

## **Caractérisation des huiles essentielles industrielles de niaouli (*Melaleuca quinquenervia*) de Madagascar - Propositions d'Avant-projet de Normes**

Panja A.R. RAMANOELINA\*<sup>1</sup>, Emile M. GAYDOU<sup>2</sup>, J.P. BIANCHINI<sup>3</sup>

- 1 Ecole Supérieure des Sciences Agronomiques/Département des Industries Agricoles et Alimentaires (ESSA/IAA), Antananarivo
  - 2 Laboratoire de Phytochimie de Marseille UMR 6171 CNRS, Systèmes Chimiques Complexes, Faculté des Sciences et Techniques de Saint Jérôme, Marseille
  - 3 Université de la Polynésie Française, Campus d'Outumaoro, Tahiti
- \* à qui toute correspondance doit être adressée

### **Résumé**

Vu l'abondance de la matière première sur toute la Côte Est malgache, et compte tenu des besoins du marché mondial qui est en pleine évolution, l'exploitation des huiles essentielles de Niaouli (*Melaleuca quinquenervia*) peut connaître un plus grand développement à condition de bien maîtriser les paramètres d'obtention de produits de qualité, tout en tenant compte de l'existence des chémotypes identifiés à Madagascar et dans le monde. La présente étude se propose d'établir des fiches techniques à but normatif permettant de faciliter la commercialisation des huiles essentielles de niaouli de Madagascar. Grâce aux analyses physico-chimiques et chromatographiques des produits industriels malgaches provenant d'une quinzaine de sociétés d'exploitation (échantillons collectés sur 10 ans), les données obtenues, notamment la composition chimique, ont fait l'objet de traitement par analyses statistiques multidimensionnelles : Analyse en Composantes Principales (ACP) et Analyse Factorielle Discriminante (AFD). Les résultats obtenus ont confirmé la prépondérance des produits commercialisés sur le marché international (Niaouli à dominance en 1,8-cinéole: 35-71%) ainsi que l'existence réelle de 3 chémotypes: Chémotype à 1,8-Cinéole qui correspond au TYPE Australie (en moyenne : 55%), Chémotype à Viridiflorol (28%), Chémotype à Trans-nérolidol (79%). Apportant notre contribution au renforcement du Label NATIORA mis en place par le groupement SYPEAM/PRONABIO avec l'appui du programme LDI/USAID, un avant-projet de normes pour les huiles essentielles est proposé pour les essences du chémotype Cinéole, des fiches techniques pouvant également être présentées, à titre indicatif, pour les deux autres chémotypes.

## Introduction

Plante assez méconnue à Madagascar au début des années 1970, le Niaouli fournit une huile essentielle très utilisée en aromathérapie. Ne présentant pas de difficulté majeure, son exploitation peut générer une source de devises appréciable pour le pays à condition de maîtriser les techniques d'extraction de manière à obtenir des produits de qualité stable et en quantité régulière. Le présent article se propose de donner un aperçu des conditions d'exploitation à Madagascar, et de la qualité des produits obtenus ces dix dernières années.

## Mise au point sur la biosystématique du Niaouli :

Connu sous les appellations malgaches « Kinindrano », « Kinimbonaka » ou « Olimanitra », le Niaouli est présenté dans les ouvrages de botanique à Madagascar sous le nom scientifique, *Melaleuca viridiflora* Sol. ex. Gaertn., très souvent mis en synonymie avec *Melaleuca leucadendron*. Ainsi, dans leur étude sur la flore de Madagascar, Cabanis et al. (1970) ont noté la similitude :

"*Melaleuca viridiflora* Gaertn. = *Melaleuca leucadendron* Linn.", alors que *M. leucadendron* désignerait plutôt le Cajeput d'après certains auteurs (Guenther E, 1950 ; Rageau J, 1973).

Cette espèce a donc été répertoriée à Madagascar par Cabanis (1970) tout comme en Nouvelle-Calédonie par Guillaumin (1948) sous le nom de *Melaleuca viridiflora*.

D'autre part, *Melaleuca quinquenervia* fait partie d'un groupe de Melaleucas largement répandu et utilisé pour ses feuilles, souvent inclus dans le groupe complexe des *Melaleuca leucadendra* : ce groupe comprend une quinzaine d'espèces connues sous les noms de *M cajuputi* Powell, *M. leucadendra* (L.) L., *M. viridiflora* Sol. ex Gaertner, toutes auparavant appelées *Melaleuca leucadendron* L. (Blake S. T, 1968 ; Byrnes N. B, 1984).

Afin de lever cette ambiguïté sur la dénomination du Niaouli de Madagascar, plusieurs échantillons de feuilles et de fleurs ont été étudiés au Muséum National d'Histoire Naturelle de Paris en 1992, et les comparaisons effectuées ont permis de préciser que le niaouli malgache appartient à l'espèce *Melaleuca quinquenervia* (Cav.) S.T. Blake., de la famille des MYRTACEES qui regroupe plus de 3000 espèces réparties essentiellement dans les zones tropicales.

Le genre *Melaleuca* créé par LINNE dans sa *Mantissa gênera plantarum* a suscité peu d'études systématiques si l'on considère le nombre élevé d'espèces qui le caractérise, sans doute en raison de la difficulté à définir des critères taxonomiques sûrs et fiables pour l'établissement d'une clé de détermination.

C'est en Australie où le genre est particulièrement bien représenté que deux révisions ont été réalisées en 1968 par BLAKE (1968), puis par BYRNES N. B. (1984). Parmi les 61 espèces recensées par BYRNES, figure le *Melaleuca quinquenervia* qui est aussi l'espèce rencontrée à Madagascar et en Nouvelle-Calédonie.

L'espèce *Melaleuca quinquenervia* paraît manifester une instabilité morphologique importante en Australie où BYRNES N. B. (1984.) a recensé plusieurs variétés se différenciant entre elles par l'épaisseur et la longueur des feuilles ainsi que par la pilosité du rachis de l'inflorescence. Cette instabilité a également été décelée en Nouvelle-Calédonie par CHERRIER J. F. (1983), mais dans ce cas, les variations morphologiques se rapportent à la couleur de l'écorce et des fleurs ainsi qu'à la dimension des feuilles.

Une étude similaire devrait donc être réalisée sur des spécimens de Madagascar afin de déterminer s'il existe ou non une instabilité de l'espèce sur le plan morphologique.

## Ecologie, répartition géographique :

Le Niaouli pousse à différentes altitudes allant du niveau de la mer jusqu'à 900 m d'altitude, et sur tous les types de sols à l'exception de ceux issus de roches ultrabasiqes. Son développement est optimum sur des terrains humides et même marécageux où les arbres atteignent de grandes tailles et peuvent former des peuplements purs.

Sa capacité à s'adapter dans des zones à conditions écologiques difficiles font que le Niaouli est présent partout. Par contre, sur des sols très secs, son développement est plutôt celui d'un arbuste avec un tronc et des branches tortueux (Cabanis Y. et al, 1970 ; Cherrier J. F, 1983 ; Sarlin P, 1954).

L'espèce est caractérisée par son étonnante vigueur végétative se traduisant par de nombreux rejets de souches et racinaires, et possède en outre des propriétés ignifuges exceptionnelles dues à l'épaisseur de son écorce constituée de nombreuses couches. L'espèce *Melaleuca quinquenervia* se développe rapidement en gagnant du terrain sur la surface forestière détruite par les feux de brousse.

