueous extraction of residual oil from sunflower press cake using a twin-screw extruder : Feasibility study. *Industrial Crops and Products* **29**, 455–465.
- Evrard, J.** (2005). Les tourteaux d'oléagineux, source de protéines en alimentation animale. *OCL* **12**, 224–227.
- FAO** (1993). *AGROSTAT Main Frame. Indicateurs socio-économiques de la Banque mondiale (WSI)*. Rome.
- Farooq, A. S., Gaffney, M., Ansari, M. A., Prasad, M. & Butt, T. M.** (2008). Neem seed cake enhances the efficacy of the insect pathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* for the control of black vine weevil, *Otiornychus sulcatus* (Coleoptera : Curculionidae). *Biological Control* **44**, 111–115.
- Faye, M.** (2010). Nouveau procédé de fractionnement de la graine de neem (*Azadirachta indica* A. Juss) sénégalais : production d'un bio pesticide d'huile et de tourteau. *Thèse de Doctorat*, INP, Toulouse.

- Feinberg, M., Favier, J. C. & Ireland-Ripert, J.** (1987). Répertoire général des aliments. *In Tables de Composition des Corps Gras*. Paris: Lavoisier-Tec & Doc.
- Forster, P. & Moser, G.** (2000). Status report on global Neem usage. Ed. Eschborn globulins in low moisture conditions. *Thermochimica Acta* **398**, 195–201.
- Fortin, D., Lo, M. & Maynard, G.** (1997). *Plantes médicinales du Sahel*. Dakar.
- Gao, C., Tian, C., Lu, Y., Xu, J., Luo, J. & Guo, X.** (2011). Essential oil composition and antimicrobial activity of *Sphallerocarpus gracilis* seeds against selected food-related bacteria. *Food Control* **22**, 517–522.
- Geneau, C.** (2006). Procédé d'élaboration d'agromatériau composite naturel par extrusion bi-vis et injection moulage de tourteau de tournesol. *Thèse de Doctorat*, INP, Toulouse.
- Godon, B.** (1985). *Les protéines végétales. Coordination*. Lavoisier.
- Gossé, B., Amissa, A. A., Anoh Adjé, F., Bobélé Niamké, F., Ollivier, D. & Ito, Y.** (2005). Analysis of Components of Neem (*Azadirachta indica*) Oil by Diverse Chromatographic Techniques. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies* **28**, 2225–2233.
- Govindachari, T. R., Sandhya, G. & Ganeshraj, S. P.** (1990). Simple method for the isolation of azadirachtin by preparative high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A* **513**, 389–391.
- Govindachari, T. R., Sandhya, G. & Ganeshraj, S. P.** (1991). Isolation of novel azadirachtins H and I by high-performance liquid chromatography. *Chromatographia* **31**, 303–305.
- Gowda, S. K., Sastry, V. R. B. & Katiyar, R. C.** (1998). Study on the utilization of neem kernel meal as a protein supplement for growing rabbits. *Indian Veterinary Journal* **75**, 281–282.
- Gruber, J. K.** (1991). Fruchtertrag and Azadirachtin gehalt der Samen Von. *Azadirachta indica* A. Juss auf verschiedenen Standorten in Nicaragua. *Doctor Thesis*, Techn. University of Berlin, Germany.
- Guggenheim, E. A.** (1966). *Applications of statistical mechanics*. Oxford, 186–206.
- Guillaume, J., Kaushik, S., Bergot, P., Métailler, R.** (1999). Nutrition et alimentation des poissons et crustacés. *INRA Editions, IFREMER*, Paris.
- Gustone, F. D. & Pandley, F. B.** (1997). *Lipid technologies Applications*. New York: Marcel Dekker INC.
- Gutel, T.** (2007). Les liquides ioniques, leur utilisation et leur rôle comme solvants de réaction catalytique. *Thèse de Doctorat*, Université Claude Bernard, Lyon.
- Gutti, B., Bamidele, S. S. & Bugaje, I. M.** (2012). Characterization and composition of *Balanite aegyptiaca* seed oil and its potential as biodiesel feedstock in Nigeria. *Journal of Applied Phytotechnology in Environmental Sanitation* **1**.

- Guyomard, P.** (1994). Étude de faisabilité d'un extrudeur bi-vis en pressage-extrusion de graines oléagineuses. *Thèse de Doctorat*, Université Technologique de Compiègne.
- Haidara, A. O.** (1996). Valorisation d'une huile végétale tropicale : l'huile de pourghère. *Mémoire Maitrise*, Canada, Université de Sherbrooke.
- Hajhashemi, V., Ghannadi, A. & Jafarabadi, H.** (2004). Black cumin seed essential oil, as a potent analgesic and antiinflammatory drug. *Phytotherapy Research* **18**, 195–199.
- Hall, J. B. & Walker, D. H.** (1991). *Balanites aegyptiaca Del. - A monograph*. Banger: University of Wales.
- Hansen, C. M.** (1967a). Hansen, C.M. (1967a). The three dimensional solubility parameter – key to paint component affinities I. *Journal of Paint Technology* **39**, 104–117.
- Hansen, C. M.** (1967b). The three dimensional solubility parameter – key to paint component affinitie II. *Journal of Paint Technology* **39**, 505–510.
- Hansen, C. M.** (2007). *Hansen solubility parameters : a user's handbook*. Boca Raton.
- Hatakeyama, T. & Hatakeyama, H.** (2006). *Thermal Properties of Green Polymers and Biocomposites*. Springer Science & Business Media.
- Henderson, S. M.** (1952). A basic concept of equilibrium moisture. *Agricultural Engineering* **33**, 29–32.
- Heyde, J. V. D., Saxena, R. C. & Schmutterer, H.** (1984). Neem oil and extracts as potentiel insecticides for control of hemipterous rice pests. .
- Hosney, M., Khalifa, T., Calis, I., Wright, A. D. & Sticher, O.** (1992). Balanitosides, a furostanol glycoside and 6-methyl-diosgenin from *Balanites aegyptiaca*. *Phytochemistry* **31**, 3565–3569.
- Hostettmann, K. & Marston, A.** (2005). *Saponins*. Cambridge University Press.
- Huang, A. H.** (1996). Oleosins and oil bodies in seeds and other organs. *Plant Physiology* **110**, 1055–1061.
- Humbert, J.** (2008). 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.
- Ishida, M., Serit, M., Nakata, K., Raj Juneja, L., Kim, M. & Takahashi, S.** (1992). Several Antifeedants from Neem Oil, *Azadirachta indica* A. Juss., against *Reticulitermes speratus* Kolbe (Isoptera: Rhinotermitidae). *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry* **56**, 1835–1838.
- Isman, M. B., Koul, O., Luczynski, A. & Kaminski, J.** (1990). Insecticidal and antifeedant bioactivities of neem oils and their relationship to azadirachtin content. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **38**, 1406–1411.

