

N° d'ordre :

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE  
SCIENTIFIQUE

-----  
UNIVERSITE M'HAMED BOUGARA BOUMERDES  
FACULTE DE TECHNOLOGIE  
DEPARTEMENT DE GENIE DES PROCEDES



DOMAINE : SCIENCES ET TECHNOLOGIE  
FILIERE : GENIE DES PROCEDES  
SPECIALITE : GENIE CHIMIQUE

## MEMOIRE DE MASTER

### *THEME*

*Caractérisation physicochimique et biologique de  
Lawsonia Inermis L. et d'autres plantes colorantes pour  
usage cosmétique.*

*Présenté par :*

**Chakir Karima**

**Behloul Lynda**

**Belgherbi Rokia**

*Examiné par le Jury composé de :*

<b>HACHEMI</b>	<b>Messaoud</b>	<b>Professeur</b>	<b>UMBB</b>	<b>PRESIDENTE</b>
<b>TOUZOURT</b>	<b>Saida</b>	<b>MCA</b>	<b>UMBB</b>	<b>ENCADREUR</b>
<b>LARID</b>	<b>Roza</b>	<b>MAA</b>	<b>UMBB</b>	<b>EXAMINATEUR</b>

**2021/2022**

## Remerciement

---

*Nos remerciements les plus sincères s'adressent à **Allah**, le tout puissant, qui a fait de nous ce que nous sommes aujourd'hui, nous à donner le courage et la santé pour achever ce travail.*

*Nous exprimons toute notre gratitude et nos vifs remerciements à notre promoteur Mme **TOUZOUIRT Saida** qui nous a honorés d'avoir accepté de diriger ce travail, merci pour vos recommandations, vos suggestions, votre disponibilité, votre confiance, vos précieux conseils et critiques constructives. Merci de nous avoir guidés avec patience et d'avoir consacré autant de temps et d'énergie pour la réalisation de ce mémoire, nous vous souhaitons santé et bonheur.*

*Nous remercions les membres de jury d'avoir accepté de juger ce travail*

*Nous remercions sincèrement Mr **BOURNISSA Hamid** chef du laboratoire de biochimie de la faculté de Technologie pour les efforts qu'il a déployés pour nous lors de nos manipulations.*

*Nous remercions tous les ingénieurs des différents laboratoires de la faculté de technologie qui nous ont aidés dans l'accomplissement de ce modeste travail.*

*Nous remercions aussi Mr **F.Saadi**, et Dr **A.Abdennouri**, laboratoire de chimie analytique, faculté de pharmacie **UMMTO**.*

*Nous remercions Mr **AKSAS** pour ses efforts visant à assurer la continuité et le succès de ce programme de master*

*Nous tenons vivement à remercier tous les enseignants rencontrés lors de notre cursus, pour les connaissances et le savoir qu'ils nous ont apportés.*

*Nous remercions tous ceux qui ont travaillé*

*à nos côtés et qui ont contribué à créer une ambiance agréable au laboratoire avec qui nous avons partagé les bonnes blagues et histoires drôles pendant les pauses café*

*A mon Dieu, le tout puissant qui m'a aidé à réaliser ce travail*

*Je dédie ce modeste travail et ma profonde gratitude*

*A mon père, tu m'as donné la vie et par ce travail j'espère te rendre honneur, il n'y a pas de mots pour exprimer les sentiments qui m'animent à ton égard saches seulement que le respect et l'admiration que je te porte sont infinis, puisse Dieu te bénir, te protéger et t'accorder une longue vie*

*A ma chère mère, tu m'as donné la vie, et par ce travail j'espère te rendre honneur tu es une femme exceptionnelle que j'admire vraiment, tu as eu peu et tu m'as toujours beaucoup donné, Dieu seul te rendra ce qui t'es dû, tout ce que je peux te dire c'est que je t'aime très fort, puisse Dieu te garder et te combler de ses grâces.*

*A mon frère Rafiq et mes sœurs Lamia et Sabrina, en reconnaissance de leur affection toujours constante, je vous souhaite une vie pleine de bonheur et de succès et que Dieu, le tout puissant, vous protège et vous garde.*

*A mon grand père et ma grand-mère, mes oncles et mes tantes, merci pour l'importance et l'aide que vous avez consacré pour moi.*

*A mes amis et mes camarades de promotion, des souvenirs et des moments agréables qui nous avons passé ensemble.*

*A tous ceux qui m'ont aidé dans la réalisation de ce mémoire, je vous souhaite une vie pleine de santé et de bonheur.*

*Lynda*

*Je Dédie humblement ce travail avec une grande fierté et comme geste de  
Gratitude*

*Aux deux êtres qui me sont les plus chers au monde mon père Abdelhamid  
et ma mère Saida à qui je dois le mérite d'être arrivée là, qu'ils trouvent ici  
l'expression de ma profonde gratitude et mon affection.*

*À mes frères Ayoub, Chouaib et Yaakoub et à mes sœurs.*

*Mon fiancée Abderrahim qui m'a soutenu tout au long du projet, et sa  
famille*

*À mes amis Lekcir Ahlem et Amour Abderrahim*

*À mes enseignants.*

**BELGHERBI Rokia**

*Je dédie ce modeste travail accompagné d'un profond amour :*

À LA PLUS CHÈRE MA MÈRE

*Aucune dédicace ne saurait être assez éloquente pour exprimer ce que tu mérites, pour tous les sacrifices que tu n'as cessé de me donner depuis ma naissance durant mon, enfance et même à l'âge adulte.*

À MON CHER PERE

*Rien au monde ne vaut les efforts que tu as fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être.*

*Recevez ce travail en signe de ma vive reconnaissance et ma profonde estime.*

À MES SŒURS ET MON FRÈRE

*A mes sœurs et mon frère, vous êtes ce que j'ai, après mes parents. Vous êtes ma force et mon encouragement. Vous êtes mes fidèles compagnons Dans les insomnies de cette vie mystérieuse.*

*Je vous aime.*

A MON GRAND-PÈRE ET MA GRAND-MÈRE

À MES ONCLES ET MA TANTE

AU MARI DE MA SŒUR

*Il n'ya pas de mots pour te décrire, ni la poésie ne te suffit. Tu es notre plus grande entité. Merci pour ce que tu as donné pour nous.*

À MES COPINES ET MAIS AMIES

*Pour leur amour, leur soutien et leurs encouragements*

*A mes camarades.*

*A tous ceux que j'aime.*

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction générale ..... 1

## I. Recherche bibliographique

1	Plantes colorantes .....	2
1.1.	<i>Lawsonia Inermis L.</i> (ou Henni).....	2
1.1.1.	Description botanique de <i>Lawsonia inermis</i> .....	2
1.1.2.	Classification .....	3
1.1.3.	Répartition géographique .....	3
1.1.4.	Composition chimique .....	4
1.1.5.	Usage de <i>Lawsonia inermis</i> en cosmétique .....	5
1.2.	<i>Matricaria Chamomilla L</i> (Camomille).....	5
1.2.1	Description botanique de <i>Matricaria Chamomilla L</i> .....	6
1.2.2.	Classification .....	6
1.2.3	Répartition géographique: .....	7
1.2.4	Composition chimique: .....	7
1.2.5.	Usage de <i>Matricaria Camomille</i> .....	7
1.3.	<i>Rubia Tinctorum</i> .....	7
1.3.1.	Description botanique de <i>Rubia Tinctorum</i> .....	8
1.3.2.	Classification .....	9
1.3.3.	Répartition géographique: .....	10
1.3.4.	Composition Chimique .....	10
1.3.5.	Usage de la <i>Rubia Tinctorum</i> .....	10
2.	Coloration des cheveux .....	11
2.1.	Structure des cheveux.....	11
1.2.	Bases colorantes des cheveux.....	11
1.3.	Teinture naturelle des cheveux .....	12
1.4.	Réaction de coloration (Réaction de Michael) .....	12
3.	Procédés d'extraction et de caractérisation des substances naturelles .....	13
3.1.	Procédés d'extraction .....	13

## Table des matières

3.1.1.	Méthode d'extraction par ultrason .....	14
3.1.2.	Méthodes d'extraction par Soxhlet .....	14
3.2.1.	Chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC) .....	14
3.2.2.	Spectroscopie UV-Visible .....	14

### II. Matériel et méthodes

1.	Matériel .....	16
1.1.	Matériel végétal.....	16
1.2.	Matériel de laboratoire .....	16
2.	Méthodes .....	17
2.1.	Etude ethnobotanique.....	17
2.2.	Préparation de la matière végétale.....	17
2.3.	Caractérisation des plantes .....	17
2.3.1.	Testes phytochimiques.....	17
2.3.2.	Caractérisation physicochimique des plantes .....	20
a)	Taux d'humidité.....	20
b)	Taux des cendres.....	20
c)	pH.....	20
d)	Indice d'acidité .....	20
e)	Détermination de la teneur en minéraux.....	21
2.4.	Extraction des substances actives .....	22
2.4.1.	Extraction de Lawsonia à partir de <i>Lawsonia Inermis L</i> .....	22
2.4.2.	Extraction de <i>Rubia tinctorum</i> et de <i>Matricaria Chamomilla</i> par Soxhlet ....	23
2.5.	Caractérisation des extraits.....	23
2.5.1.	Dosage des polyphénols totaux par spectrophotométrie.....	23
a)	Extraction des polyphénols totaux des plantes étudiées .....	23
2.5.2.	Dosage des polyphénols par HPLC .....	24
2.5.3.	Dosage des flavonoïdes totaux .....	24
2.5.4.	Evaluation de pouvoir antioxydant.....	25
2.6.	Application des teintures naturelles sur les mèches.....	25

### III. Résultats et discussion

1	Résultats de l'enquête ethnobotanique .....	27
2	Screening phytochimique .....	28
3	Caractéristiques physico-chimiques .....	29

## Table des matières

4	Evaluation du rendement d'extraction.....	30
5	Caractérisation des extraits.....	30
5.1	Dosage des polyphénols totaux par spectrophotométrie.....	30
5.2	Dosage des polyphénols totaux par HPLC.....	31
5.3	Dosage des flavonoïdes.....	33
6	Evaluation de l'activité anti-oxydante .....	34
7	Résultats d'application des teintures naturelles .....	37
7.1	Application de Lawsonia seule sur les maiches .....	37
7.2	Résultats de l'application des mélanges de Lawsonia / Rubia sur les maiches.....	38
7.3	Résultats de l'application des mélanges de Lawsonia / Camomille sur les méches .....	39
	Conclusion.....	42
	Référence	
	Annexes	

## Liste des abréviations

---

**JC** : jésus christ

**HPLC** : chromatographie en phase liquide Haute performance

**UV** : ultra-violet

**AA** : acide ascorbique

**P** : poids

**EST** : extrait sec total du produit

**C°** : degré Celsius

**nm** : nanomètre

**IA** : indice d'acidité

**µL** : micro litre

**pH** : potentiel d'hydrogène

**QE** : quercitine

**FL** : flavonoïde

**Ag** : L'acide gallique

## Liste des figures

---

Figure 1 : différentes parties de la plante <i>Lawsonia inermis</i> : 1.arbuste ; 2.feuilles ; 3.fleurs ; 4.graines (2013) .....	3
Figure 2 : <i>Lawsonia inermis</i> .L.....	3
Figure 3 :Répartition géographique et aire de plantation de Lawsonia.(Walid 2019).....	4
Figure 4 : Plante <i>Matricaria Chamomilla L.</i> , 1:fleur; 2: feuilles .....	6
Figure 5 : <i>Matricaria Camomille</i> .....	6
Figure 6 : Différentes partie de la plante de <i>Rubia Tinctorum</i> : (1) Feuille ; (2) Fleur ; (3) Rhizome ; (4) Graines.....	9
Figure 7 : <i>Rubia Tinctorum</i> .L.....	9
Figure 8 : structure du noyau anthraquinone (Brunett A. R. 1968).....	10
Figure 9 : Forme de cheveu .....	11
Figure 21 : Chromatogramme par HPLC de l'étalon .....	32
Figure 22 : Chromatogramme par HPLC des extraits de L1, L2 et L3 .....	33
Figure 23 : Chromatogramme par HPLC des extraits de <i>Rubia</i> et <i>Camomille</i> .....	33

## Liste des tableaux

---

Tableau 1:Classification botanique de la plante <i>Lawsonia inermis</i> .....	3
Tableau 2: Principaux constituants chimiques de <i>Lawsonia inermis</i> L. ....	4
Tableau 3 : classification botanique de <i>Matricaria Chamomilla L.</i> .....	6
<b>Tableau 4:</b> Classification botanique de <i>Rubia Tinctorum</i> .....	9
<b>Tableau 5:</b> Facteurs responsables de la coloration naturelle des cheveux .....	12
Tableau 10: Résultats du test phytochimique pour les trois plantes étudiées. ....	28
Tableau 11 : Caractéristique physico-chimique des plantes étudiées.....	29
Tableau 12 : Rendement d'extraction .....	30
Tableau 13: Concentrations des polyphénols dans les plantes.....	31
Tableau 14: Résultats de concentration des flavonoïdes dans les différentes plantes. ....	34
Tableau 15: Résultats de l'activité antioxydant .....	36

*Introduction*  
*Générale*

Depuis des siècles, l'être humain utilise les colorants naturels qui sont principalement des extraits de plantes tinctoriales. L'usage de ces plantes ne se limite pas à la coloration des textiles mais aussi à la teinture de la peau et des cheveux.