Le Niaouli est un plante originaire des îles Moluques. Actuellement, il se rencontre essentiellement sur l'archipel indonésien (îles Célèbes, Céram, Nouvelle Guinée), en Malaisie et en Australie. Dans ce pays, le niaouli se retrouve sur tout le long de la Côte Est dans les zones inondées de Towra Point en Nouvelles Galles du Sud jusqu'à la Péninsule du Cap York (Nord) au Queensland : ce sont des arbres de taille moyenne de 4 à 12 m., avec des spécimens exceptionnels pouvant atteindre 25m. (Ireland B. F. et al, 2002). On le trouve également en Nouvelle-Calédonie où il couvre plus de 40% de la surface totale (Blake S. T, 1968 ; Cherrier J. F, 1983 ; Guillaumin A, 1948 ; Sarlin P, 1954).

A Madagascar, nous avons constaté que, sur la côte Est, plus particulièrement dans la région de Toamasina, les populations denses de niaouli sur sols légèrement marécageux sont des arbustes de petite taille, d'une hauteur de 2 m environ; ce qui facilite la collecte des feuilles destinées aux unités d'extraction d'huile essentielle.

Les grands arbres de 15 à 20 m. se retrouvent dans les zones qui sont occasionnellement inondées ; les vieux pieds de 30 à 40 ans peuvent avoir un tronc de 1m. de diamètre rendant ainsi le travail des collecteurs plus difficile..

### **Utilisations et intérêt économique**

A Madagascar, le Niaouli a été utilisé comme essence de reboisement dans les lagunes du littoral Est au début des années 1900. Il s'y est très bien acclimaté et s'est largement développé pour former des peuplements denses dans certaines régions, notamment le littoral Est et la région du Sambirano (Cabanis Y. et al, 1970). Toutefois, quelques plants isolés ont été trouvés à Antananarivo, Mahajanga, Antsiranana et dans la région d'Alaotra.

Comme la majorité des plantes de la famille des MYRTACEES, le Niaouli fournit une huile essentielle, sécrétée par des poches schizogènes au niveau des feuilles. L'exploitation industrielle de l'huile essentielle a débuté à la fin du XIXème siècle, à la suite de la découverte des propriétés médicinales des feuilles. L'essence est commercialisée en pharmacie sous le nom de goménol (marque déposée) du nom du village de Gomen sur la côte Nord-Ouest de Nouvelle-Calédonie. Au début, la dénomination commerciale du produit variait selon l'origine géographique de la plante, sans qu'il y ait de différence chimique notable puisque les essences étaient extraites d'espèces "différentes" mais très proches : l'essence de Cajeput en Indonésie, l'essence des arbres à thé (tea tree oil) en Australie, l'essence de Niaouli en Nouvelle Calédonie.

Peu ou pas du tout utilisé en parfumerie, le goménol est réputé pour ses nombreuses propriétés aromathérapeutiques (antiseptiques, anesthésiques, anticatarrhales et cicatrisantes). Ainsi, il entre dans la composition de plus d'une cinquantaine de spécialités pharmaceutiques en France, dont les plus connues sont l'huile goménolée, le Goménoléol, l'Olrine-éphédriné, (Berthaud A, 1965 ; Cherrier J. F, 1983 ; Quevauviller A. et al, 1952 ; Paris R. R. et al, 1967 ; Valnet J, 1984).

Outre ces propriétés, la pharmacopée malgache confère au Niaouli des propriétés fébrifuges (Boiteau P, 1979) et l'huile essentielle est couramment employée en frictions sur les courbatures d'origine grippale (Randriamahefa M, 1979).

Dans les années 1950, la production mondiale d'huile essentielle de Niaouli était estimée à 10-30 tonnes par an (Guenther E, 1950), et a baissé jusqu'à 10 tonnes en 1984 (Trilles B. et al, 1999).

Les statistiques les plus récentes précisent que la Nouvelle Calédonie est le principal producteur avec 7 à 10 tonnes, et l'activité y a généré 64 000 US\$ en 1999 (Trilles B. et al, 1999).

Au cours des années 90, Madagascar a produit annuellement 2 à 3 tonnes, et la grande majorité de cette production a été exportée vers l'Europe à des prix variant entre 80 et 150 FF/Kg. Des quantités limitées d'huile essentielle de Niaouli à base de trans-nérolidol (85 - 95%) et de viridiflorol (25 - 35%) ont été commercialisées à des prix de l'ordre de 350 à 400 FF/Kg.

D'autres utilisations du Niaouli ont également été trouvées: ainsi, les nombreuses couches de l'écorce servent à confectionner la couverture et le revêtement des parois internes des cases ... Bien que ne possédant aucun caractère esthétique, le bois, lourd, dur et nerveux, est surtout utilisé dans la construction des courbes de marines (étraves, varangues), comme bois d'oeuvre (parquets, charpentes, ponts de bateau)..., comme bois de chauffage et charbon de bois (Cherrier J. F, 1983 ; Guenther E., 1950 ; Guillaumin A, 1948 ; Sarlin P, 1954).

### **Caractéristiques de la production industrielle des huiles essentielles de niaouli à Madagascar :**

Une bonne connaissance du système de production industrielle des huiles essentielles de Niaouli s'avère indispensable, et cela avec un triple objectif : • de rechercher les conditions optimales de production,

- de caractériser la qualité des produits industriels malgaches en précisant les limites de variation des différents constituants,
- et de vérifier (ou confirmer) l'existence des différents chémotypes déjà décrits à Madagascar et dans le monde (Ekundayo O. et al, 1987 ; Guenther E., 1950 ; Ireland B. F. et al, 2002 ; Moudachirou M. et al, 1996 ; Ramanoelina A. R. P., 2003 ; Ramanoelina P. A. R. et al, 1992 ; Ramanoelina A. R. P et al, 1987 ; Ramanoelina P. A. R. et al, 1994 ; Trilles B. et al, 1999 ; Todorova M. et al, 1988).

**Contexte - Opportunité :**

Cette approche arrive au moment opportun avec la mise en place, actuellement, du Label "NATIORA" par le groupement SYPEAM/PRONABIO (Groupement Professionnel des Opérateurs en Agri-Business des Produits

Naturels et Biologiques de Madagascar) appuyé par le programme Landscape Development Interventions (LDI/USAID) en collaboration avec l'Université de RUTGERS (USA). Ce groupement qui réunit en son sein des membres issus de SYPEAM et d'autres provenant de plusieurs secteurs, notamment : Huiles essentielles, Epices, Agro-alimentaire, Artisanat, Plantes médicinales, Cosmétiques et autres ...) bénéficie de l'appui du LDI/USAID dans un projet d'établissement des normes pour les produits malgaches, tout en permettant d'accréditer des laboratoires et de mettre en place une procédure de certification. Le but final du projet est la conquête des marchés internationaux (Etats Unis, Afrique du Sud, ...).

Le Label NATIORA, officiellement inauguré en Avril 2003, consiste en la mise en place d'une certification des produits naturels qui permettra de garantir

aux acheteurs des produits de première qualité, purs et conformes aux normes internationales.

Ces produits seront issus de matières végétales cultivées selon des méthodes modernes de production, qui permettent d'obtenir des rendements élevés, tout en préservant l'environnement. Pour le moment, le label NATIORA concerne plus particulièrement les épices et huiles essentielles

L'objectif est de définir et de préciser les spécifications en ce qui concerne les caractéristiques organoleptiques et physico-chimiques, ainsi que la composition chimique à partir des données de la chromatographie en phase gazeuse (CPG) selon les cas. Ces spécifications devront être établies de façon à mettre en valeur les produits malgaches par rapport à ceux des autres pays pour attirer les acheteurs étrangers.

Ces éléments serviront de base pour une réunion de validation auprès des membres de PRONABIO qui prendront les décisions finales quant aux normes définitives.