- Isobe, S., Zuber, F., Uemura, K. & Noguchi, A.** (1992). A new twin-screw press design for oil extraction of dehulled sunflower seeds. *Journal of the American Oil Chemists Society* **69**, 884–889.
- Jaganathan, R. & Narasimhan, V.** (1988). Effect of plant extracts / products on two fungal pathogens of finger millet. *Indian Journal of Mycology* **18**, 250–258.
- Jagtap, S. D., Deokule, S. S., Pawar, P. K. & Harsulkar, A. M.** (2009). Traditional ethnomedicinal knowledge confined to the Pawra Tribe of Satpura Hills, Maharashtra, India. *Ethnobotanical Leaflets* **13**, 98–115.
- Jain, N., Srivastava, S. K., Aggarwal, K. K., Ramesh, S. & Kumar, S.** (2001). Essential oil composition of *Zanthoxylum alatum* seeds from northern India. *Flavour and Fragrance Journal* **16**, 408–410.
- Jain, P. P., Suri, R. K., Deshmukh, S. K. & Mathur, K. C.** (1987). Fatty acid from oilseeds of forest origin as antibacterial agent. *Indian Forester* **297–299**.
- Jallabert, B.** (2014). Etude du comportement sous pression mécanique uniaxiale de la cellulose et de l'amidon (natif et amorphe): influence de la température et du taux d'hydratation. *Thèse de Doctorat*, INP, Toulouse.
- Jarvis, A. P., Morgan, E. D. & Edwards, C.** (1999). Rapid separation of triterpenoids from Neem seed extracts. *Phytochemical Analysis* **10**, 39–43.
- Jerez, M., Tourino, S., Sineiro, J., Lluís Torres, J. & Nunez, M. J.** (2007). Procyanidins from pine bark : Relationships between structure, composition and antiradical activity. *Food chemistry* **104**, 518–527.
- Johnson, S. & Morgan, E. D.** (1997). Comparison of chromatographic systems for triterpenoids from Neem (*Azadirachta indica*) seeds. *Journal of Chromatography A* **761**, 53–63.
- Johnson, S., Morgan, E. D. & Peiris, C. N.** (1996). Development of the major triterpenoids and oil in the fruit and seeds of neem (*Azadirachta indica*). *Annals of Botany* **78**, 383–388.
- Jorda, J.** (2003). 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.
- Jouanny-Bouyer, E.** (2011). Stabilisation d'émulsions d'intérêt pharmaceutique par des protéines et des polysaccharides : exemples de la β -lactoglobuline, de la gomme arabique et de la gomme xanthane. *Thèse de Doctorat*, Université Paris-Sud 11, Paris.
- Kakou, K. E., Akmel, D. C., Abouo, N. V., Assidjo, N. E. & Niamké, L. S.** (2015). Isotherme d'adsorption d'eau des fèves de cacao (*Theobroma cacao* L.) Marchand. *European Scientific Journal* **11**, 355–370.
- Kamel, M. S.** (1998). A furostanol saponin from fruits of *Balanites aegyptiaca*. *Phytochemistry* **48**, 755–757.

- Kanya, T. C. S., Rao, L. J. & Sastry, M. C. S.** (2007). Characterization of wax esters, free fatty alcohols and free fatty acids of crude wax from sunflower seed oil refineries. *Food Chemistry* **101**, 1552–1557.
- Karmegam, N., Karuppusamy, S., Prakash, M., Jayakumar, M. & Rajasekar, K.** (2008). Antibacterial potency and synergistic effect of certain plant extracts against food-borne diarrheagenic bacteria. *International Journal of Biomedical and Pharmaceutical Sciences* **2**, 88–93.
- Karuppusamy, S., Rajasekharan, K. M. & Karmegam, N.** (2002). Antibacterial activity of *Balanites aegyptiaca* (L). Del. ., 12, 67-8. *Journal of Ecotoxicol Environ Sci Monitoring* **12**, 67–8.
- Kassing, M., Jenelten, U., Schenk, J. & Strube, J.** (2009). A new approach for process development of plant-based extraction process. *Chemical Engineering Technology* **33**, 377–387.
- Katiyar, S. K., Afaq, F., Perez, A. & Mukhtar, H.** (2001). Green tea polyphenol (–)-epigallocatechin-3-gallate treatment of human skin inhibits ultraviolet radiation-induced oxidative stress. *Carcinogenesis* **22**, 287–294.
- Kaura, S. K., Gupta, S. K. & Chowdhury, J. B.** (1998). 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.
- Kaushik, N.** (2002). Determination of azadirachtin and fatty acid methyl esters of *Azadirachta indica* seeds by HPLC and GLC. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* **374**, 1199–1204.
- Kaushik, N. & Vir, S.** (2000). Variations in fatty acid composition of neem seeds collected from the Rajasthan state of India. *Biochemical Society Transactions* **28**, 880–882.
- Ketkar, C. M.** (1976). *Utilisation of neem (Azadirachta indica Juss) & Its By-products*. Bombay, India: Industries Commission.
- Khalid, S. A., Duddeck, H. & Gonzalez-Sierra, M.** (1989). Isolation and characterization of an antimalarial agent of the neem tree *Azadirachta indica*. *Journal of Natural Products* **52**, 922–927.
- Khan, A. M., Alam, M. M., Siddiqi, Z. A. & Saxena, S. K.** (1976). Efficacy of nematicides and oilcakes for the control of phyto-parasitic nematodes in nurseries of perennial plants. *Geobios* **3**, 78–81.
- Khan, F. M.** (2009). Ethno-veterinary medicinal usage of flora of greater Cholistan desert (Pakistan). *Pakistan Veterinary Journal* **29**, 75–80.
- Khare, C. P.** (2008). Indian medicinal plants : An illustrated dictionary. In 2004, Springer-Verlag Heidelberg published C.P.Khare's "Encyclopedia of Indian Medicinal Plants." Springer Science & Business Media.
- Klinge, M.** (1985). Untersuchungen zur fräß- und entwicklungsstörenden Aktivität von Meliaceen-Inhaltsstoffen: Entwicklung und Anwendung eines Testverfahrens für den

- agyptischen Baumwollwurm *Spodoptera littoralis*. *Doctor Thesis*, University of Hohenheirn, Germany.
- Koko, W. S., Galal, M. & Khalid, H. S.** (2000). Fasciolicidal efficacy of *Albizia anthelmintica* and *Balanites aegyptiaca* compared with albendazole. *Journal of Ethnopharmacology* **71**, 247–252.
- Kraus, W.** (1984). Biologically active compounds from Meliaceae. *Studies in Organic Chemistry* **17**, 331–345.
- Kraus, W.** (1995). *Biological active ingredients in the neem tree: Azadirachta indica A. Juss. and other meliaceous plants : sources of unique natural products for integrated pest management, medicine, industry and other purposes*. Schmutterer, H. New York.
- Kraus, W., Baumann, S., Bokel, M., Keller, U., Klenk, A., Klingele, M., Pohnl, H. & Schwinger, M.** (1987). 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 and other tropical plants. Proc. 3rd Int. Neem Conf., (Nairobi, Kenya, 1986), 149-160.*, 149–160.
- Kraus, W. & Bokel, M.** (1981). Neue Tetranortriterpenoide aus *Melia azedarach* Linn. (Meliaceae). *Chemische Berichte* **114**, 267–275.
- Kraus, W., Bokel, M., Klenk, A. & Pöhn, H.** (1985). The structure of azadirachtin and 22, 23-dihydro-23 β -methoxyazadirachtin. *Tetrahedron Letters* **26**, 6435–6438.
- Kraus, W., Bokel, M., Schwinger, M., Vogler, B., Soellner, R., Wendisch, D., Steffens, R. & Wachendorff, U.** (1993). The chemistry of azadirachtin and other insecticidal constituents of Meliaceae, 18-39. In Van Beek, T., Breteler, H. [Eds.] *Phytochemistry and Agriculture*.
- Kritchevsky, D. & Chen, S. C.** (2005). Phytosterols—health benefits and potential concerns: a review. *Nutrition Research* **25**, 413–428.
- Kubo, I. & Klocke, J. A.** (1986). Insect ecdysis inhibition, 206-219. In *Natural resistance of plants to pests; Green, M.B., Hedin, P.A., Eds.; ACS symposium Series 296*. Washington, DC: American Chemical Society.
- Kubo, L. & Klocke, J. A.** (1982). Azadirachtin, insect ecdysis inhibitor. *Agricultural and Biological Chemistry* **46**, 1951–1953.
- Kubo, L., Matsumoto, A., Matsumoto, T. & Klocke, J. A.** (1986). New insect ecdysis inhibitory limonoid deacetylazadirachtinol isolated from *Azadirachta indica* (Meliaceae) oil. *Tetrahedron* **42**, 489–496.
- Kulkarni, M. G., Dalai, A. K. & Bakhshi, N. N.** (2007). Transesterification of canola oil in mixed methanol/ethanol system and use of esters as lubricity additive. *Bioresource Technology* **98**, 2027–2033.
- Kumar, A. R. V., Jayadevi, H. C., Ashoka, H. J. & Chandrashekhara, K.** (2003). Azadirachtin use efficiency in commercial neem formulations. *Journal of Current Science* **84**, 1459–1464.