La coloration des cheveux en utilisant les pigments végétaux était toujours une tradition pour les femmes et ceci depuis l'antiquité.

En 1907 apparaît la coloration chimique, laissant de côté les colorations naturelles. En effet la coloration chimique agit d'une façon néfaste puisque le composant chimique présenté dans le produit de coloration supprime les pigments naturels des cheveux [5].

Plusieurs applications de cette teinture chimique donnent des cheveux abîmés et fragile, et la chevelure perd son élasticité et sa brillance.

Plus grave que ça, les composants chimiques ont la capacité de pénétrer dans les pores de la peau, en provoquant la chute des cheveux, et aussi des maladies cancéreuses.

Par contre la coloration végétale en plus de la gamme de coloration qu'elle offre, elle peut être considérée comme un soin pour les cheveux.

Plusieurs plantes sont utilisées dans ce sens, principalement *Lawsonia inermis* ou Henni. Cette plante est très abondante en Algérie et dans différentes régions ce qui donne une variété plus étroite selon les caractéristiques géographiques de chaque région.

L'objectif de cette étude est la caractérisation de *Lawsonia inermis* récolté dans trois wilaya de l'Algérie pour la préparation d'une teinture naturelle en combinaison avec deux autres plantes colorantes locales, la *Rubia tinctorum* et la *Matricaria Chamomilla L.*

Le manuscrit est constitué de trois chapitres, le premier chapitre est consacré à la recherche bibliographique sur les plantes étudiées, et la structure des cheveux. Le second chapitre est réservé à la méthodologie suivie, tandis que le dernier chapitre exprime les résultats obtenus.

*Chapitre 1*  
*Recherche bibliographique*

## 1 Plantes colorantes

Les plantes colorantes sont appelés plantes tinctoriales. Par définition, une plante tinctoriale est une plante dont certaines parties peuvent servir à préparer des colorants et des teintures. Parmi les plantes tinctoriales les plus connues, on trouve *Lawsonia inermis* (Henni) et *Rubia Tinctorum* (Garance) pour la coloration rouge ou brun, ainsi que *Matricaria Chamomilla L* (Camomille) pour la couleur jaune.

### 1.1. *Lawsonia Inermis L.* (ou Henni)

*Lawsonia Inermis* est une plante de la famille des lythracées. C'est une famille de plantes à fleurs qui comprend 31 genres répartis en 620 espèces différentes répertoriées. Ce sont des arbres, des arbustes, mais principalement des herbes pérennes que l'on trouve dans les régions tropicales et tempérées du globe. Les feuilles des Lythracées sont simples et disposées en paires qui se font face. Les fleurs ont 4 à 8 pétales qui semblent froissés. Elles sont bisexuelles et symétriques. Le fruit produit est une capsule sèche, parfois une baie [6]

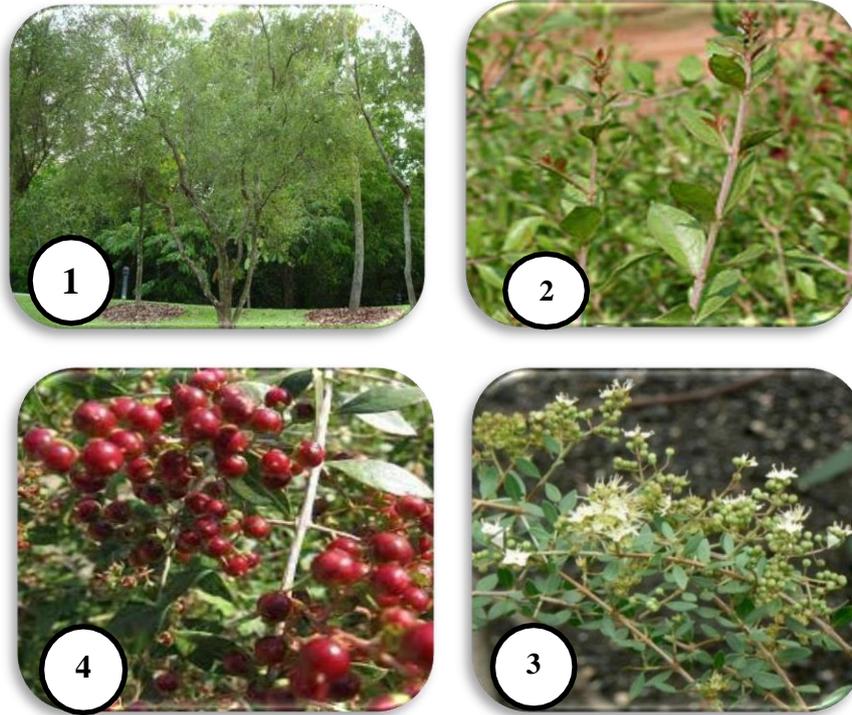
#### 1.1.1. Description botanique de *Lawsonia inermis*:

*Lawsonia inermis* L. à l'aspect d'un arbuste épineux, de la famille *Lythracée*. Ce sont des arbres ou des herbes vivaces ou annuelles dont certaines sont aquatiques. La plante *Lawsonia inermis* peut atteindre 5 à 6 m de hauteur, elle est cultivée dans les zones arides et semis aride à des températures élevées entre 35° et 45°C.

Les feuilles de *Lawsonia* sont simples et opposées, entières dépourvues des stipules. Leur taille est très variable et dépend des apports d'eau. Les feuilles desséchées sont légèrement chiffonnées, de 2 à 4 cm de longueur, glabres, entières. Les feuilles sont subsessiles à limbe elliptique, ovale aigu, lancéolé et à bords révolutes sur la face inférieure, terminés par une petite pointe. Les quatre ou cinq nervures secondaires se rejoignent à l'extrémité en arcs successifs, à une faible distance du bord.[7]

Les fleurs sont blanches avec une odeur douce et intense, et elles ont quatre sépales. Les pétales sont obviés.

Les fruits sont de petites capsules brunâtres de 4 à 8 mm de diamètre et s'ouvrent irrégulièrement en quatre fentes[8]. Les photos des différentes parties sont représentées par la figure 1.



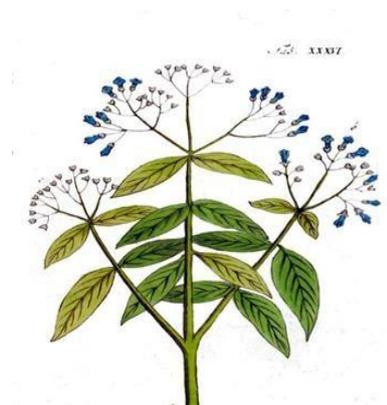
**Figure 1** : différentes parties de la plante *Lawsonia inermis* : 1.arbuste ; 2.feuilles ; 3.fleurs ; 4.graines [9]

### 1.1.2. Classification :

La classification botanique de la plante *Lawsonia inermis* est donnée dans le tableau 1[10]

**Tableau 1:**Classification botanique de la plante *Lawsonia inermis*

<b>Règne</b>	Plante
<b>Embranchement</b>	Phanerogames
<b>S/Embranchement</b>	Angiospermes
<b>Super division</b>	Embryophyta
<b>Division</b>	Trachéophyte
<b>Classe</b>	Magnoliopsida
<b>Ordre</b>	Myrtale
<b>Famille</b>	Lythracéae
<b>Genre</b>	Lawsonia
<b>Espèce</b>	Lawsonia inermis



**Figure 2** : *Lawsonia inermis*.L

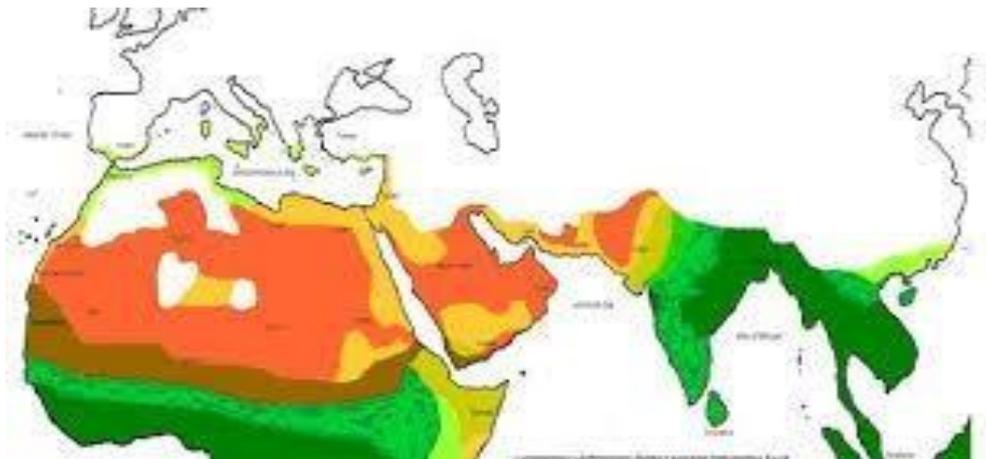
### 1.1.3. Répartition géographique :

*Lawsonia inermis* L. originaire du sud de l'Iran et de la Mésopotamie 3000 – 1500 avant JC. Elle pousse dans les savanes tropicale et les zones arides tropicale et subtropicale[11]. Il est cultivé essentiellement dans les altitudes entre 15° et 25 ° nord et sud de l'Afrique. Sa

## Chapitre 1: Recherche Bibliographique

production commerciale se limite à quelques endroits en Inde, Pakistan, Iran, en Afrique du Nord (Egypte, Libye, Niger, Soudan, Algérie, Tunisie, Maroc, Mali, Sénégal)[12]. (Figure 3)

En Algérie la culture de cette plante est répartie dans les zones tropicales : Adrar, Beskra, Oued Souf, et Béchar.



**Figure 3 :**Répartition géographique et aire de plantation de Lawsonia.[13]

### 1.1.4. Composition chimique :

Les feuilles de *Lawsonia inermis* est la partie la plus utilisée en cosmétologie et comme plante médicinale[8], elles sont composées de plusieurs substance actives(voir tableau 2)

La principale substance active c'est de « Lawsonsone»: 2hydroxy-1 4-naphtoquinon de formule  $C_{10} H_6 O_3$  , elle peut atteindre une teneur d'environ 2.5%.[14]

**Tableau 2:** Principaux constituants chimiques de *Lawsonia inermis*L [15]

Constituants chimique principaux	Autres composants
Dérivés phénoliques (acide gallique)	Substance minérales
Xanthone	Eau
Coumarines	Cellulose
Dérivé flavonoïde	Tanins
Lawsonsone (naphtoquinones)	Sucres
Terpénoides	Lipides
	Mucilage
	Mannitol
	Oligo-élément

### 1.1.5. Usage de *Lawsonia inermis* en cosmétique:

*Lawsonia inermis* est connue par sa diverse utilisation en cosmétologie ou en médecine populaire. Elle entre dans la coloration végétal, les feuilles riche en Lawson qui permet de donner la couleur rouge ou jaune, traditionnellement utilisée pour colorer les surface kératiniques[16] comme les mains, les pieds et les cheveux à certaines occasions, comme les mariages et les fêtes religieuses[17].

