



Etude de la répartition de la molécule d'azadirachtine-A (Aza-A) dans la graine de neem (*Azadirachta indica* A. Juss)

Ndiak Ndiaye*, Bocar Sally Galledou

Université Cheikh Anta DIOP Laboratoire de Chimie Organique et Informatique (LCOI)

* Corresponding author. Ndiak NDIAYE E-mail: ndiak.ndiaye@ucad.edu.sn Tél. (00221) 77 612 42 47

Submitted 25/02/2025, Published online on 31/05/2025 in the <https://www.m.elewa.org/Journals/journal-of-applied-biosciences> <https://doi.org/10.35759/JABs.208.4>

RÉSUMÉ

Objectifs : Notre étude vise à déterminer la répartition de l'azadirachtine-A (Aza-A) dans les différentes couches de la graine de neem en vue de définir la bonne granulométrie pour une extraction optimale de l'Azadirachtine-A.

Méthodologie et Résultats : des fruits murs ont été collectés dans la commune de Touba (Sénégal). Après séchage et d'égrenage ; nous avons par abrasion préparé cinq catégories de granulométries. Les tailles des graines sont définies avec des tamis afnor. L'extraction est faite au mélange méthanol et eau (45/55) pendant trois heures d'agitation. L'Aza-A est dosé dans les extraits techniques par chromatographie liquide haute performance (CLHP). Les résultats du dosage ont montrés que l'Aza-A n'est pas réparties de façon homogène dans les différentes couches de la graine. Elle est plus présente dans la zone comprise entre 2 mm et 1,6 mm avec une teneur de 5,133%.

Conclusions et Applications des résultats : Les résultats permettent d'avoir une meilleure approche dans la mise en œuvre du procédé d'extraction de l'Aza-A. En effet ils permettent de fixer la bonne granulométrie pour une extraction optimale de l'Aza-A ; rendant ainsi très compétitif le procédé d'extraction mise en œuvre.

Mots clés: graines de Neem, abrasion, extraction, azadirachtine-A, dosage

Study of the distribution of the azadirachtin-A (Aza-A) molecule in the neem seed (*Azadirachta indica* A. Juss)

ABSTRACT

Objectives: This study aims to determine the distribution of azadirachtin-A (Aza-A) in the different layers of the neem seed with a view to defining the right particle size for optimal extraction of Azadirachtin-A.

Methodology and Results: ripe fruits were collected in the commune of Touba (Senegal). After drying and ginning they were prepared into five categories of granulometry by abrasion. Seed sizes are defined with AFNOR sieves. The extraction is made with methanol and water (45/55) for three hours of stirring. Aza-A is determined in the technical extracts by high performance liquid

chromatography (HPLC). The results of the assay showed that Aza-A is not homogeneously distributed in the different layers of the seed. It is more present in the zone between 2 mm and 1.6 mm with a content of 5,133%.

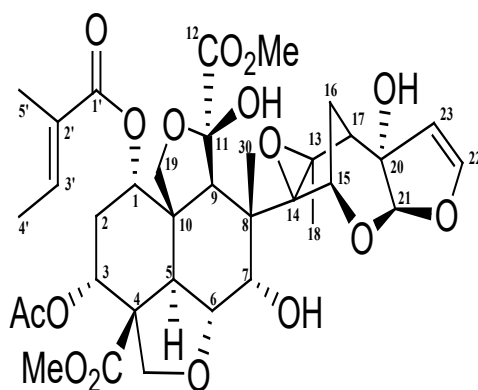
Conclusions and application of findings: The results provide a better approach to implementing the Aza-A extraction process. In fact, they make it possible to set the right particle size for optimal extraction of Aza-A; thus making the extraction process implemented very competitive. The distribution of Azadirachtin-A has been determined. The best content is between 2 and 1.6 mm. The results obtained make it possible to choose the right particle size to promote good extraction of the Azadirachtin-A molecule. For industrial exploitation of neem seeds, for the production of biopesticides, the use of our results will allow users to properly optimize extraction yields.

Key words: neem seeds, abrasion, extraction, azadirachtin-A, dosage.