- Kumar, J. & Parmar, B. S.** (1996). Physicochemical and Chemical Variation in Neem Oils and Some Bioactivity Leads against *Spodoptera litura* F. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **44**, 2137–2143.
- Kurose, K. & Yatagai, M.** (2005). Components of the essential oils of *Azadirachta indica* A. Juss, *Azadirachta siamensis* Velton, and *Azadirachta excelsa* (Jack) Jacobs and their comparison. *Journal of Wood Science* **51**, 185–188.
- La Camera, S., Gouzerh, G., Dhondt, S., Hoffmann, L., Fritig, B., Legrand, M. & Heitz, T.** (2004). Metabolic reprogramming in plant innate immunity: the contributions of phenylpropanoid and oxylipin pathways. *Immunological Reviews* **198**, 267–284.
- Lacaze-Dufaure, C.** (1998). 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.
- Lacaze-Dufaure, C., Mouloungui, Z., Leyris, J., Rigal, L., Gazet, A. & Silvestre, F.** (1996). Procédé et dispositif pour la fabrication d'ester d'acides gras à partir de graines oléagineuses. *Brevet Français FR 2, 747 128*.
- Lagunez Rivera, M. S.** (2006). Valorisation de la bagasse de l'agave tequilana W. cv azul : caractérisation, étude de la digestibilité et de la fermentation des sucres. *Thèse de Doctorat*, INP, Toulouse.
- Lalou, A.** (1995). Mise au point d'un procédé d'extraction des hemicelluloses à partir d'un substrat végétal ligno-cellulosique : application au cas des coques de tournesol. *Thèse de Doctorat*, INP, Toulouse.
- Lavie, D. & Jain, M. K.** (1967). Tetranortriterpenoids from *Melia azadirachta* L. *Chemical Communications* 278–280.
- Lavie, D. & Levy, E. C.** (1971). Oxidative reactions of biogenetic interest. *Tetrahedron Letters* 1315–1316.
- Lavie, D., Levy, E. C. & Jain, M. K.** (1971). Limonoids of biogenetic interest from *Melia azadirachta* L. *Tetrahedron* **27**, 3927–3939.
- Le Prince, O., Van Aelst, A. C., Pritchard, H. W. & Murphy, D. J.** (1997). Oleosins prevent oil-body coalescence during seed imbibition as suggested by a low-temperature scanning electron microscope study of desiccation-tolerant and -sensitive oilseeds. *Planta* **204**, 109–119.
- Leclerc, M. C., Henzé, V., Tran, G., Rouillé B.** (2016). Coproduit d'huilerie de tournesol. *Fiche Coproduit - Tourteau de Tournesol*, 11 p.
- Lecomte, J.** (2009). Les cires végétales : sources et applications. *OCL* **16**, 262–266.
- Lee, S. M., Klocke, J. A., Barnaby, M. A., Yamasaki, R. B. & Balandrin, M. F.** (1991). Insecticidal constituents of *Azadirachta indica* and *Melia azedarach* (Meliaceae). In Hedin, P.A. [Ed.] *Naturally Occurring Pest Bioregulators*. Washington, DC.: American Chemical Society, 293–304.

- Lee, S. M., Olsen, J. I., Schweizer, M. P. & Klocke, J. A.** (1988). 7-Deacetyl-1713-hydroxyazadiradione, a new limonoid insect growth inhibitor from *Azadirachta indica*. *Phytochemistry* **27**, 2773–2775.
- Ley, S. V., Denholm, A. A. & Wood, A.** (1993). The chemistry of azadirachtin. *Natural Product Reports* **10**, 109–157.
- Leybros, J. & Frémeaux, P.** (1990). *Extraction solide-liquide : Techniques et appareillage*. Techniques de l'Ingénieur, Traité de Génie des Procédés J 2 782/1 - J 2 782/22.
- Leyris, J.** (1998). Valorisation du tourteau de tournesol: étude, procédé et modélisation de l'extraction des protéines - Exploitation de leurs propriétés fonctionnelles en vue de l'obtention d'aromatériaux. *Thèse de Doctorat*, INP, Toulouse.
- Leyris, J., Silvestre, F., Rigal, L. & Gazet, A.** (1998). Procédé de fabrication d'objets à partir de matière première végétale par formage ou thermoformage. *Brevet Français FR 2 784 047*.
- Liener, I. E.** (1994). Implications of antinutritional components in soybean foods. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* **34**, 31–67.
- Liu, M.-J., Wang, Z., Ju, Y., Wong, R. N.-S. & Wu, Q.-Y.** (2005). Diosgenin induces cell cycle arrest and apoptosis in human leukemia K562 cells with the disruption of Ca²⁺ homeostasis. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology* **55**, 79–90.
- Lockett, C. T., Calvert, C. C. & Grivetti, L. E.** (2000). Energy and micronutrient composition of dietary and medicinal wild plants consumed during drought. Study of rural Fulani, Northeastern Nigeria. *International Journal of Food Sciences and Nutrition* **51**, 195–208.
- Luo, X., Ma, Y., Wu, S. & Wu, D.** (1999). Two Novel Azadirachtin Derivatives from *Azadirachta indica*. *Journal of Natural Products* **62**, 1022–1024.
- Luscombe, D. K. & Taha, S. A.** (1974). Pharmacological studies on the leaves of *Azadirachta indica*. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* **26**, 110P–111P.
- Lütjohann, D., Björkhem, I., Beil, U. F. & von Bergmann, K.** (1995). Sterol absorption and sterol balance in phytosterolemia evaluated by deuterium-labeled sterols: effect of sitostanol treatment. *Journal of Lipid Research* **36**, 1763–1773.
- MacKimon, S., Durst, T., Amason, J. T., Angerhofer, C., Puzzuto, J., Sanchez-Vidas, P. E., Poveda, L. J. & Gbeassor, M.** (1997). Antimalarial activity of tropical Meliaceae extracts and gedunin derivatives. *Journal of Natural Products* **60**, 336–341.
- Manolas, C.** (1993). Fractionnement du sorgho à fibre. Extraction et caractérisation des hémicellulose de la moëlle. Etude des matériaux composites. *Thèse de Doctorat*, INP, Toulouse.
- Manolas, C., Gazet, A., Jamet, J. P., Rigal, L. & N'Diaye, S.** (1995). Process for depithing pith containing plants, in particular sorghum. .

- Mansfield, J. W.** (1983). Antimicrobial compounds. In *Biochemical plant pathology*, J.A. Callow. Chichester, UK, 237–265.
- Maréchal, P.** (2001). 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.
- Marechal, V. & Rigal, L.** (1999). Characterization of by-products of sunflower culture – commercial applications for stalks and heads. *Industrial Crops and Products* **10**, 185–200.
- Matthews, S., Mila, I., Scalbert, A., Pollet, B., Lapierre, C., Hervé du Penhoat, C. L. M., Rolando, C. & Donnelly, D. M. X.** (1997). Method for Estimation of Proanthocyanidins Based on Their Acid Depolymerization in the Presence of Nucleophiles. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **45**, 1195–1201.
- McCann, S. E., Freudenheim, J. L., Marshall, J. R., Brasure, J. R., Swanson, M. K. & Graham, S.** (2000). Diet in the epidemiology of endometrial cancer in Western New York (United States). *Cancer Causes & Control* **11**, 965–974.
- McCann, S. E., Freudenheim, J. L., Marshall, J. R. & Graham, S.** (2003). Risk of human ovarian cancer is related to dietary intake of selected nutrients, phytochemicals and food groups. *The Journal of Nutrition* **133**, 1937–1942.
- McKenna, B. M.** (1984). Description of water activity of foods for engineering purposes by means of the G.A.B. model of sorption. *Van den Berg C.* paper presented at the (Ed.). Engineering and Foods,. New York, United States: *Elsevier Applied Science Publishers*, 311–320.
- Meisner, J., Ascher, K. R. S., Aly, R. & Warthen, J. D.** (1981). Response of *Spodoptera littoralis* (Boisd.) and *Earias insulana* (Boisd.) larvae to azadirachtin and salannin. *Phytoparasitica* **9**, 27–32.
- Mellouk, H.** (2009). Extraction des volatils à partir du bois par Détente Instantanée Contrôlée (DIC): valorisation industrielle des extraits et résidus solides. *Thèse de Doctorat*, Université de la Rochelle, La Rochelle.
- Mendilaharsu, M., De Stefani, E., Deneo-Pellegrini, H., Carzoglio, J. & Ronco, A.** (1998). Phytosterols and risk of lung cancer: a case-control study in Uruguay. *Lung Cancer* **21**, 37–45.
- Mensier, P. H.** (1957). *Dictionnaire des huiles végétales*. Paris.
- Merrien, A., Morice, J., Pouzet, A., Morin, O. & Sultanac, C.** (1992). Graines oléagineuses des climats tempérés et leurs huiles. In *Karlskind A, Ed. Manuel des corps gras*. Paris, 116–164.
- Mghazli, S., Idlimam, A., Mahrouz, M., Lahnine, L., Hidar, N., Ouhammou, M., Mouhib, M., Zantar, S. & Bouchdoug, M.** (2016). Comparative moisture sorption isotherms, modelling and isosteric heat of sorption of controlled and irradiated Moroccan rosemary leaves. *Industrial Crops and Products* **88**, 28–35.