Un extrait à l'eau chaude de *Lawsonia inermis* était utilisé par les Égyptiens pour donner une teinte rouge orangée aux cheveux.

Dans le domaine pharmaceutique, *L. inermis* présente une variété d'activités biologique telles que l'activité antimicrobienne, activités anti-inflammatoire [18]. La meilleure qualité de *Lawsonia* dans le monde est produite au Rajasthan au nord-est de l'Inde[19]. Elle a marqué une place dans la médecine traditionnelle car les feuilles sont appliquées comme traitement de plusieurs maladies dermatologique [20] tel que les feuilles qui sont utilisé sous forme de pate contre les brulures [21].

### 1.2. *Matricaria Chamomilla* L (Camomille) :

*Matricaria Chamomilla* L. fait partie de la famille des Astéracées.

Le mot «aster» du grec signifie «l'étoile» en référence à la forme des fleurs [22]. La famille des Astéracées est la famille la plus large des plantes à fleurs, elle comprend près de 13000 espèces réparties en 1500 genres formant approximativement 10% de la flore du monde [23].

Les Astéracées ont la caractéristique commune d'avoir des fleurs réunies en capitules, c'est-à-dire serrées les unes à côté des autres, sans pédoncules, placées sur l'extrémité d'un rameau ou d'une tige et entourées d'une structure formée par des bractées florales. Les fruits sont des akènes, souvent couronnés d'une aigrette de soies appelée « Pappus » qui favorise la dispersion des graines par le vent [24].

Les racines des Astéracées sont d'habitude pivotantes et fibreuses. Les tiges sont généralement droites, mais tombent quelque fois au fait de s'élever. Les feuilles sont souvent alternes, et parfois en face, ou verticillées [25].

## 1.2.1. Description botanique de *Matricaria Chamomilla L.*:

La Matricaire est une plante herbacée annuelle, aromatique, à odeur prononcée de camomille et à saveur amère [6] ; mesurant de 50 centimètres de hauteur, à tige dressée, rameuse. Les feuilles, alternes, épaisses, sont très divisées (bi ou tri pennées), en lanières [26].

Les feuilles composées sont toutes pétiolées et leur limbe est profondément divisé en segments latéraux (4 à 12) avec un segment terminal. Tous les segments sont divisés ou dentés. [27]

Les fleurs libres en capitules, sans pédoncule, sont placées sur l'extrémité d'une tige, entourée d'une collerette de bractées simulant un calice [28]



Figure 4 : Plante *Matricaria Chamomilla L.*, 1: fleur; 2: feuilles

## 1.2.2. Classification :

Tableau 3 : classification botanique de *Matricaria Chamomilla L.* [29].

Règne	Plante
Embranchement	Spermatophytes
Sous-embranchement	Dicotylédones
Classe	Dicotylédonée
Ordre	Astrale
Famille	Astéracée
Genre	Matricaria
Espèce	Matricaria chamomilla L



Figure 5 : *Matricaria Camomille*

### 1.2.3. Répartition géographique:

Originnaire de l'est de l'Europe et du Moyen-Orient, la camomille est répandue partout en Europe. Elle pousse aussi en Inde, en Amérique du Nord et en Australie. Elle est particulièrement commune en Hongrie, en Croatie, ainsi que dans le nord et l'est de l'Afrique. En Algérie, elle se trouve à l'état sauvage dans les zones vallonnées, désirant les sols sablonneux secs, les friches et les remblais. Elle est très abondante sur les côtes orientales de Bejaia, Tizi Ouzou, et Jijel.[30]

### 1.2.4. Composition chimique:

Plus de 120 composants ont été identifiés dans les fleurs de la petite camomille [31]. Les capitules secs renferment 0.3 à 1.5 % d'une huile essentielle bleue foncée. On y trouve aussi des flavonoïdes; des polyènescyclinées ; un mucilage uronique ; des principes amers ; de la choline ; des acides gras; desphytostérols et des matières minérales [26].

Les polyphénols sont les constituants les plus abondants dans cette plante, représentés par des coumarines (couvrent 0,1% des composants totaux) et des flavonoïdes.[32]

### 1.2.5. Usage de *Matricaria Chamomille* :

*Matricaria Chamomilla* L. l'une des plantes les plus utilisées au monde depuis des années dans le domaine médicinale et pharmaceutique parfumerie aromathérapie, cosmétique, [33]. Des recherches récentes montrent que la camomille a une teneur en composés phénoliques qui peut avoir de nombreux effets biologiques et pharmacologiques, tels que l'activité antioxydante, anti-inflammatoire, antimicrobienne, anticancéreuse, effets antispasmodiques, et pourrait améliorer l'état glycémique du diabète sucré aussi diminuer le stress oxydatif dans le diabète sucré [34], les fleurs sont préparées par infusion avec de l'eau pour faire un thé, aussi elle peut être un traitement efficace pour soulager les symptômes émotionnels liés aux cycles menstruels, nous savons que la camomille est utilisée aussi pour la teinture des cheveux, la couleur des cheveux dépend de sa couleur d'origine ce qui donne un look plus naturel et éclairci.[35]

### 1.3. *Rubia Tinctorum* :

La famille des *Rubiaceae* est l'une des familles les plus vastes parmi les plantes à fleurs, la quatrième après les *Asteraceae*, les *Orchidaceae* et les *Fabaceae*.

Ce sont des arbres, des arbustes, des buissons, des lianes ou des plantes herbacées largement répandus. Elle comprend plus de 10000 espèces réparties en 600 genres. La plupart des espèces se rencontrent dans les régions tropicales et subtropicales, mais on rencontre aussi des Rubiacées dans les régions tempérées et même jusque près des pôles. Les Rubiacées vivent dans tous les biotopes, même dans les déserts.

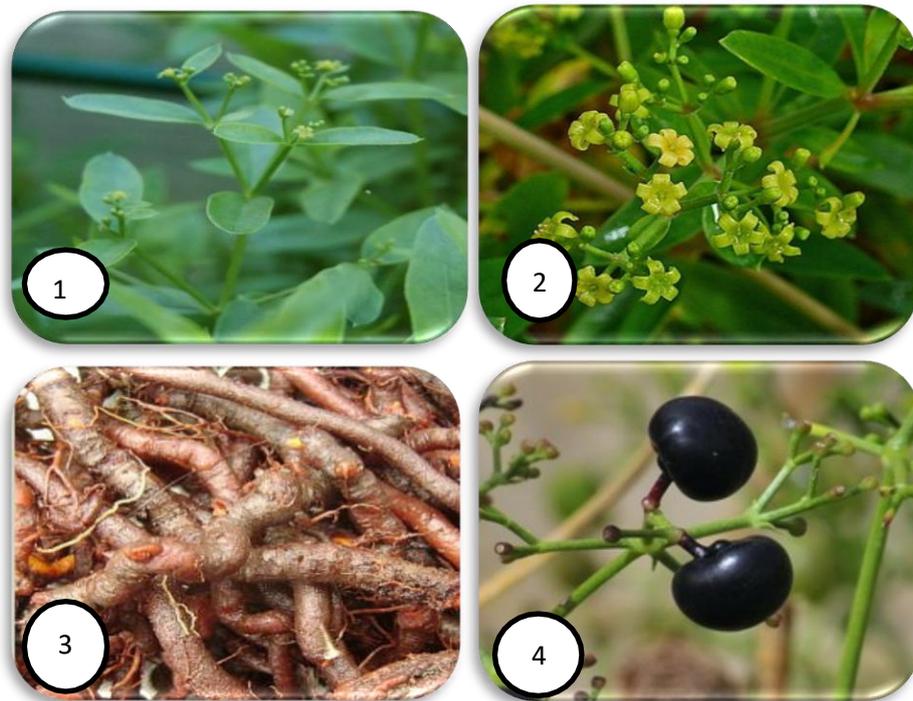
Elles sont nombreuses dans les forêts tropicales, aussi bien humides que sèches où elles vivent surtout dans le sous-bois. Les savanes sont moins riches en Rubiacées et ce sont surtout les formes herbacées qui y sont présentes. Un caractère distinctif important est fourni par la disposition des feuilles. Les Rubiacées ont les feuilles opposées décussées, les feuilles elles-mêmes sont simples et à marge entière.

### **1.3.1. Description botanique de *Rubia Tinctorum* :**

Les feuilles sont assez grandes, lancéolées, annuelles, minces, caduques, à bords minces, avec un réseau de nervures secondaires très saillant en dessous. Apparemment verticillées, munies sur les bords et sur la nervure principale de petits aiguillons qui permettent à la plante de se soutenir en s'appuyant sur les autres plantes mais aussi de s'accrocher aux vêtements, ce qui permet de la reconnaître. [36]

Les fleurs. Sont jaune-vif en cymes axillaires et terminales. Elles s'épanouissent en début d'été (juin-juillet) et portent 4 à 5 pétales soudées à leur base. La corolle est à lobes ovales-lancéolés, non aristés. Les anthères sont linéaires-oblongues et les stigmates ovales en massue. Le fruit est charnu, c'est une baie de la taille d'un pois, noir à maturité.

Le rhizome peut atteindre 80 cm de long et les racines sont rampantes et contiennent une matière colorante rouge : l'alizarine, les anthraquinones à effet laxatif et la Purpurine.[37]



**Figure 6 :** Différentes partie de la plante de *Rubia Tinctorum* : (1) Feuille ; (2) Fleur ; (3) Rhizome ; (4) Graines.

### 1.3.2. Classification

**Tableau 4:** Classification botanique de *Rubia Tinctorum*[38]

<b>Classe</b>	Magnoliopsida
<b>Ordre</b>	Gentianales
<b>Famille</b>	Rubiaceé
<b>Sous-famille</b>	Rubioideae
<b>Tribu</b>	Rubiaceé
<b>Genre</b>	Rubia



**Figure 7 :** *Rubia Tinctorum*.L

### 1.3.3. Répartition géographique:

Cette espèce est originaire d'Asie occidentale et centrale : Turquie, Syrie, Liban, Jordanie, Irak, Iran, Tadjikistan, Turkménistan, Ouzbékistan et d'Europe de l'Est : Russie (Crimée), Ukraine, ex-Yougoslavie. On la retrouve, dans la péninsule ibérique, dans le bassin Méditerranéen oriental, cultivée en France surtout dans le midi et elle existe en général en Europe méridionale. On la retrouve aussi en Afrique septentrionale, Maroc (région de Midelt)[39] et Algérie (région de Tizi Ouzou,)[40]

### 1.3.4. Composition Chimique :

Les colorants rouges présents dans le parenchyme des racines de garance ont une origine biosynthétique commune. Ils sont constitués d'une structure chimique de base correspondant au noyau anthracène-9,10-dione ou anthraquinone.

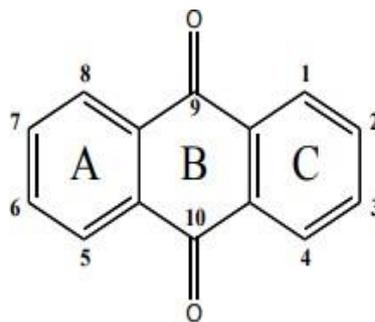


Figure 8 : structure du noyau anthraquinone [1]

Les principaux composants de *Rubia Tinctorum* sont les anthraquinones, les triterpénoïdes et les hexapeptides cycliques.[41] avec l'alizarine et le purpurine les principaux colorants naturelle [42]

### 1.3.5. Usage de la *Rubia Tinctorum* :

*Rubia Tinctorum* est une plantes médicinale traditionnelle utilisée pour guérir les maladies vasculaires depuis l'Antiquité en Chine, elle favorise la circulation sanguine [41]. La plante a été largement étudiée pour ses activités biologique et ses potentiels thérapeutique tels que ses action anti-inflammatoires, antioxydants et antibactériennes.[43]

La garance *Rubia tinctorum* L. est utilisée comme colorant naturelle principalement comme teinture textile depuis plus de 2000 ans [37] ;l'un des colorants les plus anciens utilisés à travers l'histoire est le mélange de composés extraits de la plante de garance pour

obtenir la coloration rouge orangé[42]. La garance dans la teinture rouge était bien connue des teinturiers des époques égyptienne, grecque et romaine [44]

### 2. Coloration des cheveux

#### 1.1. Structure des cheveux :

Le cheveu est un poil très particulier, ayant pour fonction essentielle de protéger la tête.