Dans le cas précis du Niaouli, nous avons constaté l'absence de spécifications pour les huiles essentielles, même dans les normes les plus récentes telles que AFNOR, 2000. Or, l'exportation de ce produit vers l'Europe est effectuée depuis les années 1980 avec la société SOAMADINA de l'Institut Malgache de Recherche Appliquée (IMRA) et se poursuit de nos jours avec plus d'une douzaine d'entreprises ; d'après les enquêtes menées ; les caractéristiques de l'huile essentielle commercialisée sont définies surtout sur la base de la teneur en 1,8-cinéole (45 à 65%), type le plus courant sur le marché mondial avec des demandes de l'ordre de 6 à 10 tonnes/an. Toutefois, des demandes ponctuelles de l'ordre de 50 à 100 Kg ont été satisfaites entre 1992 - 1996 pour les types à nérolidol et à viridiflorol, avec des prix nettement plus élevés (rapport de prix : 2 à 4 fois plus que le type à cinéole). Cependant, on note actuellement une évolution des besoins en huile essentielle de niaouli car, depuis 2002, plusieurs sociétés

malgaches ont été contactées pour des commandes de niaouli ayant une teneur en viridiflorol de 10 à 12%, pour des quantités variant entre 1 à 1,2 tonnes.

La présente étude qui comporte une compilation des données des huiles essentielles industrielles sur une période de 10 ans se propose d'élaborer un avant-projet de normes (ou fiche technique) utile pour le Label NATIORA dans l'établissement des spécifications du Niaouli.

### ***Technologie d'extraction - Echantillons industriels***

#### ***Extraction industrielle :***

A Madagascar, les huiles essentielles de Niaouli sont extraites par entraînement à la vapeur d'eau ou par hydrodistillation dans un système classique d'extraction constitué par :

- Une cucurbite ou alambic en acier inoxydable, en aluminium ou en cuivre, de capacité variant entre 600 à 5000 litres, qui peut comporter soit un panier, soit une grille pour la matière première ; le chauffage de l'alambic se fait soit par feu nu direct, soit par la vapeur provenant d'une chaudière,
- Un chapiteau ou couvercle, prolongé par un col de cygne, où circule le mélange vapeur eau -essence pour aller vers la partie suivante,
- Un réfrigérant ou condenseur, qui peut être multitubulaire ou à serpentin ou à chicanes, vertical ou horizontal avec une légère inclinaison ; la condensation des vapeurs eau-essence s'effectue dans ce compartiment.
- Un essencier ou un vase florentin où l'huile essentielle se sépare de l'eau par différence de densité.

Selon la capacité de traitement et le type de matériel d'extraction, les unités de production peuvent être classées en 3 types d'exploitation :

## **RAMANOELINAetal**

- artisanal, où les alambics sont chauffés par un foyer à feu nu direct alimenté par du bois utilisé comme combustible ; la capacité de traitement d'un alambic de 2000 l. est de l'ordre de 200 Kg de matières premières par extraction, (voir figure 1 : Alambic artisanal de la société MARTIAL à Beforona).
- semi-industriel, où la matière première est chauffée par de la vapeur circulant dans l'alambic grâce à une petite chaudière de fabrication locale qui peut donner une pression allant jusqu'à 4-5 bars: cas de l'unité d'extraction de la société PROEST à Tbamasina
- industriel, comme dans le cas de l'usine RAMEX à Toamasina (Figure 2) qui dispose d'une batterie de plus de 20 alambics de 1500 - 2000 l., en aluminium ou en acier inoxydable, alimentés soit par une grande chaudière à bois soit par une chaudière à fuel fournissant des pressions de 10 à 12 bars. La société RAMEX traite plusieurs types de matières premières comme le clou de girofle, le poivre noir, etc. exportant annuellement plusieurs milliers de tonnes d'huiles essentielles vers l'Europe et les Etats Unis.

Présentant les différentes opérations réalisées dans une exploitation artisanale de niaouli, la figure 3 permet d'évaluer un cycle de production à 5h30mn - 7h40mn si le type de matières premières à distiller reste inchangé .

L'huile essentielle est extraite par distillation à la vapeur d'eau des feuilles et des branches terminales dans des alambics en acier inox, en cuivre ou en aluminium, de capacité allant de 800 à 5000 litres (les plus courants ayant 1500 - 2000 litres), avec une charge de 1/5 à 1/10 selon la qualité des matières premières (présence ou non de gros branchages). La durée de distillation varie d'un producteur à un autre, en moyenne 3-4h., mais elle peut aller jusqu'à 12 h. Durant la période considérée (1992 - 1995), la production annuelle de Madagascar est de l'ordre de 2 à 3 tonnes.

Il importe de préciser que, durant les années 92 à 95, des productions particulières d'huile essentielle à nérolidol ou à viridiflorol ont nécessité la mise en place d'un système de collecte des feuilles basé sur une sélection des pieds de niaouli intéressants par la réalisation de test olfactif ;

Un chef-collecteur « entraîné » est ensuite chargé de conduire une équipe composée par une douzaine de paysans-collecteurs pour le ramassage des feuilles sur les plants préalablement marqués.

Aucune organisation particulière n'est prise pour la production d'huile essentielle riche en cinéole où les feuilles sont collectées de façon aléatoire (surtout de 1996 à 2001). *Origine des échantillons industriels*

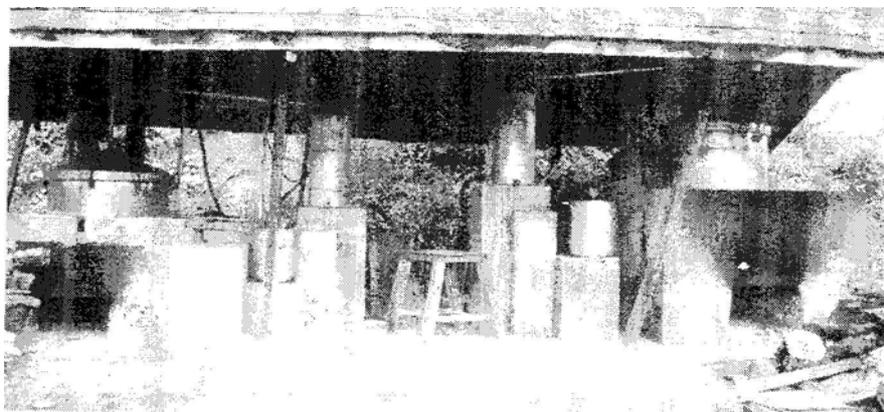


Obtenus sur une période de 10 ans (1992~à~WtrT), les 159 échantillons d'huile essentielle proviennent d'une quinzaine d'exploitations industrielles ou artisanales de Madagascar réparties dans plusieurs zones de production, notamment sur la côte Est (Toamasina, Mananjary, Manakara, Farafangana, Vangaindrano, Moramanga, Ambatondrazaka), quelques échantillons provenant tout de même de Fort Dauphin et d'Ambanja - Ambilobe.

Les deux périodes citées (1992 à 1995; 1996 à 2001) apparaissant bien différenciées par les types de produits demandés, elles ont fait l'objet de traitement statistique séparé, une analyse de l'ensemble des 159 étant également envisagée.

Les tableaux n°1 (34 échantillons) et n°2 (125 échantillons) présentent la classification des échantillons dans les différents types de Niaouli selon les tests olfactifs ou analyses effectués, la colonne consacrée aux échantillons Mélange étant constituée par des huiles essentielles avec des teneurs équilibrées en 1,8-cinéole, viridiflorol et trans-nérolidol, difficiles à classer.