- Michel, T.** (2011). Nouvelles méthodologies d'extraction, de fractionnement et d'identification: Application aux molécules bioactives de l'argousier (*Hippophaë rhamnoides*). *Thèse de Doctorat*, Université d'Orléans, Orléans.
- Mohamed, A. M., Wolf, W. & Spieß, W. E. L.** (2002). Physical, morphological and chemical characteristics, oil recovery and fatty acid composition of *Balanites aegyptiaca* Del. kernels. *Plant Foods for Human Nutrition* **57**, 179–189.
- Momchilova, S., Antonova, D., Marekov, I., Kuleva, L., Nikolova-Damyanova, B. & Jham, G.** (2007). 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 & Related Technologies* **30**, 11–25.
- Mordue, A. J. & Blackwell, A.** (1993). Azadirachtin: an update. *Journal of Insect Physiology* **39**, 903–924.
- Moreau, R. A., Whitaker, B. D. & Hicks, K. B.** (2002). Phytosterols, phytostanols, and their conjugates in foods: structural diversity, quantitative analysis, and health-promoting uses. *Progress in Lipid Research* **41**, 457–500.
- Morgan, E. D.** (2009). Azadirachtin, a scientific gold mine. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **17**, 4096–4105.
- Morris, M. C., Evans, D. A., Tangney, C. C., Bienias, J. L., Wilson, R. S., Aggarwal, N. T. & Scherr, P. A.** (2005). Relation of the tocopherol forms to incident Alzheimer disease and to cognitive change. *The American Journal of Clinical Nutrition* **81**, 508–514.
- Mouffok, B., Raffy, E. & Zicola, J.** (2008). *Le neem, un insecticide biologique efficace*. Toulouse: Université Paul Sabatier IUT, Département génie biologique.
- Mukherji, B.** (1957). Indigenous Indian drugs used in the treatment of diabetes. *Journal of Scientific and Industrial Research* **16A**, 1–18.
- Munoz-Valenzuela, S., Ibarra-Lopez, A. A., Rubia-Silva, L. M., Vadez-Davila, H. & Borboa-Flores, J.** (2007). Neem tree morphology and oil content. *In new crops and new uses*. Janick, J. et Whipkey, A. (eds). Alexandria, VA.
- Murthy, S. P. & Sirsi, M.** (1958). Pharmacology studies in *Melia azadirachta*. Part II. Estrogenic and antipyretic activity of neem oil and its fractions. *Indian Journal of Physiology and Pharmacology* **2**, 456–461.
- Musalia, L. M., Anandan, S., Sastry, V. R. B. & Agrawal, D. K.** (2000). Urea-treated neem (*Azadirachta indica* A. juss) seed kernel cake as a protein supplement for lambs. *Small Ruminant Research* **35**, 107–116.
- Nagalakshmi, D. N.** (1993). Performance of broiler chicks fed processed neem (*Azadirachta indica*) as a protein supplement. *M. V. Sc. Thesis*, Indian Veterinary Research Institute, Izatnagar, India: 126–130.
- Nagesh, M., Hussaini, S. S., Singh, S. P. & Biswas, S. R.** (2003). Management of Root-knot Nematode, *Meloidogyne incognita* (kofoid & amp; White) Chitwood in

- Chrysanthemum Using *Paecilomyces lilacinus* (Thom) Samson in Combination with Neem Cake. *Journal of Biological Control* **17**, 125–131.
- Narayanan, C. R. & Iyer, K. N.** (1967). Isolation & characterisation of deacetylnimbin. *Indian J. Chem.*, **5**, 460. *Indian Journal of Chemistry* **5**, 460.
- Narayanan, C. R., Pachapurkar, R. V., Pradhan, S. K., Shah, Y. R. & Narasimhan, N. S.** (1964). Structure of nimbin. *Indian Journal of Chemistry* **2**, 108–113.
- National Research Council** (1992). *Neem: A Tree for Solving Global Problems*. Washington, DC.: National Academies.
- N'Diaye, S. & Rigal, L.** (2000). 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. *Bioresource Technology* **75**, 13–18.
- N'Diaye, S., Rigal, L., Larocque, P. & Vidal, P. F.** (1996). Extraction of hemicelluloses from poplar, *Populus tremuloides*, using an extruder-type twin-screw reactor: A feasibility study. *Bioresource Technology* **57**, 61–67.
- Ndoye, M., Diallo, I. & Gassama, Y. K.** (2004). Reproductive biology in *Balanites aegyptiaca* (L.) Del., a semi-arid forest tree. *African Journal of Biotechnology* **3**, 40–46.
- Nononene, A. Y.** (2009). 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.
- Obidah, W., Nadro, M. S., Tiyafu, G. O. & Wurochekke, A. U.** (2009). Toxicity of crude *Balanites aegyptiaca* seed oil in rats. *Journal of American Science* **5**, 13–16.
- Odunsi, A., Adegbile, S. A., Akande, T. O. & Olayeni, T. B.** (2009). Neem (*Azadirachta indica*) seed cake in the diets of cockerel chickens. *International Journal of Poultry Science* **8**, 47–51.
- Ojo, O. O., Nadro, M. S. & Tella, I. O.** (2006). Protection of rats by extracts of some common Nigerian trees against acetaminophen-induced hepatotoxicity. *African Journal of Biotechnology* **5**, 755–760.
- Okpanyi, S. N. & Ezeuhwa, G. C.** (1981). Anti-inflammatory and anti-pyretic actions of *Azadirachta indica*. *PIMT MD* **41**, 34–39.
- Oliver-Bever, B.** (1986). *Medicinal Plants in Tropical West Africa*. Cambridge University Press.
- Orliac, O.** (2002). Valorisation des protéines de tournesol: étude de leur comportement thermique, rhéologique et de leur réactivité chimique - Application à la fabrication de nouveaux matériaux biodégradables. *Thèse de Doctorat*, INP, Toulouse.
- Oswin, C. R.** (1946). The kinetics of package life. III. The isotherm. *Journal of the Society of Chemical Industry* **65**, 419–421.