Le cheveu est composé à 95% de kératine, protéine fibreuse et hélicoïde (en forme d'hélice), entrant dans la composition de la peau et de tous les phanères (poils, ongles...).

Synthétisée par les kératinocytes, la kératine est insoluble dans l'eau assurant ainsi l'imperméabilité et la protection aux cheveux.

18 acide aminé entrent dans la composition du cheveu, tels que la proline, la thréonine, la leucine ou encore l'arginine, la kératine est tout particulièrement riche en cystéine (variété d'acide aminé sulfuré) qui forment des ponts disulfures entre les molécules, conférant sa rigidité et sa résistance à l'ensemble.[45]

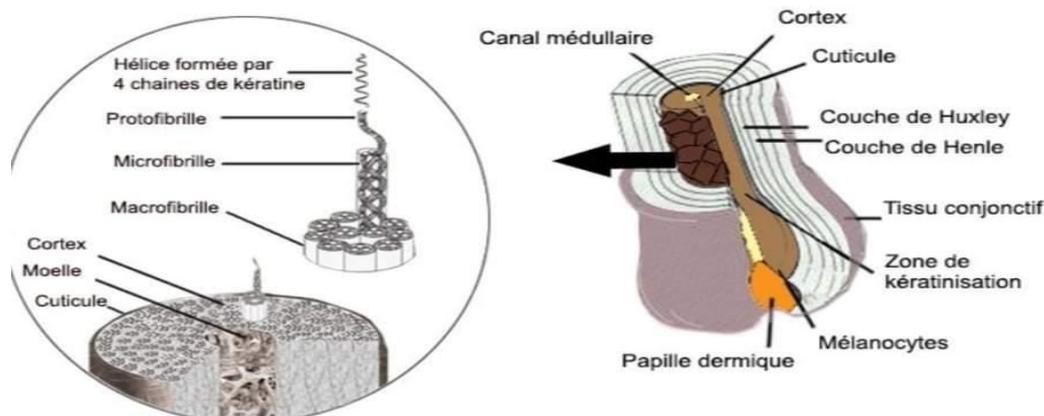


Figure 9 : Forme de cheveu

#### 1.2. Bases colorantes des cheveux :

La couleur naturelle des cheveux résulte de la présence d'un pigment brun naturel, la mélanine, également présente dans la peau, les yeux, le cerveau, et l'oreille interne. Elle est produite par les mélanocytes dans le follicule pileux. Elle est ensuite transmise aux kératinocytes alors que le cheveu est en formation. Ainsi, dès sa naissance, le cheveu est coloré, bien que la gamme de couleurs naturelle des cheveux soit très large, la mélanine ne représente que 1% de la composition totale du cheveu. Un mélanocyte produit essentiellement deux types de mélanine : l'eumélanine et la phéomélanine dont les

couleurs s'étendent respectivement du brun - rouge au noir foncé et du jaune au rouge. Ce sont la proportion de ces deux mélanines qui déterminent la couleur du cheveu. Plus il y a d'eumélanine, plus le cheveu est noir (Tableau 5). La taille et la forme des grains de pigments, leur répartition et leur structure cristalline jouent également un rôle dans la gamme étendue des couleurs naturelles de cheveu

**Tableau 5:** Facteurs responsables de la coloration naturelle des cheveux [48]

Rapport (Eumélanine/ Phéomélanine)	Couleur des cheveux
Elevé (Taux d'Eumélanine élevé)	Marron ou Noir
Bas (Taux de Phéomélanine élevé)	Rouge ou jaune
Nul (Absence de mélanine)	Blanc

### 1.3. Teinture naturelle des cheveux :

La teinture des cheveux représente un aspect important de la cosmétologie pour les femmes et même pour les hommes. Les teintures classiques contiennent des substances chimiques assez gênantes pour la santé. L'alternative idéale pour lutter contre ces effets nocifs est de les remplacer par des teintures naturelles d'origine végétale.[46]

Par définition, la coloration naturelle implique et désigne tous les colorants dérivés ou extraits de la nature, d'origine végétale, ou animale, utilisé pour la coloration d'une variété de matières textiles [47].

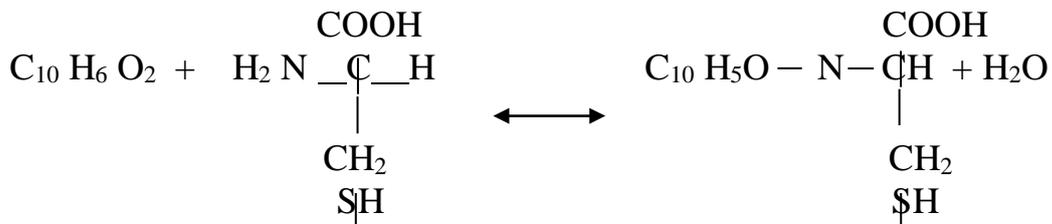
En cosmétologie, la coloration naturelle des cheveux et des mains est souvent d'origine végétale. La plante la plus utilisée dans ce domaine est la *Lawsonia* ou Henni.[48] Elle était utilisée comme signe de richesse dans les familles nobles et surtout pour la préparation de la mariée. Plus tard, la plante a été migrée vers l'Asie du Sud, en particulier en Inde et en Égypte, où les pharaons l'ont utilisé comme agent cosmétique pour se teindre les pieds et les mains. Ils utilisaient également cette plante comme parfum mélangé avec des huiles d'autres plantes. Après l'ère de l'Islam, la plante devenait largement utilisée au Moyen-Orient. [4] Le prophète Mohamed (paix et prière sur lui) utilise *Lawsonia* pour colorer sa barbe.

### 1.4. Réaction de coloration (Réaction de Michael) :

L'obtention de la coloration des cheveux résulte de la réaction chimique entre le Lawson et la kératine. Cette réaction est appelée réaction de Michael (Figure 10).

Lawsonie ou 2-hydroxy 1,4 Naphthoquinone est la molécule responsable du pouvoir colorant des feuilles de Lawsonia.

Le pigment de lawsonie soit en contact avec la kératine de cheveu puis il se fait une liaison entre le soufre de la kératine et le carbone de lawsonie et encore une liaison entre le carbone de lawsonie et le carbone de la kératine.

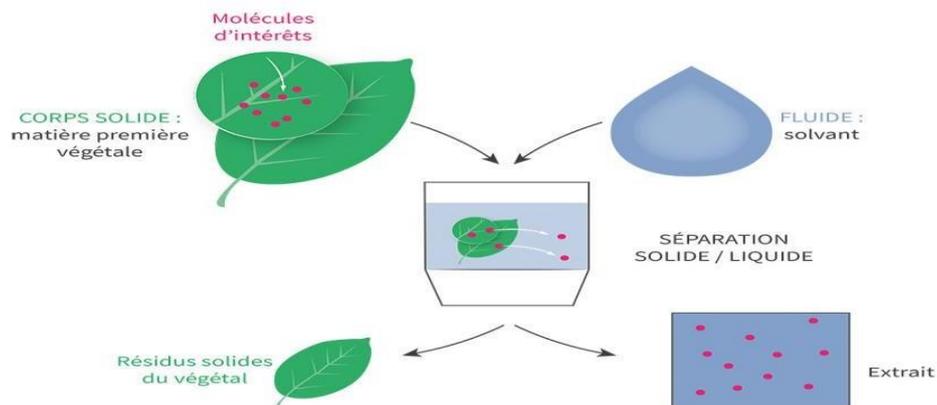


**Figure 10 :** Réaction entre la kératine et Lawsonie

### 3. Procédés d'extraction et de caractérisation des substances naturelles

#### 3.1. Procédés d'extraction

L'extraction végétale est un procédé visant à extraire certains constituants présents dans les plantes. C'est une opération de séparation solide/liquide : un corps solide (le végétal) est mis en contact d'un fluide (le solvant). Les composés d'intérêts végétaux sont alors solubilisés dans le solvant. La solution ainsi obtenue est l'extrait recherché.[49]



**Figure11 :** Principe de l'extraction végétale

### 3.1.1. Méthode d'extraction par ultrason :

Cette technique d'extraction est utilisée afin de permettre la réduction du temps d'extraction, la consommation de solvant et de l'énergie, d'augmenter les rendements d'extraction et de préserver les molécules thermosensibles.

### 3.1.2. Méthodes d'extraction par Soxhlet :

L'extraction au Soxhlet est une méthode d'extraction en continue ; l'avantage de ce type d'extraction est que le solvant condensé, s'accumule dans un réservoir à siphon, ce qui augmente la durée de contact entre le solvant et le produit à extraire. Quand le solvant atteint un certain niveau, il amorce le siphon et retourne dans le ballon en entraînant la substance dissout.[2]

## 3.2. Procédés de caractérisation

Il existe plusieurs méthodes de caractérisation afin d'identifier, et d'analyser les extraits quantitativement et qualitativement.

Des méthodes classiques et simple peuvent être utilisées comme le screening phytochimique, la caractérisation physicochimique (le taux d'humidité, le cendre, le PH, l'acidité...) malgré qu'elles ne sont pas précises.

D'autres méthodes plus précises sont indispensables à savoir la chromatographie et la spectrométrie.

### 3.2.1. Chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC)

La chromatographie est une méthode de séparation analytique ou de purification d'une substance d'un mélange, elle permet de réaliser des analyses. La chromatographie en phase liquide se faisait sur des colonnes en verre qui pompe un échantillon dissous dans un solvant appelé phase mobile traverse une colonne remplie et appelé phase stationnaire.[50]

### 3.2.2. Spectroscopie UV-Visible

La spectroscopie ultraviolet-visible ou spectrométrie ultraviolet-visible est une technique mettant en jeu les photons dont les longueurs d'onde sont dans le domaine de l'ultraviolet (200 nm – 400 nm), du visible (400 nm – 750 nm) ou du proche infrarouge (750 nm -1 400 nm). Soumis à un rayonnement dans cette gamme de longueurs d'onde, les molécules, les ions ou les complexes sont susceptibles de subir une ou plusieurs transitions électroniques. Les substrats analysés sont le plus souvent en solution, mais peuvent également être en phase gazeuse et plus rarement à l'état solide. Le spectre électronique est la fonction qui

## Chapitre 1: Recherche Bibliographique

---

relie l'intensité lumineuse absorbée par l'échantillon analysé en fonction de la longueur d'onde [51]

# **Chapitre 2 :**

# **Matériel et Méthodes**

Ce chapitre est présenté afin de mettre en évidence l'expérimentation effectuée dans cette étude. Il englobe trois parties, la première est basée sur la présentation de matière végétale et du matériel utilisé, la seconde consacrée aux procédés l'extraction et les différentes techniques d'identification et de caractérisation mis en œuvre. La troisième partie résume les étapes de l'application adaptée pour l'étude cosmétologique des plantes.

### 1. Matériel

#### 1.1. Matériel végétal :

La matière végétale utilisée dans notre étude est constituée de trois plantes locales. Les feuilles de *Lawsonia inermis* recueillies de trois régions de l'Algérie, Khenchela (1200 m d'altitude), OuadSouf(Nord-est du Sahara à 84 m d'altitude), et Biskra exactement à Zribet El Oued (48 m d'altitude). La période de récolte est l'automne 2022.