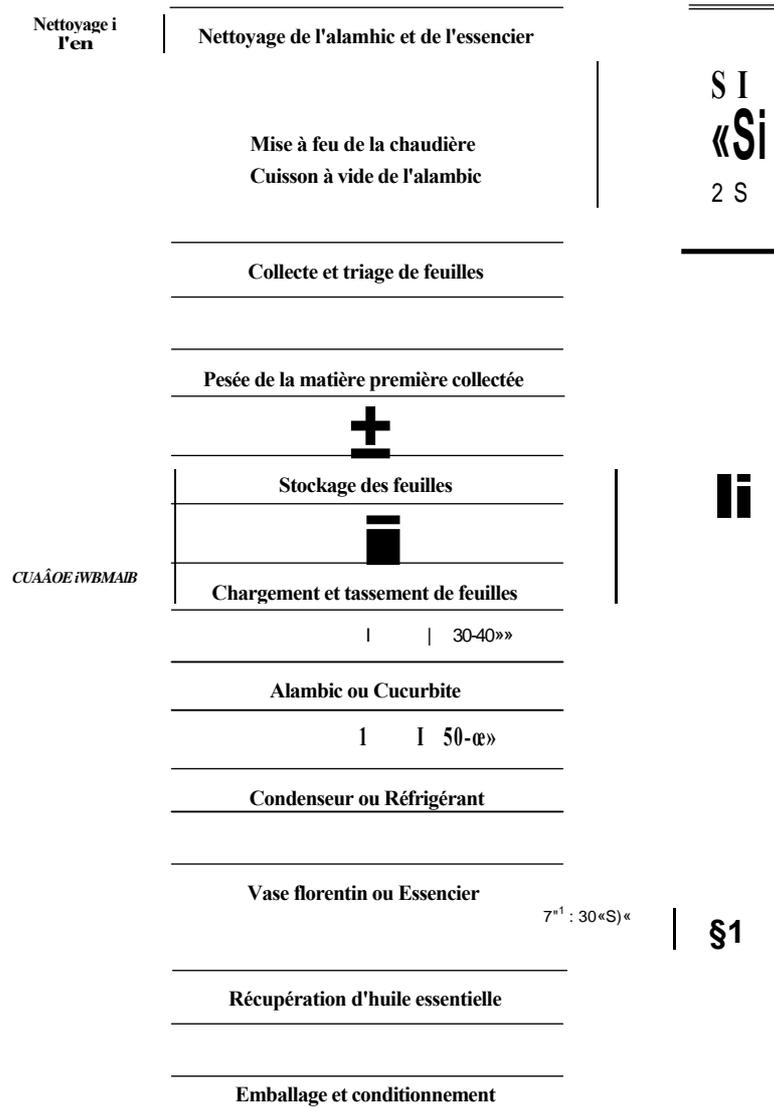
4.1



**Figure 1 : Vue d'ensemble d'une unité d'exploitation artisanale d'huile essentielle de Beforona (RN 2)**



**Figure 2 : Vue sur une batterie d'alambics pour extraction d'huile essentielle dans une exploitation industrielle de Toamasina**



**Figure 3 : Cycle de production d'huile essentielle pour une unité d'extraction artisanale**

(Alambic de 2000 litres)

Tableau n°1 :

Classification des échantillons d'huile essentielle de Niaouli (1992 - 1995) sur la base de la présélection des producteurs et des analyses chromatographiques

Année	CHÉMOTYPE						TOTAL
	1,8-cinéole		Viridiflorol		Nérolidol		
	TYPE <sub>a</sub>	Mélange <sub>b</sub>	olfactif	Analytique <sub>c</sub>	olfactif	Analytique <sub>d</sub>	
1992	3		4	4	4	4	11
1993	3		2	2			5
1994	A				1	1	5
1995	11				2	2	13
TOTAL	21		6	6	7	7	34
%	61,8	0		17,6		20,6	100

<sup>a</sup> Teneur en cinéole (45 à 70%)

<sup>b</sup> Teneur en cinéole (28 à 39%), mais présence de viridiflorol et nérolidol

<sup>c</sup> Teneur en viridiflorol (26 à 36%)

<sup>d</sup> Teneur en trans-nérolidol (44 à 95%)

L'examen simultané de ces 2 tableaux amène aux constats suivants :

- Si les échantillons présentés sont considérés comme représentatifs des huiles essentielles de niaouli produites à Madagascar durant ces 10 ans, les essences de niaouli à cinéole sont largement prépondérantes avec au moins 136 échantillons sur 159, soit plus de 85% de l'ensemble.
- Rendue possible grâce à un ciblage préalable des plants de niaouli par des tests olfactifs, la production des huiles essentielles type viridiflorol et type nérolidol entre 1992 et 1995 a donné d'excellents résultats confirmés par les analyses chimiques, avec 13 échantillons sur 34, soit 38% pour cette période.
- Les échantillons à trans-nérolidol trouvés après 1996 sont des huiles essentielles produites accidentellement, sans ciblage préalable des pieds

- de Niaouli avant la collecte de matières premières. Le 1,8-cinéole et le viridiflorol y sont présents à des teneurs de l'ordre de 10 à 20%.

Tableau n°2 :

Classification des échantillons d'huile essentielle de Niaouli (1996-2001) sur la base de feuilles collectées de façon aléatoire et des analyses chromatographiques

Année	CHEMOTYPE				TOTAL
	1,8-cinéole		Viridiflorol	Nérolidol	
	TYPE <sup>3</sup>	Mélange <sup>b</sup>	Analytique <sup>c</sup>	Analytique <sup>d</sup>	
1996	7	1			8
1997	11	1		1	13
1998	18	2			20
1999	30	1			31
2000	39	1		1	41
2001	10	1		1	12
TOTAL	115	7		3	<b>125</b>
%	92	5,6	0	2,4	100

a Teneur en cinéole (45 à 70%)

b Teneur en cinéole (28 à 39%), mais présence de viridiflorol (13 à 24%) et

nérolidol (13 à 20%) c Teneur en

viridiflorol (26 à 36%) d Teneur en trans-

nérolidol (44 à 80%)

### ***Cinétique d'extraction et rendement en huile essentielle***

En général, la durée d'extraction est de 3 à 5h. pour le Niaouli à cinéole (essence classique) ; cette durée est plus prolongée pour le niaouli à trans-nérolidol, pouvant aller jusqu'à 12 h.

Pour le Niaouli à cinéole, le tableau n°3 résume les résultats de mesure de la cinétique d'extraction réalisée sur 2 alambics à feu nu d'une capacité de 100 l. et

de 5000 l., les expérimentations étant menées au moins 5 fois sur chaque alambic à deux périodes différentes espacées de 3 mois.

Tableau n°3 : Evolution de la quantité d'huile essentielle obtenue en fonction du temps

Durée d'extraction (h.)	1	2	3	4	5
HE obtenue / HE totale (%)	45-38	35-30	18-12	12-5	5-1
Moyenne	41	32	15	8	4

Le rendement en huile essentielle se situe entre 0,2 et 1,1 %, avec une moyenne de 0,8 % (p/p). Dans la majorité des cas, les rendements élevés (0,9 - 1%) sont obtenus pour les huiles essentielles riches en cinéole. Les rendements les plus faibles (0,2 - 0,3%) sont observés sur les feuilles à potentialité en trans-nérolidol

### ***Variations des caractéristiques physico-chimiques et de la composition chimique***

#### *Caractéristiques physicochimiques*

Les caractéristiques physico-chimiques de 10 à 37 échantillons à prépondérance en 1,8-cinéole ont été mesurées et comparées avec les spécifications données par les clients-importateurs. Le tableau n°4 présente les résultats obtenus auxquels sont ajoutées quelques grandeurs statistiques nécessaires pour l'établissement de l'avant-projet de normes.