- Ozel, M. Z., Gogus, F. & Lewis, A. C.** (2003). Subcritical water extraction of essential oils from *Thymbra spicata*. *Food Chemistry* **82**, 381–386.
- Paul, B. N., Hague, N. & Garg, A. K.** (1996). Effect of feeding neem seed kernel cake (*Azadirachta indica* A. Juss) on rumen enzymes of buffalo. *Indian Veterinary Journal* **73**, 1283–1285.
- Peleg, M.** (1993). Assessment of a semi-empirical four parameter general model for sigmoid moisture sorption isotherms. *Journal of Food Process Engineering* **16**, 21–37.
- Penchev, P. I.** (2010). Étude des procédés d'extraction et de purification de produits bioactifs à partir de plantes par couplage de techniques séparatives à basses et hautes pressions. *Thèse de Doctorat*, INP, Toulouse.
- Pérez-Alonso, C., Beristain, C. I., Lobato-Calleros, C., Rodriguez-Huerzo, M. E. & Vernon-Carter, E. J.** (2005). Thermodynamic analysis of the sorption isotherms of pure and blended carbohydrate polymers. *Journal of Food Engineering*.
- Pettit, G. R., Doubek, D. L., Herald, D. L., Numata, A., Takahasi, C., Fujiki, R. & Miyamoto, T.** (1991). Isolation and Structure of Cytostatic Steroidal Saponins from the African Medicinal Plant *Balanites aegyptica*. *Journal of Natural Products* **54**, 1491–1502.
- Peyrat, E.** (2000). 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.
- Peyronnet, C., Pressenda, F., Quinsac, A., Carré, P.** (2012). Impact du décorticage du tournesol sur la valeur nutritionnelle et l'intérêt économique des tourteaux en fabrication d'aliments composés. *OCL* **19**, 341–346.
- Pillai, N. R. & Santhakumari, G.** (1981). Anti-arthritic and anti-inflammatory actions of nimbidin [*Azadirachta indica*, rat]. *Planta Medica* **43**, 59–63.
- Pintiaux, T.** (2015). Etude d'un procédé de mise en forme de matières naturelles lignocellulosiques par thermocompression uniaxiale haute pression. *Thèse de Doctorat*, INP, Toulouse.
- Prakash, O., Kasana, V. K., Pant, A. K., Zafar, A., Hore, S. K. & Mathela, C. S.** (2006). Phytochemical composition of essential oil from seeds of *Zingiber roseum* Rosc. and its antispasmodic activity in rat duodenum. *Journal of Ethnopharmacology* **106**, 344–347.
- Price, K. R., Johnson, I. T., Fenwick, G. R. & Malinow, M. R.** (1987). The chemistry and biological significance of saponins in foods and feedingstuffs. *CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition* **26**, 27–135.
- Radha, K. V. & Manikandan, G.** (2011). Novel production of biofuels from neem oil. *World Renewable Energy Congress-Sweden; 8-13 May; 2011; Linköping; Sweden*. Linköping University Electronic Press, 471–478.
- Radwanski, S. A.** (1977). Neem tree. *World Crops* **29**, 22–66, 111–113, 167–168, 222–224.

- Rai, A. & Sethi, M. S.** (1972). Screening of some plants for their activity against vaccinia and fowl-pox viruses. *Indian Journal of Animal Sciences* **42**, 1066–1070.
- Rajab, M. S., Bentley, M. D., Alford, A. R. & Mendel, M. J.** (1988). A New Limonoid Insect Antifeedant from the Fruit of *Melia volkensii*. *Journal of Natural Products* **51**, 168–171.
- Rao, A. R., Sukumar, S., Paramasivam, T. V., Kamalkashi, S. & Parashuram, A. R.** (1969). Study of antiviral activity of tender leaves of Margosa tree (*Melia azadirachta*) on vaccinia and variola virus: a preliminary report. *Indian Journal of Medical Research* **57**, 495–502.
- Rao, B. S. & Rao, J. M.** (1977). *Current Science* **46**, 714–716.
- Rao, P. U.** (1987). Chemical composition and biological evaluation of debitterized and defatted neem (*Azadirachta indica*) seed kernel cake. *Journal of the American Oil Chemists' Society* **64**, 1348–1351.
- Raynal-Ioualalen, R.** (1996). Procédé de fractionnement des sons de blé. Extraction et étude des propriétés fonctionnelles des arabinoxylyanes. *Thèse de Doctorat*, INP, Toulouse.
- Reddy, K. V. C.** (1992). Performance of buffalo (*Bubalus bubalis*) calves fed alkali treated and urea-ammoniated neem (*Azadirachta indica* A. Juss) seed kernel cake incorporated rations. M. V. Sc. *Thesis*, Izatnagar, Indian Veterinary Research Institute, India.
- Reed, D. K.** (1981). *Cucumber beetle antifeedants: laboratory screening of natural products*. US Dept. of Agriculture, Science and Education Administration.
- Rembold, H.** (1989). *Isomeric azadirachtin and their mode of action*. In Jacobson, M. (ed.) *focus on phytochemical pesticides :The neem tree*. Florida, USA: RCR Press.
- Rembold, H., Forster, H., Czoppelt, C. H., Rao, P. J. & Sieber, K. P.** (1984). Natural Pesticides from the Neem Tree; Schmitterer, H., Ascher, K.R.S., Eds. *In Natural Pesticides from the Neem Tree ; Schmitterer, H., Ascher, K.R.S.* Eschborn, 153–161.
- Rengasamy, N., Kaushik, N., Kumar, J., Koul, O. & Parmar, B.** (1993). *In: Singh RP (ed) World Neem Conference Oxford and IBHCO*,. New Delhi: Oxford and IBHCO, 207.
- Reverchon, E.** (1997). Supercritical fluid extraction and fractionation of essential oils and related products. *The Journal of Supercritical Fluids* **10**, 1–37.
- Ribeyre, Q.** (2015). Influence de l'humidité de l'air sur la perte de charge d'un dépôt obtenu par filtration d'aérosols nanostructurés. *Thèse de Doctorat*, Université de Lorraine, Nancy.
- Rice, M.** (1993). Development of neem research and industry in Australia. paper presented at the World Neem Conference. Bangalore, India, 8–24.
- Rice-Evans, C. A., Miller, N. J. & Paganga, G.** (1996). Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radical Biology and Medicine* **20**, 933–956.

- Rigal, L.** (1996). *Technologie d'extrusion bi-vis et fractionnement de la matière végétale. Recueil des conférences 40 ans d'extrusion bi-vis chez Clextral*. Firminy, France.
- Rigal, L., Ioualalen, R. & Gazet, A.** (1998). Procédé pour obtenir un extrait de son désamylacé, un raffinat et un matériau obtenu à partir de ce procédé. *WO 98 317 13*.
- Rigal, M.** (2015). Fractionnement de fibres de biomasses herbacées endémiques ou cultivées dans une zone d'estuaire : Eco-conception de matériaux pour la construction. *Thèse de Doctorat*, INP, Toulouse.
- Roger, C.** (1992). Impact des pesticide chimiques et biologiques sur la survie et l'efficacité de prédation de *Coleomegilla maculata lengi* Timberlake (Coleoptera : Coccinellidae). *Mémoire de Maîtrise en Biologie*, Université du Québec, Montréal.
- Rojanapo, W., Suwnno, S., Somjaree, R., Glinsunko, T. & Thebtaranont, Y.** (1985). Mutagenic and antibacterial activity testing of nimbolide and nimbic acid. *Journal of the Science Society of Thailand* **11**, 177–181.
- Ronco, A., Stefani, E. D., Boffetta, P., Deneo-Pellegrini, H., Mendilaharsu, M. & Leborgne, F.** (1999). Vegetables, Fruits, and Related Nutrients and Risk of Breast Cancer: A Case-Control Study in Uruguay. *Nutrition and Cancer* **35**, 111–119.
- Rouilly, A.** (2002). 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.
- Rouilly, A., Orliac, O., Silvestre, F. & Rigal, L.** (2001). DSC study on the thermal properties of sunflower proteins according to their water content. *Polymer* **42**, 10111–10117.
- Rouilly, A., Orliac, O., Silvestre, F. & Rigal, L.** (2003). Thermal denaturation of sunflower globulins in low moisture conditions. *Thermochimica Acta* **398**, 195–201.
- Saharan, V., Yadav, R. C., Yadav, N. R. & Wiesman, Z.** (2011). Somatic embryogenesis and plant regeneration of *Balanites aegyptiaca* Del (L.): an industrial important arid tree. *Journal of Cell and Tissue Research* **11**, 2529.
- Sands, M. J. S.** (2001). The Desert Date and Its Relatives: A Revision of the Genus *Balanites*. *Kew Bulletin* **56**, 1.
- Sarker, S. D., Bartholomew, B. & Nash, R. J.** (2000). Alkaloids from *Balanites aegyptiaca*. *Fitoterapia* **71**, 328–330.
- Sawla, A. M. & El Hadidi, M. N.** (1998). Flavonoids of *Balanites aegyptiaca* (Balanitaceae) from Egypt. *Plant Systematics and Evolution* **160**, 153–158.
- Saxena, R. C., Jilani, G. & Kareem, A. A.** (1988). Effect of the neem on stored grain insects. In *JACOBSON, M., (Ed.) Focus on phytochemical. Vol I, The neem tree*. Boca Raton, FL.: CRC Press, 1–18.