INTRODUCTION

La graine, élément central du fruit, comporte trois parties essentielles que sont : l'embryon, l'albumen et les téguments. La composition chimique est sous l'emprise des facteurs génétiques et environnementaux tels que la quantité d'eau tombée et la fertilité des sols (Gamene, 1987). Selon *Some et al 1991* de

façon générale la graine contient les éléments suivants : des carbohydrates (amidon, hémicellulose, peptides), des lipides (acides gras, glycérols, autres alcools) et des protéines (albumines, globulines, prolamines,) (Some, 1991).



Azadirachtine -A (Aza-A)

Cette présente étude porte sur la graine de l'*Azadirachta indica* plus connu sous le nom neem. Il est un arbre à propriétés multiples. L'utilisation d'amandes de neem comme insecticide naturel est connue depuis des siècles notamment en Inde, pays où le neem est endémique. En effet plus de 300 composés sont isolés et caractérisés des graines de neem (Dai, 2001). Parmi ceux-ci l'Azadirachtine-A (Aza-A) ($C_{35}H_{44}O_{16}$) serait l'un des biopesticides les plus importants (Mordur, 1993). La quantité d'Aza-A contenue dans les graines

varie considérablement selon les conditions climatiques et du sol (Ndiaye, 2015). Depuis qu'elle a été isolée en 1968 par l'équipe de Morgan la molécule d'Aza-A a fait l'objet de multiples travaux et publications à travers le monde (Butterworth 1968). Mais jusqu'à nos jours aucune étude portant sur la répartition de la molécule (Aza-A) dans les différentes parties de la graine n'a été trouvée dans la littérature. Une localisation de la molécule dans la graine permet une bonne sélection de la granulométrie du broyat lors des extractions

pour une **optimisation du rendement** d'extraction ; mais aussi **faciliter l'étape de la**

filtration. Notre approche repose sur la **technique d'abrasion**.

MATÉRIELS ET MÉTHODES

Matériel végétal : Les fruits de neem ont été cueillis à l'état mature dans la commune de Touba (Région de Diourbel, Sénégal). Ils ont été séchés au laboratoire avant décorticage

pour sortir les graines. Ces dernières ont été gardées dans des enveloppes pour le transport à Marseille où les travaux d'extractions se faisaient au laboratoire STeRéO.



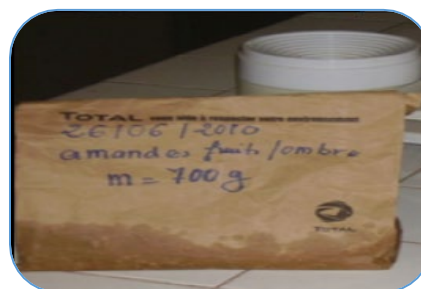
Fruits mûrs frais



Séchage des fruits de neem



Graines des fruits de neem



Graines conditionnées pour le transport

Figure 1 : Photographie des différentes étapes du traitement des fruits : des fruits frais au conditionnement des graines dans les enveloppes

Procédure d'extraction

Abrasion : L'abrasion consiste à réduire progressivement le diamètre de la graine par frottement de la paroi extérieur. Les graines sont placées sur un abraser surmonté d'une boîte en plastique pour permettre le contact

permanant des graines avec la surface rugueuse de l'abraser. Ainsi la taille du diamètre de la graine est réduite progressivement. A l'aide de tamis afnor les diamètres sont bien définis à chaque étape de l'abrasion.

Tableau 1 : granulométries étudiées

Zones d'extraction	1 ^e zone	2 ^e zone	3 ^e zone	4 ^e zone	5 ^e zone
Intervalles (mm)	$d \geq 2$	$2 > d \geq 1,6$	$1,6 > d \geq 1,25$	$1,25 > d \geq 0,5$	$0,5 > d$

Extraction : L'extraction est effectuée dans un bécher (ou erlenmeyer) dans lequel est

plongé un barreau aimanté agité à la vitesse de 500 tr/min avec un agitateur magnétique