Les fleurs de Camomille et les rhizomes de Rubia sont recueillies au niveau de la région de Timezrit, wilaya de Boumerdes (747 m d'altitude),

#### 1.2. Matériel de laboratoire :

Le matériel de laboratoire ainsi que les réactifs chimiques utilisés sont présentés dans le tableau 6:

**Tableau 6:** Matériel et réactifs utilisés

Equipement	Marque	Réactif	Marque
Balance	Adventurer OHAVS Kern AI 5220-4N	Ethanol	Biochem
Rota vapeur	Buchi / heidolph	Chloroforme	Merck
Agitateur	Velpscientifica	Chlorure d'aluminium	Reachim
Plaqua chauffante	Velpscientifica	Chlorure de fer	Labosi
Four à moufle	Nuve MF 120	Acide sulfurique	Biochem
Bain marie	Memmert	Hydroxyde de potassium	Honeywel,
Etuve	MF 120 ulive	Hydroxyde d'Ammoniaque	Merck
pH mètre	Wtwseries (inolab)	n-Hexane	Emplura
Bain ultrason	FungiLab VE105FD	Soude	Specilab
Spectrophotomètre	T90+UV/VIS	Iodate de potassium	Biochem
Broyeur	IKA-WERKE M20	Chlorure de mercure	Scharlau
<b>Verrerie</b>		Folin-ciocalteu	
Pipette et Fioles	Ballon à fond rond	Soxhlet	Carbonate de sodium
Erlenmeyer	Tubes à essais	Eprouvette	Nitrate de sodium

## 2. Méthodes :

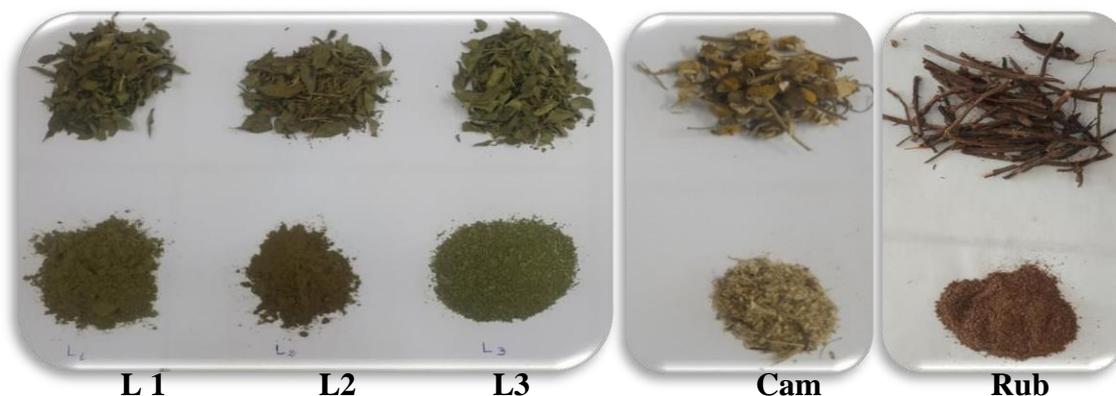
### 2.1. Etude ethnobotanique :

Une enquête ethnobotanique a été réalisée sur une population de 100 personnes de cinq wilayas différentes Boumerdes, Alger, Tizi-Ouzou, Biskra, et El-Oued. Un questionnaire (Annexe 1) est rempli en se rapprochant des vieillards des villages et des herboristes.

### 2.2. Préparation de la matière végétale :

Les feuilles de *Lawsonia inermis*, les racines de *Rubia tinctorum*, les fleurs de *Matricaria Chamomilla* ont été cueillies, nettoyées et débarrassées de la poussière et d'autres impuretés, puis séchées à l'ombre et dans un endroit bien aéré, à l'abri de l'humidité et à une température ambiante pendant 15 jours pour mieux conserver les molécules sensibles à la chaleur et à la lumière.

Après séchage, les feuilles, les fleurs et les rhizomes ont été broyées à l'aide d'un broyeur jusqu'à l'obtention d'une poudre fine, la poudre ainsi obtenue, est utilisée pour la préparation des solutions d'identifications et pour l'extraction.



**Figure 12** : Présentation des différentes plantes utilisées. Lawsonia: (L1) Khenchela, (L2) Oued Souf, (L3) Zribet El Oued, Camomille (Cam), Rubia (Rub).

### 2.3. Caractérisation des plantes :

#### 2.3.1. Testes phytochimiques :

Le test phytochimique consiste à détecter de façon qualitative les principales familles de produits naturels qui peuvent se trouver dans un échantillon végétal. Dans ce travail, nous allons identifier les différents métabolites secondaires selon les protocoles validés par N'Guessan et al.[52] pour les Flavonoïde, Alcaloïdes, Tanins, Saponoside, Polyphénol, Terpénoides. Et par Khan et al.[53] pour l'antraquinone et quinone. (Voir figure 13)

- **Préparation des extraits:**

10 g de poudre de matière végétale sont bouillies dans 100ml d'eau distillé pendant 15 mn, après refroidissement, le mélange est filtré afin de récupérer le filtrat [54]

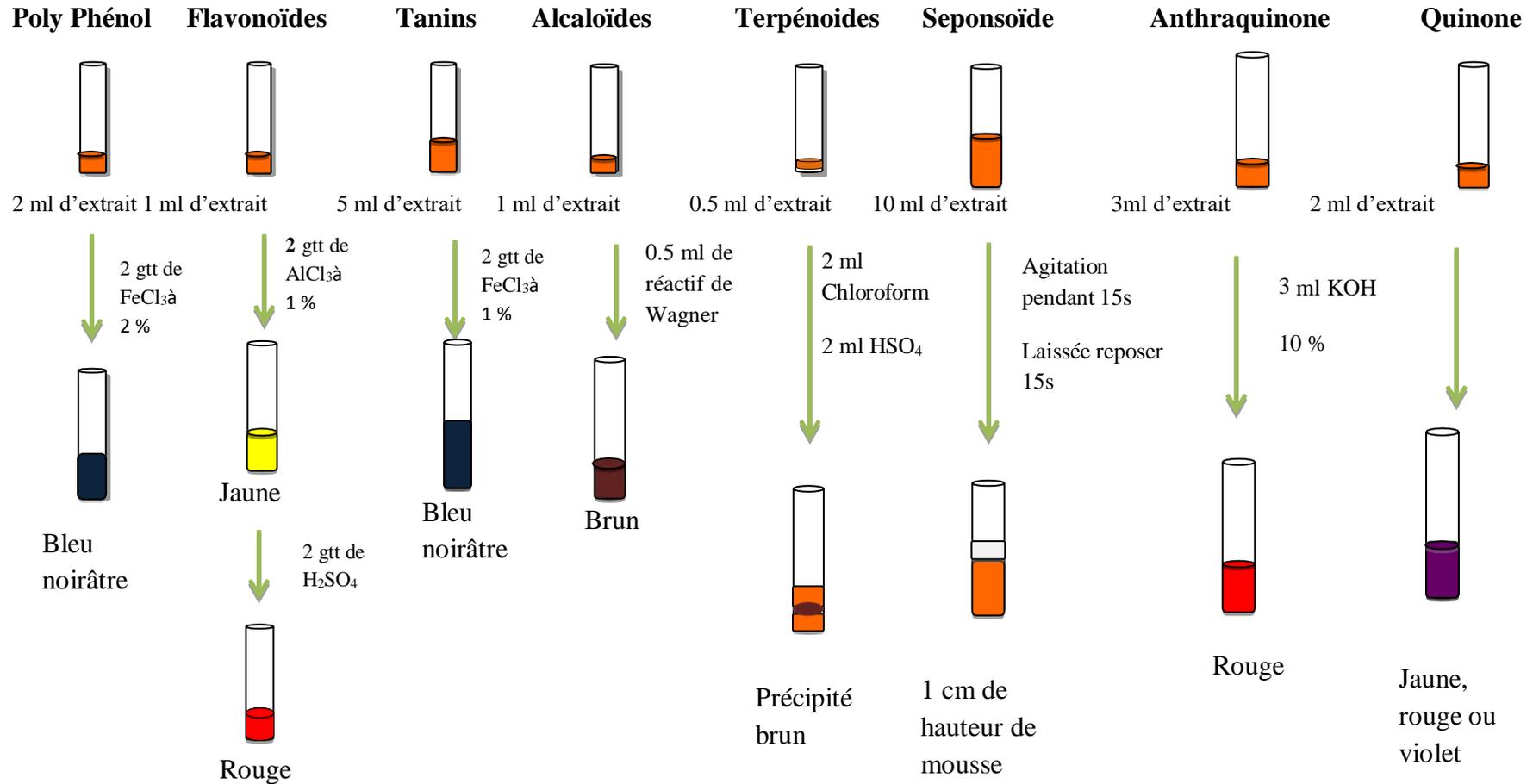


Figure13 : Réactions de screening phytochimique

### 2.3.2. Caractérisation physicochimique des plantes :

#### a) Taux d'humidité :

2 g de matière végétale sont introduit dans des capsules puis chauffé dans l'étuve à 105°, après refroidissement dans le dessiccateur, le taux d'humidité est calculé selon la formule 1.

$$H (\%) = \left( \frac{P_1 - P_2}{p} \right) * 100 \dots \dots \dots (1)$$

Où

P<sub>1</sub> : Masse de la capsule avec la prise d'essai avant dessiccation (g).

P<sub>2</sub> : Masse de la capsule avec la prise d'essai après dessiccation (g)

P : Masse de la poudre avant dessiccation (g)

L'extrait sec total du produit (EST) est déduit par soustraction :

$$EST = 100 - H \dots \dots \dots (2)$$

#### b) Taux des cendres :

C'est le résidu qui reste à la fin de combustion, consiste à calculer la quantité de la composition minérale par incinération dans un four à moufle à une température de 500°C.

Mettre 2 g de poudre de chaque échantillon dans des creusés puis les introduire dans le four à moufle, laissé les substances se bruler à 525 °C. Le calcul des taux des cendres se fait par la formule 2 :

$$C\% = \left( \frac{P_1 - P_2}{P} \right) * 100 \dots \dots \dots (3)$$

P<sub>1</sub> : Masse de creuset + cendre après refroidissement (g)

P<sub>2</sub> : Masse de creuset vide (g) ; P : Masse de creuset + échantillon avant bruler (g)

#### c) pH :

1 g de poudre de chaque échantillon sont introduits dans 10 ml d'eau distillé pour mesurer le pH à l'aide d'un pH-mètre.

#### d) Indice d'acidité :

Consiste à déterminer le nombre de milligramme d'hydroxyde de potassium nécessaire pour la neutralisation des acides libre contenus dans 1 gramme de corps.