- Schaffer, E. L.** (1973). Effect of pyrolytic temperatures on the longitudinal strength of dry ouglas-fir. *J. Testing and Evaluation* **1**, 319–329.
- Schiffers, B. C., Dieye, A., Ntema, P., Dieye, B. & Ekukole, G.** (1997). Analyse de l'azadirachtine par HPLC et développement d'une formulation d'extraits de neem. Med. Fac. Landbouww. Univ, Gent, 62/2a, 225-233. *Med. Fac. Landbouww. University of Gent* 225–233.
- Schmidt, L. & Jøker, D.** (2001). *Danida Forest Seed Centre*. Seed Leaflet.
- Schmutterer, H.** (1990). Properties and potential of natural pesticides from the neem tree, *Azadirachta indica*. *Annual Review of Entomology* **35**, 271–297.
- Schmutterer, H.** (ed.) (1995). The neem tree: *Azadirachta indica* A. Juss. and other meliaceous plants: sources of unique natural products for integrated pest management, medicine, industry, and other purposes. Weinheim ; New York: *VCH*.
- Schmutterer, H. & Rembold, H.** (1980). Zur Wirkung einiger Reinfractionen aus Samen von *Azadirachta indica* auf Fraßaktivität und Metamorphose von *Epilachna varivestis* (Col. Coccinellidae). *Journal of Applied Entomology* **89**, 179–188.
- Schneider, C.** (2005). Chemistry and biology of vitamin E. *Molecular Nutrition & Food Research* **49**, 7–30.
- Schwinger, M.** (1984). Methodology of the *Epilachna varivestis* bioassay of antifeedants demonstrated with some compounds from *Azadirachta indica* and *Melia azedarach*. *Natural pesticides from the neem tree and other tropical plants. Proc. 2nd Int. Neem Conf.*, 111–125.
- Schwinger, M.** (1985). Über die fraßabschreckende Wirkung von Meliaceen-Inhaltsstoffen auf *Epilachna varivestis* (Muls.) und andere Insekten: Methoden-Versuchstechniken - Ergebnisse. *Doctor Thesis*, Germany, University of Hohenheim.
- Shah, F. A., Gaffney, M., Ansari, M. A., Prasad, M. & Butt, T. M.** (2008). Neem seed cake enhances the efficacy of the insect pathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* for the control of black vine weevil, *Otiorynchus sulcatus* (Coleoptera: Curculionidae). *Biological Control* **44**, 111–115.
- Shahi, M. L. M.** (2006). Effets combinés des paramètres de formulations et de procédé pour la conduite de l'opération de foisonnement en continu d'une émulsion alimentaire. *Thèse de Doctorat*, Université Blaise, Pascal Clermont-Ferrand.
- Shalaby, M. A., Moghazy, F. M., Shalaby, H. A. & Nasr, S. M.** (2010). Effect of methanolic extract of *Balanites aegyptiaca* fruits on enteral and parenteral stages of *Trichinella spiralis* in rats. *Parasitology Research* **107**, 17–25.
- Sharma, V. N. & Saxena, K. P.** (1959). Spermicidal action of sodium nimbinat. *The Indian journal of Medical Research* **47**, 322–324.
- Shukla, R., Singh, S. & Bhandari, C. R.** (1973). Preliminary clinic trials on antidiabetic action of *Azadirachta indica*. *Medicine and Surgery* **13**, 11–11.

- Siddiqui, S.** (1942). A note on the isolation of three new bitter principles from the nim oil. *Current Science* **11**, 278–279.
- Siddiqui, S., Faizi, S., Siddiqui, B. S. & Ghiasuddin H. E. J.** (1992). Constituents of *Azadirachta indica*: Isolation and Structure Elucidation of a New Antibacterial Tetranortriterpenoid, Mahmoodin, and a New Protolimonoid, Naheedin. *Journal of Natural Products* **55**, 303–310.
- Siddiqui, S., Ghiasuddin, B. S. & Faizi, S.** (1990). Triterpenoids from kernel of *Azadirachta indica*. *Proceedings of the Pakistan Academy of Sciences* **27**, 333–348.
- Sidhu, O. P., Kumar, V. & Behl, H. M.** (2003). Variability in Neem (*Azadirachta indica*) with respect to azadirachtin content. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **51**, 910–915.
- Sidhu, O. P., Kumar, V. & Behl, H. M.** (2004). Variability in triterpenoids (nimbin and salanin) composition of neem among different provenances of India. *Industrial Crops and Products* **19**, 69–75.
- Silva, J. C. T., Jham, G. N., Oliveira, R. D. L. & Brown, L.** (2007). 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. *J. Chromatography A* **1151**, 203–210.
- Silvestre, F., Rigal, L., Leyris, J. & Gazet, A.** (1999). Colle à l'eau à base d'extrait protéique végétal et procédé de préparation. *Brevet Européen* **0, 997, 513**.
- Singh, G., Marimuthu, P., de Heluani, C. S. & Catalan, C.** (2005). Chemical constituents and antimicrobial and antioxidant potentials of essential oil and acetone extract of *Nigella sativa* seeds. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **85**, 2297–2306.
- Singh, R. P.** (1986). Comparison of antifeedant efficacy and extracts yields from different parts and ecotypes of neem (*Azadirachta indica* A. Juss) trees. paper presented at the Proc. 3rd International Neem Conference. Kenya, 185–194.
- Singh, U. P., Singh, H. B. & Singh, R. B.** (1980). The Fungicidal Effect of Neem (*Azadirachta indica*) Extracts on Some Soil-Borne Pathogens of Gram (*Cicer arietinum*). *Mycologia* **72**, 1077.
- Speroni, E., Cervellati, R., Innocenti, G., Costa, S., Guerra, M. C., Dall' Acqua, S., Govoni, P.** (2005). Anti-inflammatory, anti-nociceptive and antioxidant activities of *Balanites aegyptiaca* (L.) Delile. *Journal of Ethnopharmacology* **98**, 117–125.
- Sriti, J.** (2011). Bio-extraction des huiles alimentaire et essentielle du fruit de *Coriandrum sativum* L. et caractérisation biochimique de leurs constituants. *Thèse de Doctorat*, Université de Tunis El Manar, Tunis.
- Sriti, J., Msaada, K., Talou, T., Faye, M., Kartika, I. A. & Marzouk, B.** (2012). Extraction of coriander oil by twin-screw extruder: Screw configuration and operating conditions effect. *Industrial Crops and Products* **40**, 355–360.