(BIOBLOCK AM 3001 ou Fischer Scientific). Une masse M_t de tourteau (résidu de l'extraction solide/liquide au soxhlet) sont extrait avec un volume V_s ($V_s = 6 \times M_t$) d'une solution aqueuse de méthanol (45 %). Afin d'extraire la totalité de l'Aza-A du tourteau, la suspension est agitée pendant 3 heures, puis est filtrée sur frité. Le filtrat est



Figure 2 : montage extraction solide/liquide

concentré sous vide à $T < 40^\circ\text{C}$ grâce à un évaporateur rotatif. Le résidu ainsi obtenu de volume V_c est extrait trois fois avec un volume V ($V = 2 V_c$) double de méthyl terbutyl éther (MTBE). Les phase étherées sont regroupées et séchées sur sulfate de magnésium (MgSO_4).



Figure 3: extraction liquide- liquide au

Détermination de la teneur en Aza-A

Détermination de la droite d'étalonnage :

La droite d'étalonnage, correspondant aux concentrations d'Aza-A en fonction des aires des pics d'élution, est établie avec six solutions d'Aza-A (95%) avec des concentrations allant

de 0.1 à 1 mg/mL. Chaque solution de concentration donnée est injectée trois fois ; la moyenne des surfaces des pics est calculée pour tracer la droite des aires en fonction des concentrations (**figure 4**).