Tableau n°4 :  
 Caractéristiques physico-chimiques des huiles essentielles industrielles de Madagascar  
 - Chémotype Cinéole

Caractéristique	Densité	Indice de réfraction	Pouvoir rotatoire	Miscibilité à l'éthanol
Nombre d'échantillons	37	36	36	10
Minimum	0,9013	1,4649	-3°30	1,0
Maximum	0,9206	1,4801	+ 5°75	1,0
Moyenne	0,9135	1,4684	-0°74	1,0
Ecart-type	0,0044	0,0037	+ 1°48	0,0
Spécifications d'importateurs	0,9100 - 0,9300	1,4650-1,4764	-5°1 à +1°	inf. 5 vol.
Moyenne - Ecart-type	0,9091	1,4647	-2°23	1
Moyenne + Ecart-type	0,9180	1,4721	+ 0°74	1

Ce tableau montre que les valeurs moyennes de la densité (0,9135), l'indice de réfraction (1,4684) et le pouvoir rotatoire (- 0°74) se situent correctement dans les valeurs limites préconisées par les utilisateurs. Ainsi, aucun problème particulier n'a été rencontré par les exportateurs malgaches en ce qui concerne les indices physico-chimiques, même si quelques échantillons ont présenté des valeurs de densité ou indice de réfraction légèrement faibles.

### *Composition chimique*

Si pour les analyses chromatographiques fines, nous avons déjà recensé 75 pics et caractérisé 47 constituants dans l'huile essentielle de niaouli (Ramanoelina, 2003), dans cette étude des échantillons industriels, nous n'avons retenu que les 21 constituants les plus représentés dans l'essence en modifiant les paramètres d'intégration des pics, et cela conformément aux standards d'analyses de laboratoires français des sociétés d'importation et présentés par les clients-importateurs. Le tableau n°5 présente la composition chimique de l'ensemble des 159 échantillons, la 2ème colonne donnant le code utilisé pour désigner les variables lors de l'analyse statistique des données.

Les huiles essentielles sont composées par 11 hydrocarbures terpéniques et 10 produits oxygénés :

- Parmi les hydrocarbures monoterpéniques, l' $\alpha$ -pinène (10,1%) est le constituant majoritaire, avec le limonène (7,5%) et le p-pinène (2,7%), tandis que le P-caryophyllène (1,54%) est le sesquiterpène le plus représenté.
- Le 1,8-cinéole (50,2 %) est le constituant prédominant des produits oxygénés ; il est suivi par le (E)-nérolidol (7,8%), l' $\alpha$ -terpinéol (6,1%) et le viridiflorol (6%).

Les écarts-types les plus élevés sont observés sur ces constituants les plus représentés dans le Niaouli, comme le trans-nérolidol (19,5), le 1,8-cinéole (16,1) et le viridiflorol (5,9) ; ce qui est tout à fait logique étant donné que ces constituants présentent de grandes variations de valeurs pour ces 159 échantillons, reflétant l'hétérogénéité des huiles essentielles malgré la prédominance des chémotypes Cinéole.

Tableau n°5 : Composition chimique de 159 échantillons industriels d'huiles essentielles de Niaouli de Madagascar

Constituant	Code	Min	Max	MOY	Ec-type
a-pinène	API	0,10	16,87	10,08	3,59
P-pinène	BPI	0,01	4,54	2,68	0,94
nyrcène	MYR	0,01	2,48	0,85	0,45
limonène	LIM	0,05	11,72	7,50	2,33
<b>1,8-cinéole</b>	CIN	0,02	71,12	50,19	<b>16,13</b>
y-terpinène	TER	0,02	7,36	1,70	1,45
p-cymène	CYM	0,01	4,96	1,02	0,81
terpinolène	TRP	0,01	3,67	0,69	0,71
benzaldéhyde	BEN	0,04	2,45	0,27	0,31
linalol	LIN	0,05	6,59	0,40	0,79
oc-gurjunène	GUR	0,01	3,10	0,10	0,35
p-caryophyllène	CAR	0,20	5,92	1,54	0,86
ttrpinèn-4ol	TPL	0,01	4,56	0,79	0,59
viridiflorène	VEN	0,01	2,58	0,75	0,50
a-terpinéol	ATE	0,05	12,29	6,13	1,93
(ô+y)-cadinène	CAD	0,02	1,56	0,26	0,20
époxyde de caryophyllène	EPO	0,02	1,27	0,32	0,25
lédol	LED	0,13	7,83	0,83	1,19
<b>trans-nérolidol</b>	NER	0,05	95,04	<b>7,80</b>	<b>19,56</b>
<b>viridiflorol</b>	VIR	0,10	36,32	5,98	<b>5,97</b>
5-cadinol	COL	0,01	1,59	0,11	0,24

### **Analyse statistique des produits industriels ; Résultats et discussion**

Les données d'analyses des 159 échantillons et 21 variables sont soumis à l'analyse multidimensionnelle, Analyse en Composantes Principales (ACP) et Analyse Factorielle Discriminante (AFD) en utilisant le logiciel STATBOX mis au point et exploité par une société agro-industrielle en France. D'une utilisation

assez pratique, ce logiciel présente le grand avantage d'une possibilité de traitement direct des données saisies sur tableur Excel, facilitant ainsi la mise en œuvre des analyses.

### *Résultats de l'analyse statistique multidimensionnelle*

Le traitement par ACP donne les valeurs propres et cumulés, présentés dans le tableau n°6.

Tableau n°6 : Valeurs propres et cumul de pourcentage pour les 3 axes principaux

Axe n°	Valeurs propres	% information	Cumul
1	10,87	49,27	49,27
2	7,75	35,12	84,39
3	2,19	9,94	94,33

On peut observer que l'axe 1 apporte déjà près de la moitié de l'information et que les trois premières composantes principales véhiculent plus de 90 % de l'information totale.

Les représentations graphiques des individus et des variables suivant les axes 1/2 et les axes 2/3 sont données respectivement dans les figures 4 et 5.

Ces figures montrent bien l'excellente séparation des 3 chémotypes dans les 2 systèmes d'axes avec :

- le chémotype I (CI) qui regroupe 141 échantillons sur 159 (88, 7%) ; il est bien différencié des 2 autres types grâce aux variables 1,8-cinéole, a -pinène et limonène. La tendance à la séparation d'un groupe de 5 à 6 échantillons (délimitée par l'enveloppe rouge) est de nouveau retrouvée dans cette figure.
- le chémotype II (C.II), avec seulement 8 échantillons (5%), bien séparé suivant l'axe 1, par un groupe de constituants comme le viridiflorol, le lédol, le viridiflorène, l' a-terpinéol, etc.