## Chapitre 2: Matériel et méthodes

Dans un erlenmeyer peser 0.5 g de l'extrait, ajouter 20 ml d'éthanol à 95 ° et deux gouttes d'indicateur coloré (phénolphtaléine). Titrer avec la solution d'hydroxyde de potassium à 0.01N. A la fin calculer l'indice d'acidité selon la formule 3.

$$I_A = \frac{(56.1 \times V \times N)}{P} \dots \dots \dots (4) (\text{mg de KOH/ g de l'extrait})$$

**56.1** : Masse molaire, exprimée en g/mole, d'hydroxyde de potassium.

**V** : Volume en ml d'hydroxyde de potassium (0.01N) nécessaire au titrage.

**N** : Normalité de la solution de potassium (0.01N).

**P** : Masse de la prise d'essai(g).

### e) Détermination de la teneur en minéraux :

#### ➤ Préparation de la gamme d'étalon : solution mère

Les solutions mères de NaCl et de KCl sont préparées à des concentrations de 0.5 g/l et 1.5 g/l respectivement

#### ➤ Une gamme des solutions filles est préparée par dilution selon le tableau 3

**Tableau 7:** gamme de solution filles étalon pour Na et K.

N° tube		1	2	3	4	5	6
C	NaCl	0.0127	0.0254	0.0381	0.0508	0.0635	0.0762
	(mg/ml)						
C	KCl (mg/ml)	0.00286	0.00572	0.00858	0.01144	0.0143	

Mesurer l'absorbance de chaque solution fille à l'aide d'un photomètre puis tracer la courbe d'étalonnage :  $A = f(C \text{ mg/ml})$

#### ➤ Préparation des solutions à partir des cendres pour chaque échantillon :

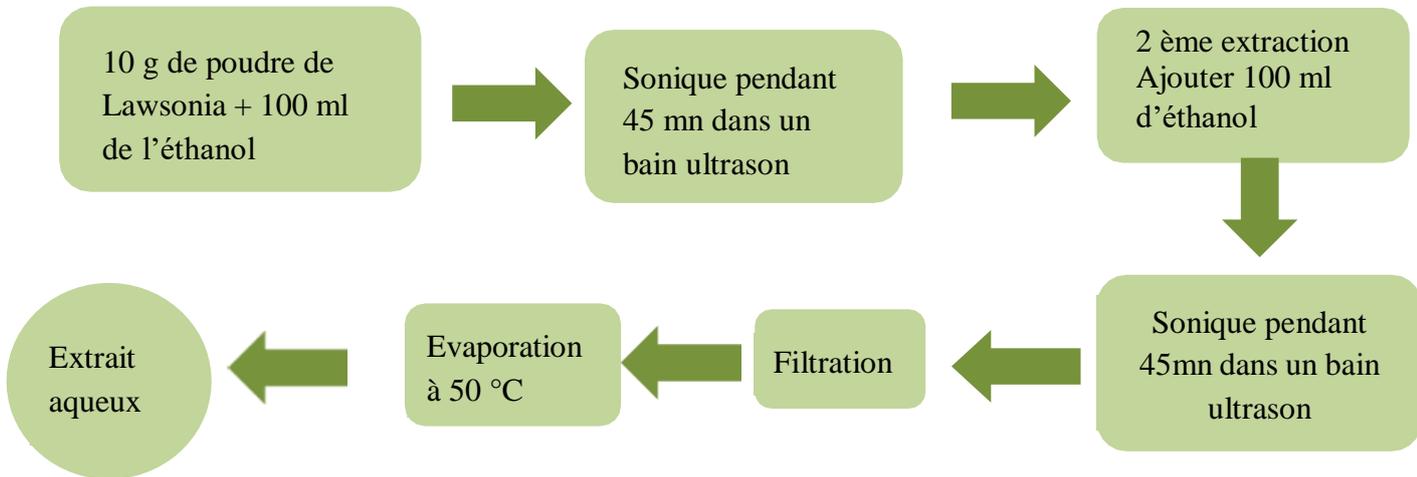
Les cendres obtenues dans le test précédent sont utilisées pour la préparation des solutions. Les cendres sont mélangées avec 2 ml de HCl évaporés à sec sur plaque chauffante, puis laissés à l'étuve pendant 1h à une température de 105°C. Le mélange est récupéré avec 1 ml de HCl, filtré, et en fin le filtrat est ajusté dans une fiole jaugée à 50 ml.

Les absorbances des différents échantillons sont mesurés à l'aide du photomètre à flamme les concentrations massiques en sodium et en potassium sont déterminées à partir de la courbe d'étalonnage.

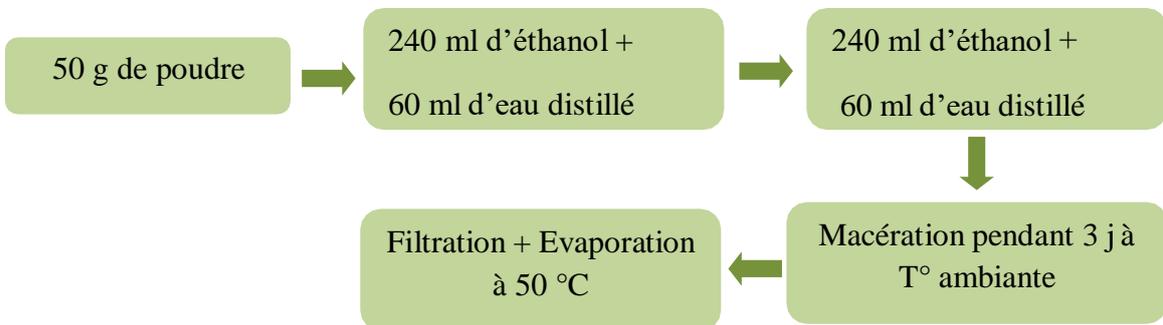
### 2.4. Extraction des substances actives :

#### 2.4.1. Extraction de Lawsonie à partir de *Lawsonia Inermis L.*

Deux procédés d'extraction sont adoptés, par ultrason et par macération. Les protocoles sont résumés par les figures 21 et 22.

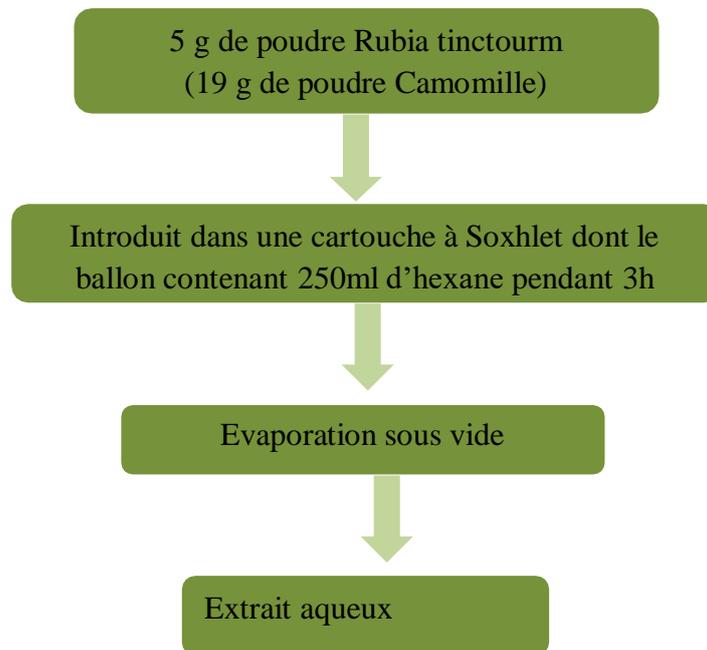


**Figure14:** protocole d'extraction par ultrason.[4]



**Figure15:** Protocole d'extraction par macération[3]

### 2.4.2. Extraction de *Rubia tinctorum* et de *Matricaria Chamomilla* par Soxhlet :



**Figure16:** Protocole d'extraction par Soxhlet.[2]

$$R (\%) = \frac{ME}{MV} \times 100 \dots\dots\dots(5)$$

R : Rendement en extraits végétale en %

ME : masse de l'extrait récupérée en (g).

MV : masse de la matière végétale utilisée en (g)

## 2.5. Caractérisation des extraits

### 2.5.1. Dosage des polyphénols totaux par spectrophotométrie:

Le dosage des polyphénols totaux a été déterminé par spectrophotométrie selon la méthode colorimétrique en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu. Ce dosage est basé sur la quantification de la concentration totale de groupements hydroxyles présents dans l'extrait.

#### a) Extraction des polyphénols totaux des plantes étudiées:

Les feuilles fraîches de chaque plante ont été séchées et réduites en poudre fine. La poudre obtenue 50 g a été extraite par macération dans 240 ml d'éthanol et 60 ml d'eau distillé avec agitation occasionnelle, à température ambiante. Après 3 jours, l'extrait a été filtré à

l'aide d'une pompe sous vide et a été concentré par rota vapeur. Le résidu résultant a été conservées à 4 °C dans l'obscurité jusqu'à une analyse plus approfondie.[3]

### b) Dosage des polyphénols totaux :

Dans des tubes à hémolyse en verre, un volume de 200 µl de chaque extrait a été ajouté 1 ml de réactif Folin-Ciocalteu dilué 10 fois, et 800 µl d'une solution de carbonate de sodium à 7,5 %. Les tubes sont agités et conservés pendant 30 min. L'absorbance est lue à 765 nm. La courbe d'étalonnage a été réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant l'acide gallique à différentes concentrations (0 à 1000 µl)[55]

### 2.5.2. Dosage des polyphénols par HPLC :

#### a) Procédé d'extraction :

4g de la poudre de chaque échantillon sont ajouter à 20 ml de solution méthanolique (méthanol/ eau : 80/20), puis agiter pendant 10 min. Les extraits obtenus sont centrifugés pendant 5 min à 3800 rpm, et le surnageant est récupéré dans une fiole de 50 ml. L'opération est reconduite 2 fois et l'extrait récupéré est ajusté au trait de jauge avec la solution méthanolique (80/20).La solution obtenue est concentrée à l'aide d'un évaporateur rotatif à une température de 50°C puis conservé au congélateur à -22°C.

#### b) Conditions opératoires d'analyse :

Les conditions opératoires d'analyse sont résumées dans le tableau 8

**Tableau 8 :** Conditions d'analyse par HPLC.

Colonne	C <sub>18</sub>
Température	40°C
Phase stationnaire	(CH <sub>2</sub> ) <sub>17</sub> -CH <sub>3</sub> greffé sur la silice
Phase mobile	Méthanol
Débit	1 ml/min
Détecteur spectrophotomètre	280nm

### 2.5.3. Dosage des flavonoïdes totaux

La quantification des flavonoïdes a été effectuée par une méthode basée sur la formation d'un complexe très stable, entre le chlorure d'aluminium et les atomes d'oxygène présent sur les carbones 4 et 5 des flavonoïdes. Le protocole utilisé est basé sur celui décrit par Zhishen et al.[56] Et Kim et al.[57].

Dans un tube à hémolyse en verre, 400 µl d'extrait, ont été ajoutés à 120 µl de NaNO<sub>2</sub> à 5 %. Après 5 minutes 120 µl d'AlCl<sub>3</sub> à 10 % ont été additionnés, et le milieu est mélangé vigoureusement. Après 6 minutes, un volume de 800 µl de NaOH à 1 M a été ajouté au milieu. L'absorbance est lue immédiatement à 510 nm contre le témoin l'éthanol.

Une solution de quercétine a été préparée à différentes concentrations pour tracer la courbe d'étalonnage. [55]

### 2.5.4. Evaluation de pouvoir antioxydant :

La capacité de piégeage des radicaux libres des différentes fractions a été déterminée en utilisant le radical DPPH comme réactif, selon la méthode de Hsouna et al.[3]

750 µl de solution d'échantillon ont été mélangés avec 1,5 ml de solution de radical DPPH, le mélange a été incubé pendant 20 min dans l'obscurité à température ambiante.

La capacité de piégeage a été lue par spectrophotométrie en surveillant la diminution de l'absorbance à 517 nm contre un blanc qui est la solution d'échantillon.

Le contrôle a été effectué de la même manière, 750 µl d'éthanol plus 1.5 ml de réactif de DPPH.

L'acide ascorbique a été utilisé comme standard.

Le pourcentage d'inhibition a été calculé à l'aide de l'équation suivante :

$$I \% = \frac{A_{control} - A_{simple}}{A_{control}} \times 100 \dots \dots \dots (6)$$

### 2.6. Application des teintures naturelle sur les mèches :

Des mélanges de la poudre de Lawsonia et du Rubia à différents rapports et d'autres mélanges de Lawsonia avec la Camomille ont été préparés. Ces mélanges ont été appliqués sur des mèches de différentes racines (noir, châtain foncé et châtain clair). Les applications ont été réalisées dans des conditions de température et de durée différentes selon la matrice donnée par le tableau 8.

Le domaine d'étude de la température est défini par l'intervalle de la température ambiante (20°C) et la température maximal utilisée dans les salons de coiffure (35°C sous casque)

La durée de séchage varie entre 3heurs et 6heurs.