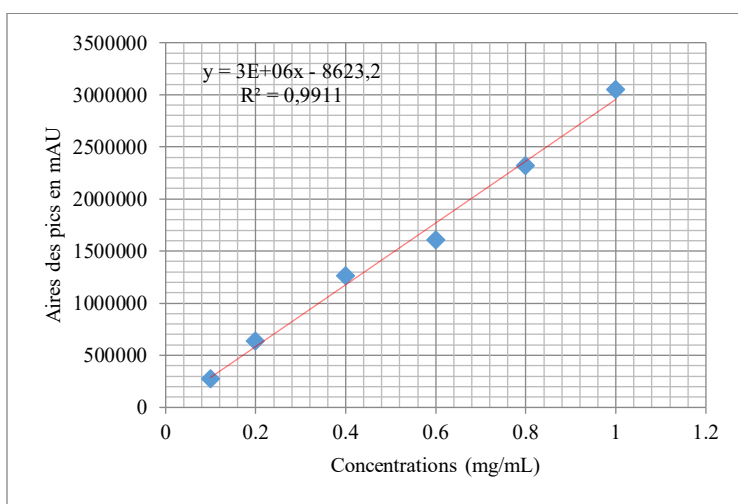


Figure 4 : Droite d'étalonnage

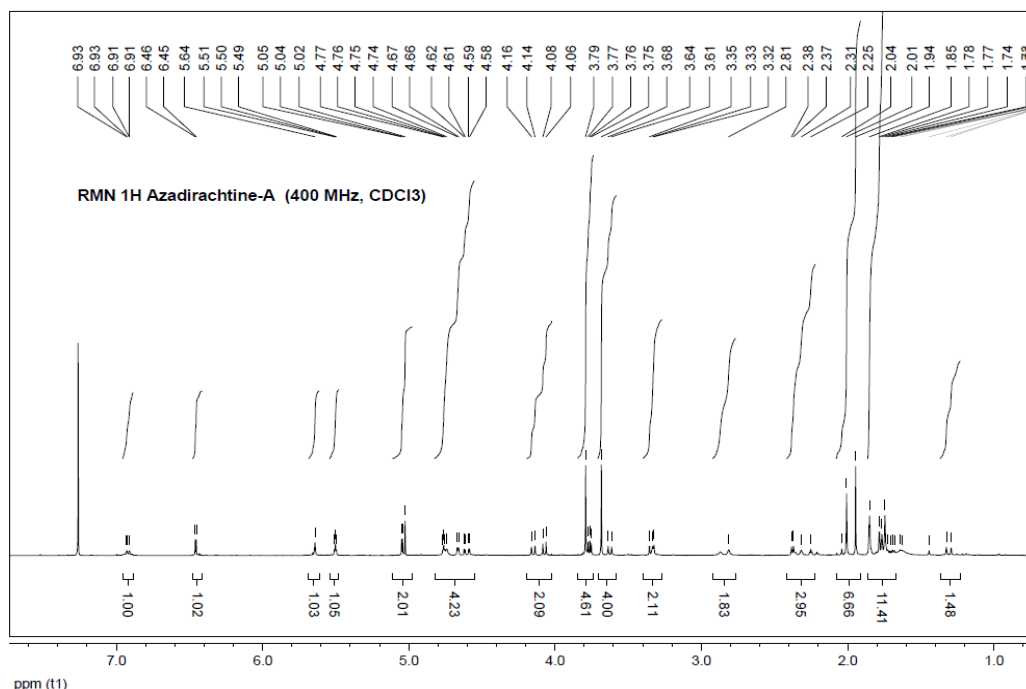


Figure 5: Spectre RMN ^1H de l'étalon d'Aza-A (400MHz, CDCl_3)

δ_{H} (400MHz, CDCl_3) 6.93 (1H, q, H-3'), 6.46 (1H, d, H-23), 5.64 (1H, s, H-21), 5.50 (1H, t, H-3), 5.05 (1H, d, H-22), 5.02 (1H, s, OH), 4.76 (1H, t, H-1), 4.74 (1H, d, H-7), 4.67 (1H, d, H-15), 4.61 (1H, dd, H-6), 4.15 (1H, d, H-19), 4.07 (1H, d, H-28), 3.79 (3H, s, CO_2Me), 3.77 (1H, d, H-28), 3.69 (3H, s, CO_2Me), 3.63 (1H, d, H-19), 3.35 (1H, d, H-5), 3.34 (1H, s, H-9), 2.84 (1H, s, OH), 2.79 (1H, s, OH), 2.38 (1H, d, H-17), 2.31 (1H, m, H-2), 2.25 (1H, m, H-2), 2.01 (1H, s, 18-Me), 1.94 (3H, s, 3-OAc), 1.85 (3H, s, 5'-Me), 1.78 (3H, d, 4'-Me), 1.76 (1H, m, H-16), 1.74 (3H, s, 30-Me).

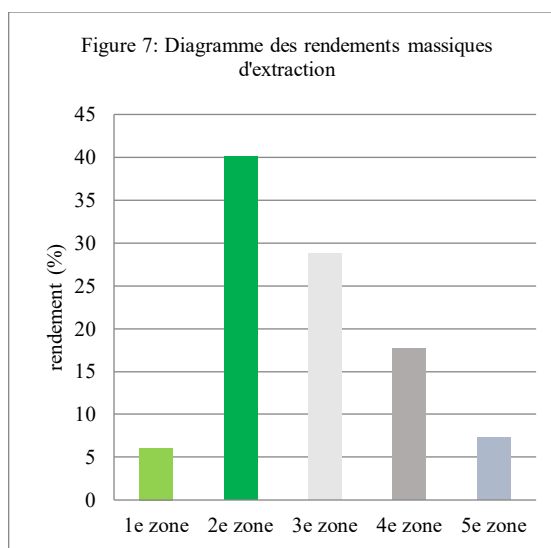
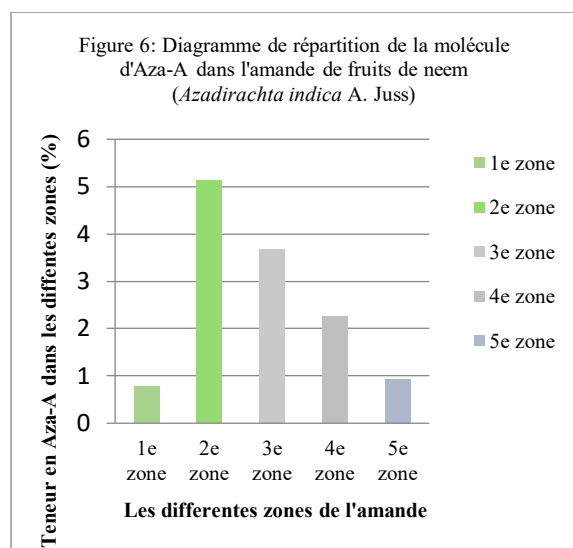
Dosage CLHP des extraits d'azadirachtine technique : Le dosage de l'Azadirachtine-A (Aza-A), dans les extraits d'azadirachtine technique, est effectué par chromatographie liquide haute performance (CLHP), suivant la méthode de l'étalonnage externe. L'éluant utilisé est un mélange acétonitrile / eau en 40 / 60 (v : v). La vitesse d'élution est fixée à 0.7 mL/min et la longueur d'onde de détection à 214 nm. Des