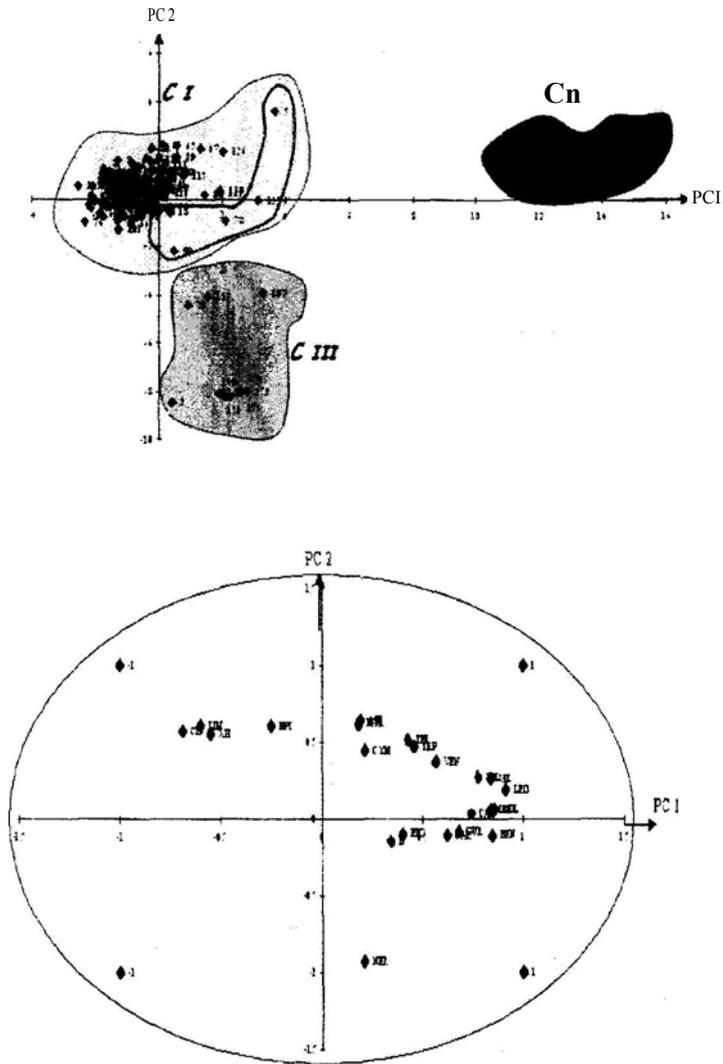
- le chémotype III (C.III), qui compte 10 échantillons (6,3%), bien individualisé grâce au trans-nérolidol.

L'AFD confirme les résultats obtenus en ACP, car dans le plan 1/2, on observe une très bonne séparation des 3 chémotypes grâce aux constituants cités auparavant, une anomalie étant constatée pour la position du 1,8-cinéole dans la représentation des variables (Figure 6).

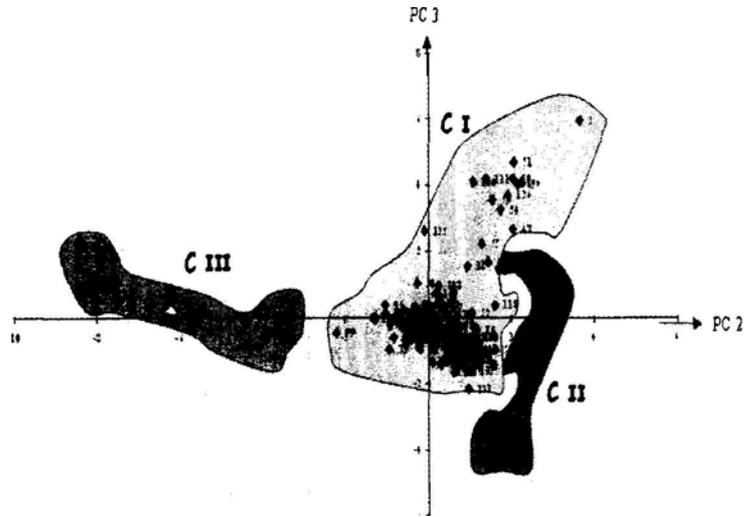
On note toutefois une affectation assez floue d'un individu particulier à la fois riche en viridiflorol (20%) et trans-nérolidol (35%), mais placé plus près du chémotype II.

#### *Variations des chémotypes pour les échantillons industriels de 1992 à 2001*

Les variations de la composition chimique au sein de chacun des 3 chémotypes séparés par l'analyse statistique multidimensionnelle peuvent être exploitées en vue de l'établissement de l'avant-projet de normes. C'est dans cet objectif qu'a été établi le tableau n°7 des grandeurs statistiques pour chaque chémotype, qui va être complété par le tableau n°8 qui présente les limites de variations proposées pour chaque constituant, établies selon le mode de calcul donné par les normes : Moyenne  $\pm$  yEcart -type ou  $(m \pm y a)$ .



**Figure 4 :** Reprojection; graphiques de l'ensemble des observations groupées en clusters C (A) et les variables (B) dans le plan 1-2 en ACP (Echantillons de 1982 à 2001)



S : Représentations graphiques de l'ensemble des observations groupées en

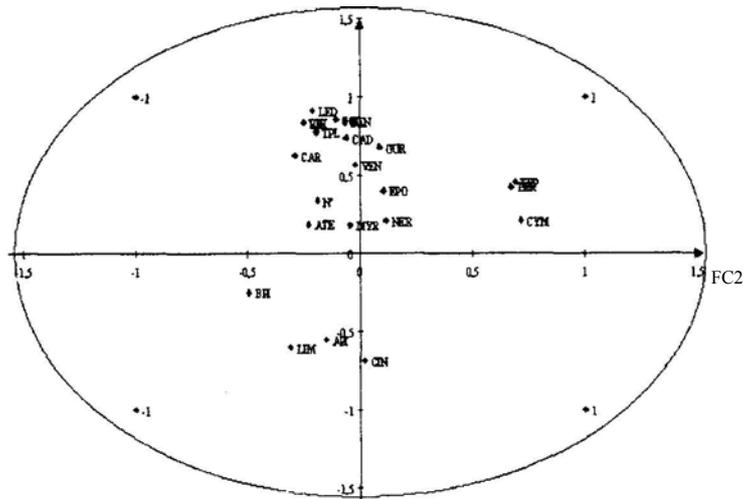
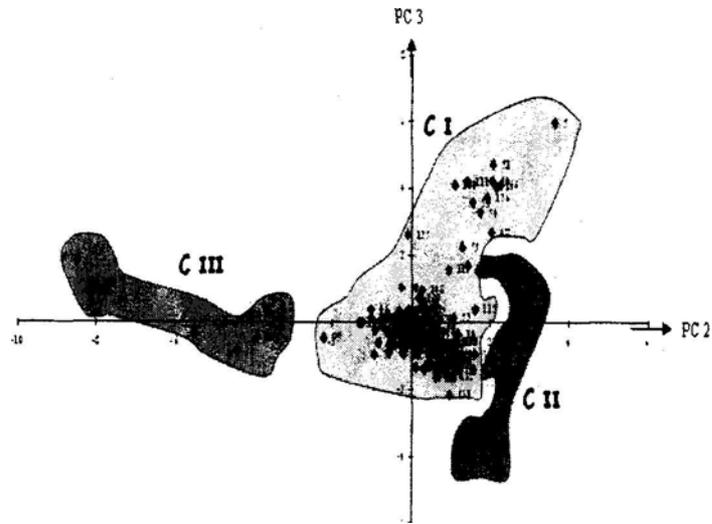


Figure 5 : Représentations graphiques de l'ensemble des observations groupées en



FD2

FD1

Figure 6 : Représentations graphiques de l'ensemble des observations groupées en chémoypes C(A) et des variables (B) dans le plan 1/2 en AFD (Echantillons de 1992 à 2001)

Tableaux n° 7 : Grandeurs caractéristiques des 159 échantillons industriels de Niaouli de 1992 à 2001