- Stanojlovic-Davidovic, A.** (2006). Matériaux biodégradables à base d'amidon expansé renforcé de fibres naturelles - Application à l'emballage alimentaire. *Thèse de Doctorat*, Université du Sud Toulon-Var, Toulon.
- Stavarache, C., Vinatoru, M. & Maeda, Y.** (2007). Aspects of ultrasonically assisted transesterification of various vegetable oils with methanol. *Ultrasonics Sonochemistry* **14**, 380–386.
- Stefani, E. D., Brennan, P., Boffetta, P., Ronco, A. L., Mendilaharsu, M. & Deneo-Pellegrini, H.** (2000). Vegetables, Fruits, Related Dietary Antioxidants, and Risk of Squamous Cell Carcinoma of the Esophagus: A Case-Control Study in Uruguay. *Nutrition and Cancer* **38**, 23–29.
- Tanaka, K., Yoshida, T., Asada, K. & Kasai, Z.** (1973). Subcellular particles isolated from aleurone layer of rice seeds. *Archives of Biochemistry and Biophysics* **155**, 136–143.
- Tayeb, J., Della Valle, G., Barrès, C. & Vergnes, B.** (1991). Simulation of transport phenomena in twin-screw extruders. In *Food Extrusion Science and Technology*. New York, 41–70.
- Tella, A.** (1976). Studies on *Azadiracta indica* in malaria. *British Journal of Pharmacology* **58**, 318P.
- Tewari, D. N.** (1992). *Monograph on neem (Azadirachta indica A. Juss.)*. Dehra Dun, India.
- The Wealth Of India** (1998). A Dictionary of indian, raw material and Industrial product, Publication and Information Directorate. Paper presented at the Council of Scientific and Industrial research. New Delhi.
- Thibault, J. F., Crépeau, M. J. C. & Quemener, B.** (1989). Composition glucidique des graines de colza et de tournesol. *Sciences des Aliments* **9**, 405–412.
- Tiyagi, S. A. & Ajaz, S.** (2004). Biological control of plant parasitic Nematodes associated with chickpea using oil cakes and *Paecilomyces lilacinus*. *Indian Journal of Nematology* **34**, 44–48.
- Tran, G.** (1994). Le coton et ses co-produits en alimentation animale. *Revue de l'Alimentation Animale* **482**.
- Troup, R. S.** (1921). *The Silviculture of Indian Forest Trees*. Oxford, UK: Clarendon Press.
- Uko, O. J. & Kamalu, T. N.** (2006). Protein quality and toxicity of full-fat neem (*Azadirachta indica* A. Juss) seed kernel (Calidad de la proteína y toxicidad de la semilla sin desgrasar de *Azadirachta indica* A. Juss). *Arch. Zootechnol.* **55**, 51–62.
- Umurigirwa-Vasseur, B. S.** (2014). Elaboration et caractérisation d'un agromatériau chanvre-amidon pour le Bâtiment. *Thèse de Doctorat*, Université de Reims Champagne-Ardenne.
- Vaca Medina, G.** (2010). Elaboration des émulsions natives issues des graines oléoprotéagineuses et transformation catalytique de la fraction lipidique en biolubrifiants ecolabellisables. *Thèse de Doctorat*, INP, Toulouse.

- Vaitillingom, G.** (2006). Utilisations énergétiques de l'huile de coton. *Cahiers Agricultures* **15**, 144–149.
- Van Soest, P. J.** (1963). Use of detergents in the analysis of fibrous feeds : a rapid method for the determination of fiber and lignin. *Journal of the American Oil Chemists Society* **46**, 829–835.
- Van Soest, P. J. & Wine, R. H.** (1967). Use of detergents in the analysis of fibrous feeds: determination of plant cell wall constituents. *Journal of the American Oil Chemists Society* **50**.
- Van Soest, P. J. & Wine, R. H.** (1968). Determination of lignin and cellulose in acid detergent fiber with permanganate. *Journal of the American Oil Chemists Society* **51**, 780–784.
- Vandenbossche, V.** (1998). Fractionnement des tiges et capitules de tournesol: hydro distillation d'une huile essentielle odorante, extraction et modification chimique de pectines et mise en forme d'agromatériaux biodégradables. *Thèse de Doctorat*, INP, Toulouse.
- Vartak, V. D. & Ghate, V.** (1990). Ethnobotany of neem. *Biological Industries* **1**, 55–59.
- Vian, M. A., Chemat, F., Prat, L. & Gourdon, C.** (2011). Eco-extraction contexte et innovation. In *Eco-extraction du végétal procédés innovants et solvants alternatifs - Farid Chemat*.
- Vijayalakshmi, K., Shiva, V. & Radha, K. S.** (1995). *Neem, a User's Manual*. New Delhi: Centre for Indian Knowledge Systems and Research Foundation for Science, Technology, and Natural Resource Policy, New Delhi.
- Warthen, J. D.** (1979). *Azadirachta indica: A source of insect feeding inhibitors and growth regulators*. Agricultural Research.
- Warthen, J. D., Stokes, J. B., Jacobson, M. & Kosempel, M. F.** (1984). Estimation of azadirachtin content of neem extract and formulations. *Journal of liquid Chromatography* **7**, 591–598.
- Wiesman, Z. & Chapagain, B. P.** (2003). Laboratory Evaluation of Natural Saponin as a Bioactive Agent against *Aedes aegypti* and *Culex pipiens*. *Research Gate* **27**, 201.
- Wiesman, Z. & Chapagain, B. P.** (2006). Larvicidal activity of saponin containing extracts and fractions of fruit mesocarp of *Balanites aegyptiaca*. *Fitoterapia* **77**, 420–424.
- Wufem, B. M., Adamu, H. M., Cham, Y. A. & Kela, S. L.** (2007). Preliminary studies on the antivenin potential and phytochemical analysis of the crude extracts of *Balanites aegyptica* (Linn.) Delile on albino rats. *Natural Product Radiance* **6**, 18–21.
- Yadaw, T. D.** (1985). Antiovipositional and ovicidal toxicity of neem (*Azadirachta indica* A. Juss.) oil against three species of *Callosobruchus*. *Neem News* **2**, 5–6.

- Yakkundi, S. R., Thejavathi, R. & Ravindranath, B.** (1995). Variation of azadirachtin content during growth and storage of neem (*Azadirachta indica*) seeds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **43**, 2517–2519.
- Yamasaki, R. B. & Klocke, J. A.** (1987). Structure-bioactivity relationships of azadirachtin, a potential insect control agent. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **35**, 467–471.
- Yamasaki, R. B., Klocke, J. A., Lee, S. M., Stone, G. A. & Darlington, M. V.** (1986). Isolation and purification of azadirachtin from neem (*Azadirachta indica*) seeds using flash chromatography and high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A* **356**, 220–226.
- Yang, B., Karlsson, R. M., Oksman, P. H. & Kallio, H. P.** (2001). Phytosterols in Sea Buckthorn (*Hippophaë rhamnoides* L.) Berries: Identification and Effects of Different Origins and Harvesting Times. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **49**, 5620–5629.
- Yang, Y., Kayan, B., Bozer, N., Pate, B., Baker, C. & Gizir, A. M.** (2007). Terpene degradation and extraction from basil and oregano leaves using subcritical water. *Journal of Chromatography A* **1152**, 262–267.
- Zarroug, I. M. A., Nugud, A. D., Bashir, A. K. & Mageed, A. A.** (1988). Evaluation of Sudanese Plant Extracts as Mosquito Larvicides. *International Journal of Crude Drug Research* **26**, 77–80.
- Zeitoun, R.** (2011). Procédé de fractionnement de la matière végétale – Application à la production des polysaccharides du son et de la paille de blé. *Thèse de Doctorat*, INP, Toulouse.
- Zhang, Z., Huber, D. J., Qu, H., Yun, Z., Wang, H., Huang, Z., Huang, H. & Jiang, Y.** (2015). Enzymatic browning and antioxidant activities in harvested litchi fruit as influenced by apple polyphenols. *Food Chemistry* **171**, 191–199.
- Zohary, M.** (1973). *Geobotanical Foundation of the Middle East*. .
- Zongo, J. O., Vincent, C. & Stewart, R. K.** (1993). Effects of neem seed kernel extracts on egg and larval survival of the sorghum shoot fly, *Atherigona soccata* Rondani (Dipt., Muscidae). *Journal of Applied Entomology* **115**, 363–369.