solutions de 1 mg/mL d'azadirachtine technique sont préparées dans de l'acétonitrile (grade CLHP). Pour chaque solution un volume de 10 μL est injecté. Avec les extraits à doser, une seule injection est faite et l'aire du pic correspondant au t_{r} (temps de rétention) d'élution de l'Aza-A est utilisée pour quantifier la teneur en Aza-A dans l'extrait technique correspondant.

RESULTATS ET DISCUSSION

Les résultats du dosage CLHP des différents extraits issus des différentes zones de la graine de neem montrent que la molécule d'Aza-A n'est pas uniformément répartie dans la graine. L'Aza-A est plus présente dans la 2^e zone (**figure 6**). La teneur diminue progressivement et de façon régulière vers les profondeurs de la graine. Cette baisse peut s'expliquer par le passage de l'Aza-A dans l'huile. Car des études ont montrés que l'Aza-A est soluble

dans l'huile de neem. Le cœur de la graine est le réservoir des composés lipidiques. La couche externe (couche) renferme la teneur la plus faible en Aza-A. Les rendements massiques d'extraction varient de 6.01 % à 40.16 % (**figure 7**). Le maximum du rendement correspond à la même zone où la teneur en Aza-A était à son maximum (2^e zone).



CONCLUSION ET APPLICATION DES RESULTATS

Les résultats de nos travaux ont montrés que la granulométrie joue un rôle essentiel dans l'efficacité de l'extraction de l'Aza-A des graines de neem. Ainsi nous pouvons retenir que la taille comprise entre 2 mm et 1.6 mm correspond à la meilleure granulométrie pour obtenir de bons rendements d'extractions avec des extraits techniques très enrichis en Aza-A. dans la pratique

cette granulométrie permet également une filtration très rapide qui ne nécessite pas un vide très poussé qui demande l'acquisition d'une pompe à membrane. Cette étude nous a également permis de rendre d'avantage plus compétitif le procédé d'extraction que nous avons mis au point dans nos travaux antérieurs sur les graines de neem qui feront l'objet d'un brevet.

REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient la coopération française qui a financé les séjours à Marseille (France) et le laboratoire STeRéO qui a mis à notre disposition

tout le matériel nécessaire pour le bon déroulement de nos travaux.

RÉFÉRENCE

-] Gamene C. S. : contribution à la maîtrise des méthodes simples de prétraitement et de conservation des semences de quelques espèces ligneuses récoltées au Bourkina Faso. *Mémoire de fin d'études Institut du Développement Rural (IDR)* **1987** pp 94.
- Some N. A. : étude des phénomènes germinatifs et des plantules de quelques essences locales de Mimosaceae, *Mémoire de fin d'études Institut du Développement Rural (I.D.R.)* **1991** pp 106.
- Dai J., Varoujan A. ; Influence of operating parameters on the use of the Mricowave Assisted Process (MAP), for the Extraction of Azadirachtin-Related Lomonoids from Neem (*Azadirachta indica*) under Atmospheric pressure Conditions *J. Agric. Food Chem.*, **49** (**2001**), 4584-4588.
- Mordu A. J. ,Blackwell ; Azadirachtin : an update, *J. Insect Physiol.*, **39** (**1993**), 903-924.
- Ndiaye N., Heran V., Parrain J. L., Galledou B. S.; Impact of climatic factors in Azadirachtin-A (Aza-A) content on Neem (*Azadirachta Indica* A. Juss) seeds of Senegal; *International Review of chemical Engineering* Vol 7 N°2 (**2015**), 45-48.
- Butterworth J. H., Morgan E. D.; Isolation of a substance that suppresses feeding in locusts; *J. Chem. Soc. chem. commun* (**1968**), 23-24.