<i>mmm</i>	<i>ifc</i>	MB	M		jfa - IBf	L	j	JÉL	
		B\$	»#		il 43	JÉi	-	-	M
<i>W</i>	<i>ut</i>	W	£		U»			l\$	(!# MI
<i>W</i>	<i>ut</i>	US	W)	<b>W</b>	43 ^	<i>m</i>	<i>m</i>	i\$	3# ^
	<i>ijff</i>	<b>w</b>	<b>ni</b>		\\$ \$	<i>if</i>	<i>IM</i>	<b>P</b>	<l M
<i>niilt</i>	«			Mi	8^ i£ \>	<i>if</i>	<i>m</i>		<b>P</b> il
<i>W</i>	<i>m</i>	W	VI	vi	U <sub>i</sub> l\$	<i>m</i>	<i>m</i>		\$^ M
<i>*9Éàì</i>	<i>m</i>			l\$	«J-	<i>w</i>	<i>m</i>		<b>M</b>
<i>Mifc</i>	<i>m</i>	3^5	\$	<b>M</b>	<i>w</i>	<i>v</i>	<i>il</i>	<b>M</b>	!>
	<i>o</i>	l%	^i	r6	i,ji	^	î#	s,ti	iji
	<i>P2</i>	<i>iji</i>	^	i,«	Ût	p	!i	1\$	5Y
	<i>m</i>	<i>vt</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	^	<b>W</b>	<b>W</b>	<b>\$</b>	<b>W</b>
	<i>m</i>	<i>m</i>	^	i^	^	i;<	l;;	y;	^
	<i>5C</i>	t#	i^	p	o^	c?)	i	\$ji	\$
<i>m</i>	<i>m</i>	M»	M»	^	^	^	^	Vl	^
<i>m</i>	<i>së</i>	i ^	<i>ifi</i>	<i>i\$</i>	<i>i\$</i>	a#	^	*\$	4p
<i>m</i>	<i>i,S</i>	HS0	^	p	tiji	33Î	»j»	i^	P
<i>m</i>	<i>ifi</i>	JS	i l	U	U	i	i	8l3	M?

D'après le tableau n°7, il apparaît clairement que :

- Pour le chémotype Cinéole, le constituant majoritaire, le 1,8-cinéole présente une valeur moyenne de 55,4%, avec des variations allant de 34,8 à 71,1%. Viennent ensuite les composés plus faiblement représentés comme 1' ct-pinène (10,9%), le p-pinène (8,1%), 1' a-terpinéol (6,3%) et le viridiflorol (5%). Ces 3 premiers constituants ont largement contribué à la différenciation de ce chémotype dans nos précédents travaux (16, 19).

- Pour le chémotype ViridifloroL ce constituant majeur de l'huile essentielle varie de 17,1 à 36,3%, avec une valeur moyenne de 28,7%, de loin inférieure aux 48% trouvés avec les concrètes de laboratoire (19). Cette différence provient à la fois des difficultés de sélection des plants de niaouli et des conditions d'extraction qui ne sont pas encore totalement maîtrisées. Le 1,8-cinéole est présent à une teneur de 15%, suivi du trans-nérolidol (9,4%), de l'  $\alpha$ -terpinéol (8,5%) et du lédol (5,3%).
- Le dernier chémotype est caractérisé par sa forte teneur en trans-nérolidol (79,5%) qui varie entre 42,8 et 95% ; les autres constituants sont très faiblement représentés : 1,8-cinéole (5%),  $\alpha$ -pinène (2,7%), p-caryophyllène (2,4%) et limonène (2%).

Tenant compte des valeurs de ce tableau n°7, nous avons établi le tableau n°8 donnant les limites de variation des différents constituants de l'huile essentielle.

Dans le cas des huiles essentielles de niaouli, dans la relation ( $m \pm ya$ ),  $j$  a été pris égal à 1, car les essais de calcul effectués pour le chémotype Cinéole ont donné des résultats en conformité avec les valeurs-limites actuellement adoptées par les clients-importateurs notamment pour ce constituant majeur. Les valeurs négatives ont été ramenées à 0.

Ces limites de variation pour la composition chimique étant déterminées complétant ainsi les données du tableau n°4, l'avant-projet de normes a été établi en s'inspirant des formes de présentation standard données par les normes ISO et AFNOR et, dans la mesure du possible, en prenant comme modèle des huiles essentielles proches de celle du niaouli et déjà décrites dans les normes ; par exemple, l'huile essentielle de *Melaleuca*, type terpinénol-4 (Arbre à thé) ISO 4730, équivalent à NF Ta 75-358 de Décembre 1997.

Tableau n°8 : Limites de variation des constituants chimiques des huiles industrielles de Niaouli

Ccestjhaa*	ffi-0	ffi+0	m-ff	ffi+O		m+c
a-pôco»	1,30	13^4	1,07	g,30	0	é,5i
	<b>2M</b>	3^2	<b>i00</b>		<b>8,M</b>	1.10
!££&&	0,45	1^	3,43		<b>U5</b>	
Saoaëiw		<b>m</b>	2,01	4,54	0	4,64
lJ8-d)é*to	48»	<b>61?2</b>	<b>J^J</b>	24,10	8	il??
		2,04	<b>pî</b>	3,75	0^£	079
fo&itâM		i,^	<b>4P</b>	<b>i»</b>	1,1é	<b>m</b>
	<b>m</b>	134			l^22	
	0j88	<b>43!</b>		<b>m</b>	LJ2	
<b>ma .. "</b>	<b>m</b>		<b>m</b>		lj48	<b>m</b>
	0		a	yj	1,42	<b>m</b>
	0,7?	1.»	<b>y*</b>	4,«3		3180
	0,4!	<b>m</b>	3,11	411	134	613
	0,SI	1,14	<b>Uî</b>	2>J	<b>UI</b>	0^44
	5(M	7,66		lIU58	1,15	<b>245</b>
	0,Q		<b>m</b>		1,44	
	<b>m</b>	<b>w</b>	0,27	0,89	134	
	0,29	<b>m</b>		V2	1^2	
	0	5J7	<b>i«</b>	16,40	55JM	9Sî
	2,7?	7,18	2141	«27	i	
S-c^mol	0	19	0l,30	U4		<b>m</b>

Les avant-projets de normes peuvent se présenter sous forme de fiches :

- Fiche 1 : Huile essentielle de feuilles de Niaouli, type Cinéole (*Melaleuca quinquenervia* (Cav.) S. T. Blake)
- Fiche 2 : Huile essentielle de feuilles de Niaouli, type Viridiflorol (*Melaleuca quinquenervia* (Cav.) S. T. Blake)
- Fiche 3 : Huile essentielle de feuilles de Niaouli, type Nérolidol (*Melaleuca quinquenervia* (Cav.) S. T. Blake)

Disposant de données plus complètes pour les huiles essentielles de Niaouli, type Cinéole, finalement seule la fiche 1 a été établie, car elle repose sur un nombre d'échantillons élevés (141 échantillons), lui conférant une plus grande fiabilité.

**Fiche 1 : Huile essentielle de feuilles de Niaouli,  
type C<sub>néo</sub>e(*Melaleuca quinquenervia* (Cav.) S. T. Blake)**

*Domaine d'application*

La présente fiche a pour objet d'indiquer certaines caractéristiques de l'huile essentielle de *Melaleuca quinquenervia* (Cav.) S. T. Blake de Madagascar, destinées à faciliter l'appréciation de sa qualité.

**Références normatives**

NF T 75-101 (ISO 875)	Huiles essentielles- Evaluation de la miscibilité à l'éthanol
NF T 75-110 (ISO 356)	Huiles essentielles- Préparation de l'échantillon en vue de l'analyse
NF T 75-111 (ISO 279)	Huiles essentielles- Détermination de la masse volumique et de la densité relative des huiles essentielles
NE T 75-112 (ISO 280)	Huiles essentielles- Détermination de l'indice de réfraction
NF T 75-113 (ISO 592)	Huiles essentielles- Détermination du pouvoir rotatoire et de la déviation polarimétrique

NF T 75-401 Huiles essentielles- Procédé général pour l'analyse par chromatographie en phase gazeuse sur colonne capillaire (ISO 7609)

FD T 75-107 Huiles essentielles- Détermination du point d'éclair

### **Définition**

L'huile essentielle de *Melaleuca quinquenervia* (Cav.) S. T. Blake, est obtenue par distillation à la vapeur d'eau du feuillage et des branches terminales de *Melaleuca quinquenervia* (Cav.) S. T. Blake (Myrtaceae) de Madagascar.