**Tableau 9 :** Conditions d'application des teintures sur mèches.

No	Température	Durée de séchage	Rapport Lawsonia/Rubia (Lawsonia/Camomille)
1	-1	-1	-1
2	1	-1	-1
3	-1	1	-1
4	1	1	-1
5	-1	-1	1
6	1	-1	1
7	-1	1	1
8	1	1	1

-1: niveau bas ; 1: niveau haut de domaine d'étude des facteurs

# **Chapitre 3 :**

# **Résultats et**

# **Discussion**

## 1 Résulta de l'enquête ethnobotanique

Une enquête ethnobotanique a été réalisée sur une population de 100 personnes de cinq wilayas (Figure 17). D'après cette enquête, *Lawsonia inermis* est une plante largement utilisée en médecine traditionnelle pour l'Eczéma et la chute des cheveux et en cosmétique comme teinture naturelle.

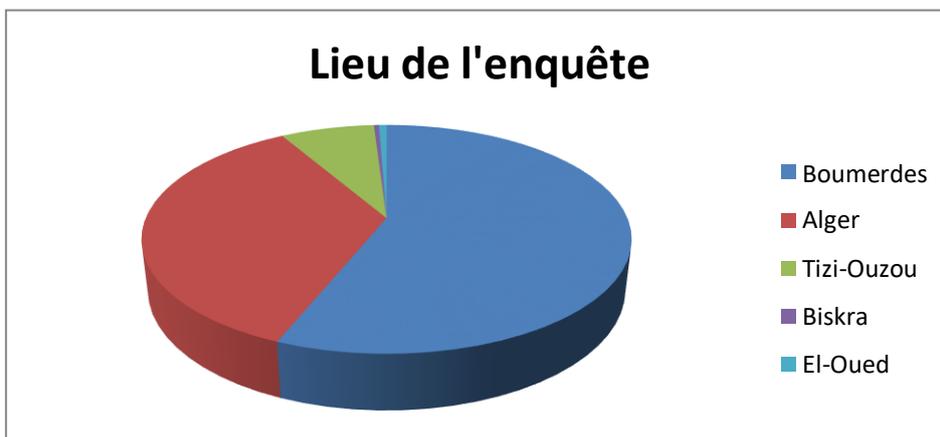


Figure 17. Lieu de réalisation de l'enquête

La plante est principalement cultivée, et la récolte se fait en grande quantité en Eté comme le montre la figure 2. Les feuilles séchées sont conservées à l'abri de la lumière.

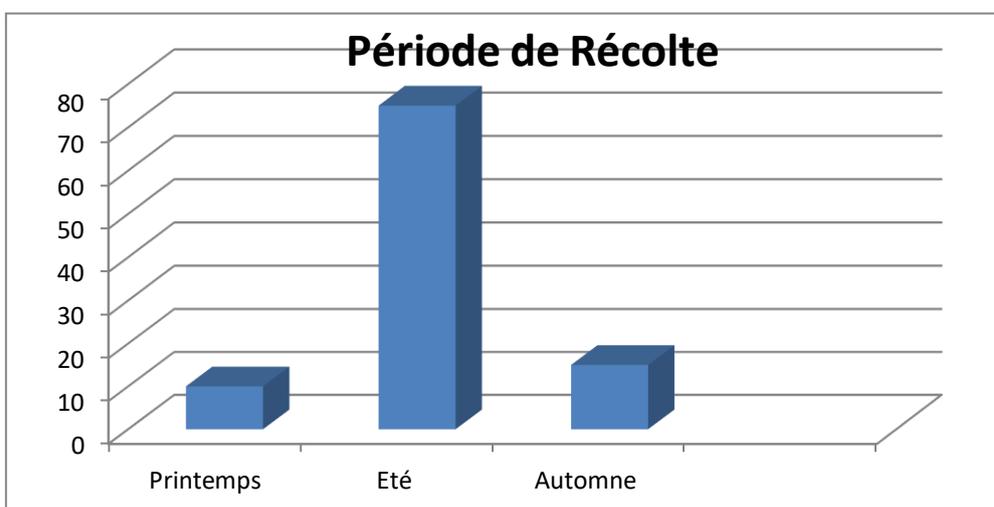


Figure 18. Période de récolte de *Lawsonia Inermis L.*

Des résultats plus détaillés sur l'utilisation sont représentés par la figure 3.

A la base de ces résultats, nous avons choisis d'étudier les feuilles de *Lawsonia inermis L.* en mélange avec d'autres plantes et ceci pour une application cosmétique.

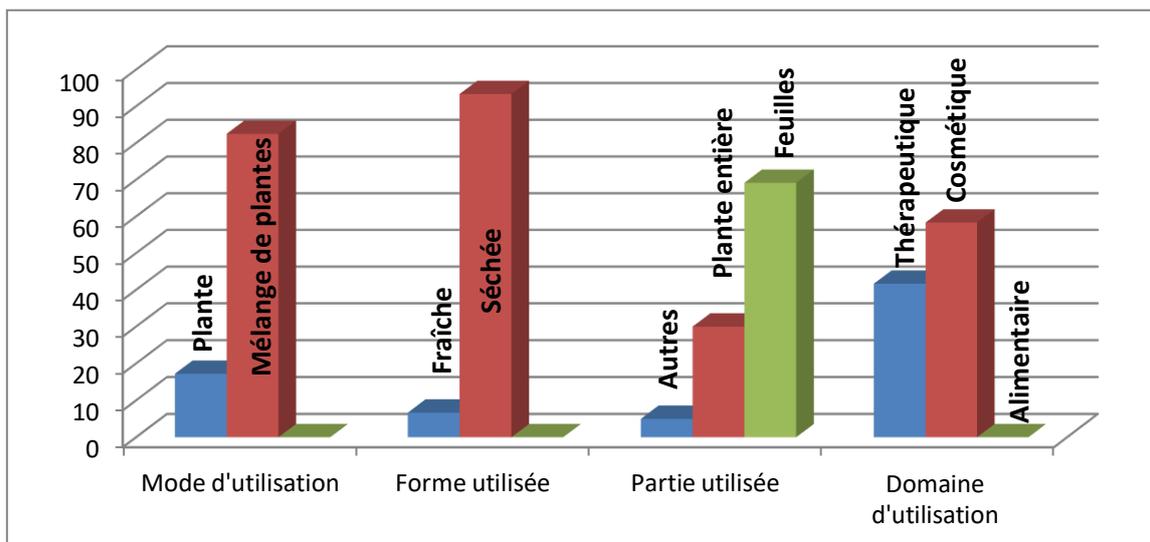


Figure 19. Résultats de l'enquête par rapport à l'utilisation de la plante *Lawsonia inermis*L.

## 2 Screening phytochimique :

Les résultats du test phytochimique sont représentés dans le tableau 10. Des photos justificatives des résultats sont en annexe 2.

Tableau 6: Résultats du test phytochimique pour les trois plantes étudiées.

	Lawsonia 1	Lawsonia 2	Lawsonia 3	Camomille	Rubia
<b>Polyphénol</b>	++	++	++	+	+
<b>Flavonoïde</b>	++	++	++	+	+++
<b>Tanins</b>	+	++	++	-	+++
<b>Alcaloïdes</b>	+	++	+	+	-
<b>Terponoides</b>	+	++	++	+	++
<b>Saponosides</b>	-	-	-	+	++
<b>Anthraquinone</b>	++++	+++	+++	-	++
<b>Quinone</b>	+	+++	+++	-	++

(+++) abondant, (+) présence, (-) absence

Lawsonia 1: région de Khenchla.

Lawsonia 2: région d'Oued Souf.

Lawsonia 3: région de Zribet El Oued (Biskra)

D'après les résultats donnés dans le tableau 10, les trois échantillons de *Lawsonia inermis* L. ont la même composition en métabolite secondaire identifiés dans cette étude. Ce sont les mêmes substances identifiées dans des échantillons de *Lawsonia inermis* L. d'Inde étudiés par Kallo et al.[58] et Khan et al. [53]

Une exception est a signalé pour l'échantillon de Khenchela (Lawsonia 1) qui indique une richesse en Anthraquinones et une présence en faible intensité en Tanins, Terpenoïdes, et surtout en Quinones.

Nous remarquons aussi que la Camomille est privée des Tanins, des Anthraquinones et des Quinones. Tandis que la Rubia est très riche en Flavonoïdes et Tanins, ces mêmes résultats ont été trouvés dans d'autres études [59] [60]

### 3 Caractéristique physico-chimique :

Les résultats des paramètres physico-chimiques des plantes étudiées sont représentés dans le tableau 11.

**Tableau 7 :** Caractéristique physico-chimique des plantes étudiées.

Plantes	H %	EST %	Cendres (%)	pH	I <sub>A</sub>	Concentration en minéraux	
						K (mg/g)	Na (mg/g)
L 1	6.226	93.774	21.06	5.91	0.55	0.35	0.22
L 2	10.9685	89.0315	8.66	5.68	1	0.23	0.1
L 3	7.6041	92.3959	12.42	5.70	1.34	0.39	0.14
Cam	12.1474	87.8526	5.97	6.67	1.67		
Rub	8.7691	91.9309	12.60	5.97	1.12		

Les végétaux sont riches en eau, les analyses de nos échantillons ont révélées un taux d'humidité important compris entre 6% et 12% selon le mode de séchage.

Les valeur de taux d'humidité des plantes de *Lawsonia inermis* (1,3) sont inferieur au normes tandis que celui de L2 est conforme aux normes (8% à 10 %)[61]. Les taux d'humidité de la Camomille et de la Rubia sont concordants avec les résultats trouvés par Bao et al.[62]

D'après les résultats, *Lawsonia inermis* 1 contient une quantité élevée en cendre avec un pourcentage de 21.06 % en la comparant aux résultats trouvés par Lemordant et al.[63].

La Camomille est la plante la moins riche en matière minérale, le taux des cendres est faible ce qui est confirmé par la littérature[64].

Les résultats de ce test pour la Rubia est aussi concordant avec la littérature [65]

La composition en Potassium et Sodium des échantillons de Lawsonia étudiés ne diffère pas des résultats trouvés dans la littérature.[66] [67]

#### 4 Evaluation du rendement d'extraction :

Les rendements d'extraction des plantes sont représentés par le tableau 12.

**Tableau 8 :** Rendement d'extraction

Plante	Méthode d'extraction	Solvant	R %
Lawsonia 1	Macération	Ethanol / eau	34.1
	Ultra son	Ethanol	9.88
Lawsonia 2	Macération	Ethanol / eau	41.3
Lawsonia 3	Macération	Ethanol / eau	36.4
Camomille	Soxhlet	n-Hexane	4.04
	Macération	Ethanol / Eau	1.11
Rubia	Soxhlet	n-Hexane	4.24
	Macération	Ethanol / Eau	25.25

D'après le tableau on constate que les feuilles de *Lawsonia inermis* 2 donnent un meilleur rendement par macération avec une valeur de 41.3 %, par contre la méthode par ultrason a donné un rendement d'extraction de valeur 9.88%, les résultats obtenus sont concordant avec les résultats trouvés par Marhoume et al.[68]

L'extraction de la *Camomille* a donné des rendements faibles par rapport à ceux trouvés dans la littérature [69].