LISTE DES ABREVIATIONS

ABE : Acétone-Butanol-Ethanol

ACV : Analyse de Cycle de Vie

ADF : Acid Detergent Fiber

ADF : Acid Detergent Fiber

AED : Analyse Enthalpie Différentielle

AFNOR : Association Française de NORmalisation

AGL : Acides Gras Libres

ASTM : American Society for Testing and Materials

ATG : Analyse ThermoGravimétrique

a_w : activité de l'eau

BET : Brunauer-Emmett-Teller

COV : Composés Organiques Volatils

CPG : Chromatographie en Phase Gazeuse

CTAB : Cétyl Triméthyl Ammonium Bromure

DL₅₀ : Dose Limite 50

DMA : Dynamic Mechanical Analysis (analyse thermique mécanique dynamique)

DSC : Differential Scanning Calorimetry (analyse enthalpique différentielle)

DVS : Dynamic Vapor Sorption

EAG : Equivalent d'Acide Gallique

EDTA : Éthylène Diamine Tétra Acétate de sodium

e_i : Erreur résiduelle

EMAG : Esters Méthyliques d'Acides Gras

EMHV : Esters Méthyliques d'Huiles Végétales

EMR : Erreur Moyenne Relative

EQM : Ecart Quadratiques Moyennes

EST : Erreur Standard de la Teneur en eau

FAME : Fatty Acid Methy Ester (Ester Méthylique d'Acide Gras)

FID : Flame Ionization Detector (DéTECTEUR à ionisation de Flamme)

GAB : Guggenheim-Anderson-De Boer

GC : Gas Chromatography

HE : Huile Essentielle

HPLC : High Pressure Liquid Chromatography

HR : Humidité Relative

INS : Iodine Number Saponification value

ISO : International Organization for Standardization (Organisation Internationale de Normalisation)

MSHFBA : Methyl trimethylsilyl HeptaFluoroButylAmide

n.d : non déterminé

NF : Norme Française

NTK : Azote Total Kjeldahl

PC : Pouvoir Calorifique

PCI : Pouvoir Calorifique Inférieur

PCS : Pouvoir Calorifique Supérieur

PTFE : PolyTétraFluoroÉthylène

r : Corrélation (statistique)

SI : Système International

TBME : TertioButylMethylEther

T_a : Température de dénaturation

T_g : Glass Transition (température de transition vitreuse)

THF : Tétra Hydro Furane

TMSH : Hydroxyde de TriMéthylSulfonium

UV : UltraViolet

WCOT : Wall-Coated Open Tubular (Tube Ouvert à Paroi Revêtue de phase liquide)

ΔH : Enthalpie de dénaturation des protéines, mesurée par analyse enthalpie différentielle (DSC)

RESUME

FRACTIONNEMENT ANALYTIQUE DE LA GRAINE DE NEEM (*AZADIRACHTA INDICA* A. JUSS) ET DE LA GRAINE DE DATTIER DU DESERT (*BALANITES AEGYPTIACA* L.) – VALORISATION DES CONSTITUANTS DE LA GRAINE DE NEEM PAR BIORAFFINAGE

Résumé :

Les graines de neem et de dattier du désert ont été caractérisées et leurs perspectives de fractionnement orientées. Un procédé de fractionnement des graines de neem en extrudeur bi-vis a été étudié en vue d'une production et d'une valorisation intégrée de ses fractions: huile, co-extrait d'azadirachtine, protéines et lipides, et raffinat d'extrusion. La mise en œuvre de l'eau et des mélanges hydroéthanoliques (jusqu'à 75% d'éthanol) comme solvants d'extraction avec une configuration de l'extrudeur bi-vis définissant quatre zones (une zone d'alimentation, une zone de broyage, une zone d'extraction solide-liquide et une zone de séparation solide/liquide), permet d'extraire au filtrat 83 à 86% de l'azadirachtine, 86 à 92% des lipides et 44 à 74% des protéines de la graine et de produire un raffinat essentiellement fibreux, contenant au plus 8% de lipides, 12% de protéines et 0,82 g/kg d'azadirachtine. Une des meilleures voies de traitement de la suspension que constitue le filtrat brut est la séparation solide-liquide par centrifugation. Ce procédé de séparation permet d'obtenir une émulsion diluée contenant 42 à 64% des lipides et jusqu'à 41% des protéines de la graine. La décantation centrifuge permet de le réaliser efficacement, mais elle peut présenter des inconvénients pour le traitement de grands volumes. Considérée comme sous-produit du traitement du filtrat brut, la phase insoluble peut contenir 24 à 48% des lipides, 32,9 à 47% des protéines et 10 à 13% de l'azadirachtine de la graine. L'eau s'est avérée être le meilleur solvant de ce procédé de fractionnement. Le pressage des graines de neem suivi de l'extraction aqueuse ou hydroalcoolique dans le même extrudeur bi-vis permettent d'exprimer jusqu'à 32% de l'huile de la graine et de récupérer 20% de l'huile de la graine sous forme claire, avec très peu d'azadirachtine, en assurant de meilleurs rendements en azadirachtine et en protéines au filtrat brut. Deux voies de traitement des filtrats ont été étudiées : celle conduisant à une émulsion d'azadirachtine et celle conduisant à l'obtention d'une poudre lyophilisée d'azadirachtine. La valorisation du raffinat d'extrusion, fibreux, a été orientée vers la production d'agromatériaux par thermopressage. Un schéma de bioraffinage de la graine de neem pour la valorisation de ses constituants a été ainsi mis en place.

Mots-clés : Bioraffinage, fractionnement, graine de neem, extrudeur bi-vis, extraction par solvants, valorisation, huile, azadirachtine, protéines, fibres, raffinat, agromatériaux, thermopressage, graine de dattier du désert.

ANALYTICAL FRACTIONATION OF NEEM SEED (*AZADIRACHTA INDICA* A. JUSS) AND DESERT DATE SEED (*BALANITES AEGYPTIACA* L.) - VALORIZATION OF NEEM SEED CONSTITUENTS BY BIOREFINERY

Abstract :

Neem and desert date seeds were characterized and their fractionation perspectives oriented. A process of fractionation of neem seeds in twin-screw extruder has been studied for the purpose of production and integrated valorization of its fractions: oil, co-extract of azadirachtin, proteins and lipids, and extrusion raffinate. The use of water and water/ethanol mixtures (up to 75% ethanol) with a twin-screw extruder configuration defining four zones (a feed zone, a grinding zone, a solid-liquid extraction zone and a solid / liquid separation zone), allows to extract from the filtrate 83 to 86% of the azadirachtin, 86 to 92% of the lipids and 44 to 74% of the proteins of the seed thereby producing a raffinate essentially fibrous containing at most 8% lipids, 12% proteins and 0.82 g/kg azadirachtin. One of the best ways of processing the suspension that is the crude filtrate, is a solid-liquid separation by centrifugation. This separation process makes it possible to obtain a diluted emulsion containing 42 to 64% of the lipids and up to 41% of the proteins of the seed. A centrifugation achieves it effectively, but this separation process can have disadvantages in the treatment of large volumes. Considered as a by-product of the treatment of crude filtrate, the insoluble phase can contain 24 to 64% of the lipids, 32.9 to 47% of the proteins and 10 to 13% of the azadirachtin of the seed. Water has proven to be the best solvent in this fractionation process. The pressing of the neem seeds followed by the aqueous or hydroalcoholic extraction in the same twin-screw extruder makes it possible to extract up to 32% of the oil of the seeds and to recover 20% of the seed oil in clear form, with very little azadirachtin, ensuring better extraction yields of azadirachtin and proteins to the crude filtrate. Two treatment pathways of the filtrates were studied: one leading to an emulsion of azadirachtin and another to a freeze-dried powder of azadirachtin. The valorization of the fibrous extrusion raffinate has been oriented towards the production of agromaterials by thermopressing. A biorefinery scheme of the neem seed for the valorization of its constituents has thus be implemented.

Keywords : Biorefinery, fractionation, neem seed, twin-screw extruder, solvent extraction, valorization, oil, azadirachtin, proteins, fibers, raffinate, agromaterials, thermopressing, desert date seed.