### **Spécification**

#### *Caractéristiques organoleptiques*

<b>Aspect</b>	.....	Liquide mobile limpide
<b>Couleur</b>	.....	incolore à jaune clair
<b>Odeur</b>	.....	caractéristique, rappelant celle du cinéole

#### *Caractéristiques physiques*

Densité relative à 20°C/20°C

Minimum : 0,9091

Maximum : 0,9180

Indice de réfraction à 20°C

Minimum : 1,4647

Maximum: 1,4721

Pouvoir rotatoire à température ambiante

Compris entre - 2°23' et + 0°74C

Miscibilité à l'éthanol à température ambiante

Il ne doit pas être nécessaire d'utiliser plus de 1 (un) volume d'éthanol à 95%(v/v), à température ambiante, pour obtenir une solution limpide avec un volume d'huile essentielle.

### **Caractéristiques chimiques**

Analyse chromatographique en phase gazeuse

Les profils chromatographiques ont été réalisés sur colonnes capillaires apolaire et moyennement polaire

Composition chimique de l'huile essentielle de niaouli, type Cinéole  
*Melaleuca quinquenervia* (Cav.) S. T. Blake de Madagascar

Constituant	% chromatographique						
	a- pinène	p- pinène	limo- nène	1,8- cinéole	a- terpin- éol	tran- s- néro- lirido	viridifl- oro
Proposition							
min	8	2	6	48	5	0	2
max	13	3	9	62	7,5	6	7

Point d'éclair  
(A déterminer)

## Conclusion

Outre la mise au point biosystématique de *Melaleuca quinquenervia* (Cav.) S.T. Blake, le présent article présente la confirmation de l'existence de chémotypes pour les huiles essentielles industrielles de Niaouli de Madagascar. En effet, le traitement statistique des données d'analyse chimique de 159 échantillons industriels de niaoulis reçus d'une quinzaine de sociétés malgaches de production pendant 10 ans (1992 à 2001) a confirmé la prépondérance des produits commercialisés sur le marché international (Niaouli à dominance en 1,8-cinéole : 35-71%) ainsi que l'existence réelle de 3 chémotypes :

- Chémotype à 1,8-Cinéole qui correspond au TYPE Australie (en moyenne : 55%)
- Chémotype à Viridiflorol (28%)
- Chémotype à Nérolidol (79%)

Apportant une contribution à la mise en place du Label NATIORA initié par le groupement SYPEAM/PRONABIO, un avant-projet de normes pour les huiles essentielles est proposé, plus particulièrement pour les essences du chémotype Cinéole.

## Bibliographie

1. AFNOR. (2000). Recueil de normes françaises des huiles essentielles, AFNOR, Paris.
2. BERTHAUD A. (1965). Le Niaouli. Son essence. Thèse de Doctorat, Université de Rennes.
3. BLAKE S.T. (1968). Contributions from the Queensland herbarium. n°1- A revision of *Melaleuca leucadendron* and its allies (Myrtaceae); Queensland herbarium- Department of primary industries- Brisbane.
4. BOITEAU P. (1979). Précis de matière médicale malgache. Librairie de Madagascar, Tananarive.
5. BYRNES N.B. (1984). *Austrobaileya*, 1, 65-76.
6. CABANIS Y., CABANIS L., CHABOUIS F. (1970). Végétaux et groupements végétaux de Madagascar et des Mascareignes. Tome 1., B.D.P.A., Tananarive.
7. CHERRIER J.F. (1953). Les essences forestières exploitables en Nouvelle Calédonie: Botanique; Technologie; Usages ; Service des Eaux et Forêts, Paris.
8. EKUNDAYO O., LAAKSO I., HILTUNEN R. (1987). Volatile components of *Melaleuca leucadendron* (Cajuput) oils. *Acta Pharm. Fenn.*, 96, 79-84
9. GUENTHER E. (1950). The essential oils- Volume IV. D. Van Nostrand Company Inc, New York.
10. GUILLAUMIN A. (1948). Flore analytique et synoptique de la Nouvelle Calédonie ; C.R.S.C., Paris.
11. IRELAND, B. F.; HIBBERT, D. B.; GOLDSACK, R. J.; DORAN, J. C; BROPHY, J. J. (2002). Chemical variation in the leaf essential oil of
12. *Melaleuca quinquenervia* (Cav.) S.T. Blake., *Biochemical Systematics and Ecology* 30(5), 457-470

13. MOUDACHIROU, M. ; GBENOU, JOACHIM D. ; GARNEAU, F. X. ; JEAN, F. I. ; GAGNON, H. ; KOUMAGLO, K. H. ; ADDAE-MENSAH, 1. (1996). Leaf oil of *Melaleuca quinquenervia* from Benin. *J. Essent. Oil Res* 8(1), 67-
14. QUEVAUVILLER A., PANOUSE-PERRTN J. (1952). *Anesth. Analg* 9, 421-426  
PARIS R.R., MOYSE H.. (1967). *Matière médicale*. Tome II, Masson et Compagnie, Paris.
15. RAGEAU J. (1973). *Les plantes médicinales de la Nouvelle Calédonie ; Rapport ORSTOM*, 53, 23-28
16. RAMANOELINA A.R. P. (2003). Etude de la variabilité spatio-temporelle de la composition chimique de l'huile essentielle de Niaouli (*Melaleuca quinquenervia* (Cav.) S.T. Blake) de Madagascar ; Thèse de Doctorat d'Etat es Sciences physiques, Ecole Supérieure Polytechnique d'Antananarivo.
17. RAMANOELINA, P. A. R.; BIANCHINI, J. P.; ANDRIANTSIFERANA, M.; VIANO, J. ; GAYDOU, E. M. (1992). Chemical composition of niaouli essential oils from Madagascar ; *J. Essent. Oil Res* 4(6), 657-8.
18. RAMANOELINA A.R.P., TERROM G., BIANCHIMI J.P., COULANGES P. (1987). *Arch. Inst. Pasteur Madagascar*, 53, 217-226.
19. RAMANOELINA, P. A. R.; VIANO, J.; BIANCHINI, J. P.; GAYDOU, E. M. (1994). Occurrence of Various Chemotypes in Niaouli (*Melaleuca quinquenervia*) Essential Oils from Madagascar Using Multivariate Statistical Analysis. *J. Agric. Food Chem* 42(5), 1177-82.
20. RANDRIAMAHEFA M., RAKOTOZAFY A. (1979). *Tari-dalana ahafantarana ny raokandro malagasy*, Livre 1., Antananarivo.
21. SARLIN P. (1954). *Bois et forêts de la Nouvelle Calédonie ; C.T.F.T.*, Paris.
22. TRILLES, B.; BOURAIMA-MADJEBI, S.; VALET, G. (1999). *Melaleuca quinquenervia* (Cavanilles) S.T. Blake, Niaouli. *Médicinal and Aromatic Plants-Industrial Profiles* 9, 237-245.
23. TODOROVA, M.; OGNANOV, I.; PHAM, T. T. T. (1988). Composition of Vietnamese essential oil from *Melaleuca leucadendron* L. *Perfum. Flavor*. 13(1), 17-18.
24. VALNET J. (1984). *Aromathérapie: Traitement des maladies par les essences des plantes*. Maloine S.A, Paris