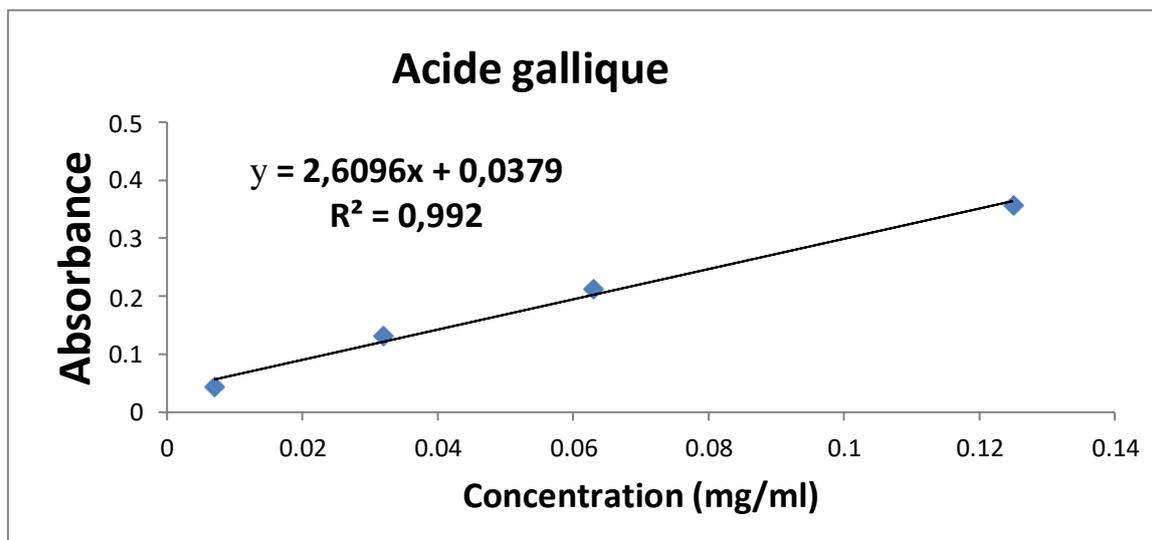
L'extraction de la *Rubia* par la méthode de macération a donné un meilleur rendement avec un taux de 25.25% et par Soxhlet avec un taux de rendement de 4.24 %. Les valeurs sont faibles par rapport à la littérature [39]

**Remarque :** nous avons programmé de réaliser une identification des substances actives extraites de chaque plante et le dosage de Lawsonie dans les différents échantillons de Lawsonia, mais le travail par manque des étalons.

#### 5 Caractérisation des extraits

##### 5.1 Dosage des polyphénols totaux par spectrophotométrie:

La courbe d'étalonnage est réalisée avec l'acide gallique (figure 20) afin de calculer les taux en polyphénols dans les différents échantillons étudiés. Les résultats sont dans le tableau 13.



**Figure 20 :** Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

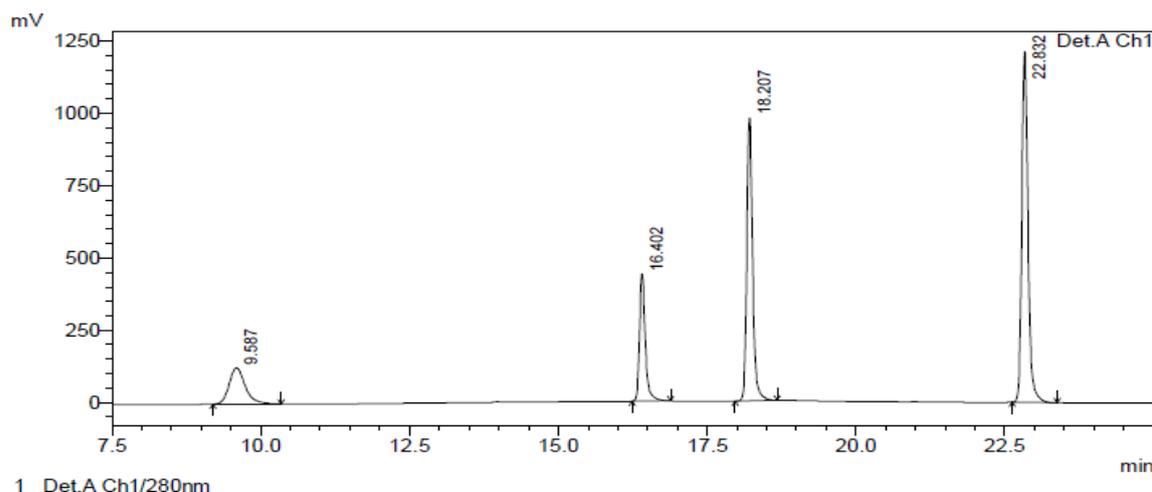
**Tableau 9:** Concentrations des polyphénols dans les plantes.

	L1	L 2	L3	Cam	Rub
C mg/ml	0.31	0.25	0.19	0.26	0.63

Les résultats montrent que Lawsonia 1 et 2 sont riches en polyphénols par rapport à Lawsonia 3. La Camomille présente un taux en polyphénols intéressant avec une valeur de 0.26 mg/ml tandis que la Rubia présente un taux de polyphénols plus élevé de valeur 0.63 mg/ml comparé avec les résultats obtenus par Marhoume et al. [70]

## 5.2 Dosage des polyphénols totaux par HPLC

Les figures 21, 22, et 23 représentent les chromatogrammes des étalons des polyphénols (acide gallique, acide caféique, acide coumarique, acide cinnamique) ; des échantillons de Lawsonia 1, Lawsonia 2, Lawsonia 3, et de la Camomille et Rubia respectivement.

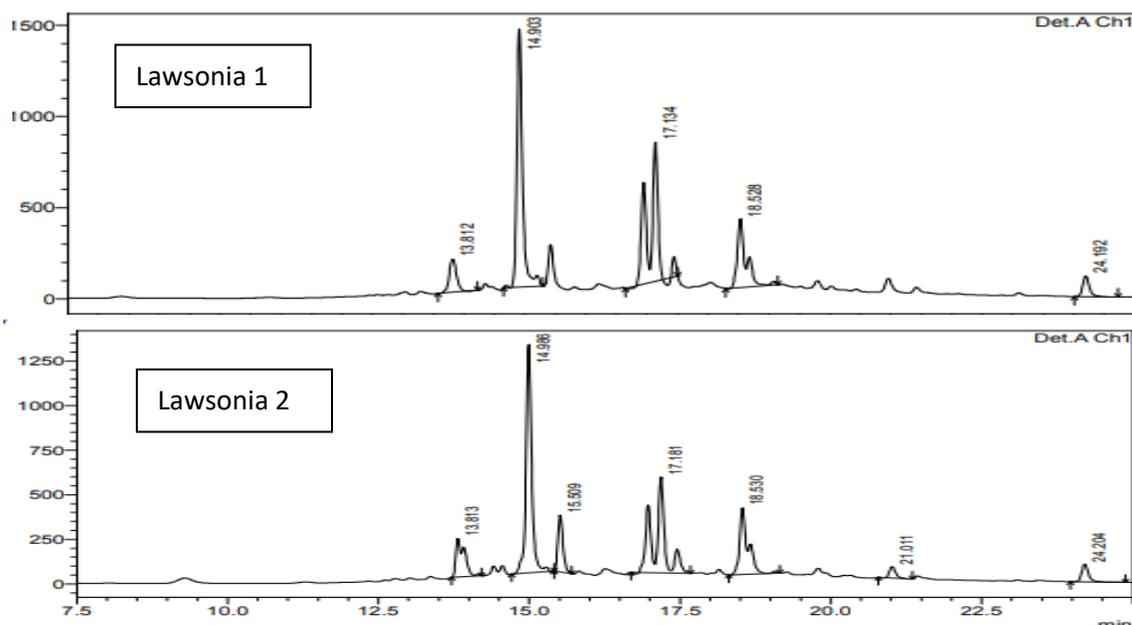


**Figure 210 :** Chromatogramme par HPLC de l'étalon

En comparant les temps de rétention nous remarquons que les trois échantillons ont les mêmes types de polyphénols. Un pic majoritaire est remarqué dans les pics de Lawsonia à un temps de rétention de 14.9min mais il n'est pas identifié par manque d'étalon.

Le type des polyphénols contenant les échantillons de Lawsonia est l'acide coumarique (temps de rétention 18.02)

Pour la camomille sont identifiés l'acide coumarique et l'acide cinnamique. Par contre la Rubia n'a révélé qu'un très faible pic correspondant à l'acide cinnamique et un pic majoritaire non identifié à 2.7m



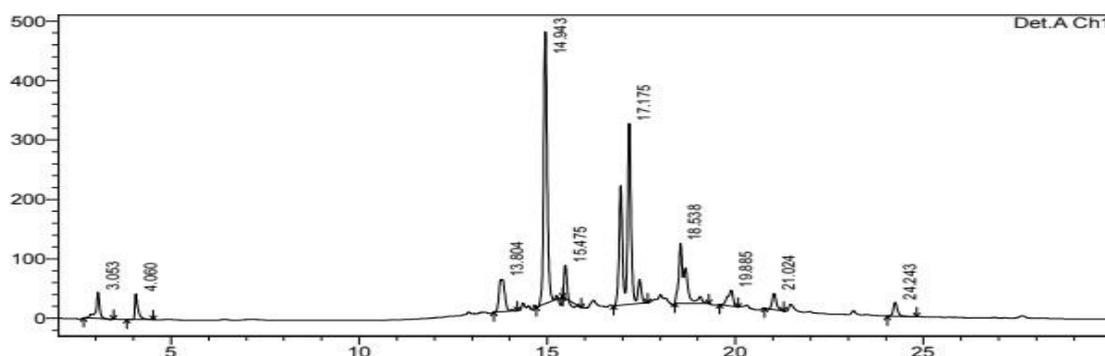


Figure 112 : Chromatogramme par HPLC des extraits de L1, L2 et L3

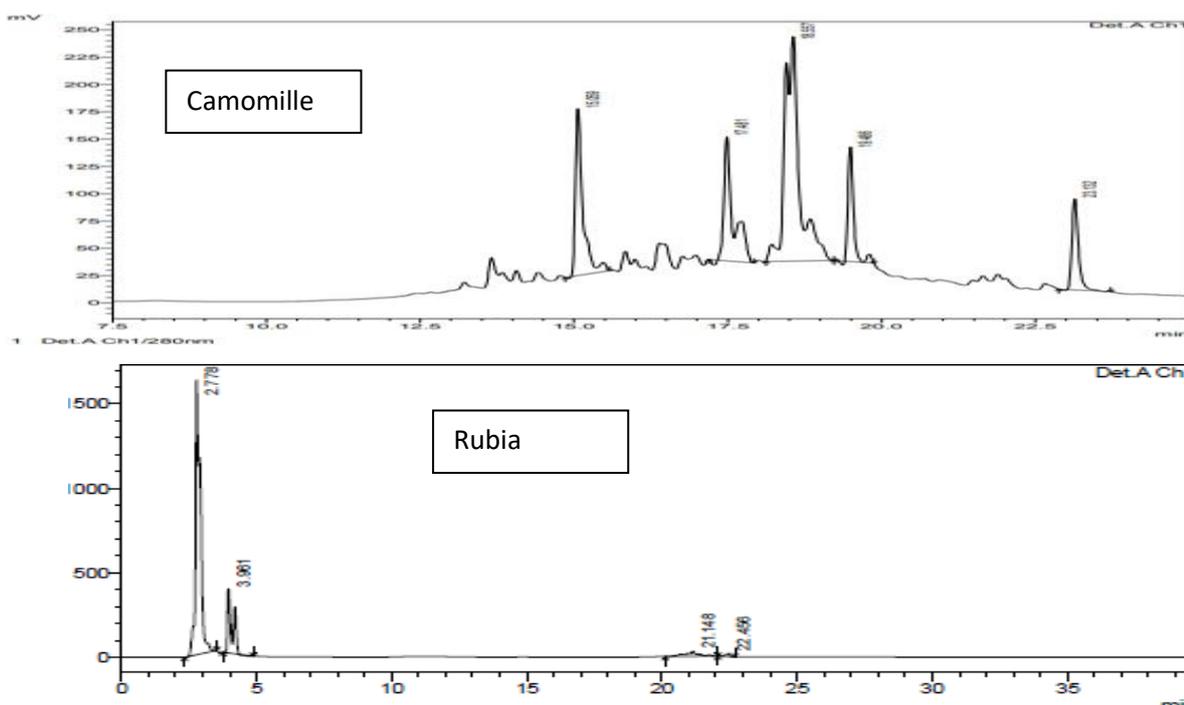


Figure 212 : Chromatogramme par HPLC des extraits de *Rubia* et *Camomille*

### 5.3 Dosage des flavonoïdes :

La quercitine a été utilisée comme standard pour déterminer les quantités de flavonoïdes totaux dans les feuilles de *Lawsonia inermis*, les fleurs de la *Camomille* et les racines de la *Rubia*. L'étude a montré que la teneur en flavonoïdes la plus basse est enregistrée dans les racines de *Rubia tinctorum*. Ce même résultat a été déjà cité dans la littérature[71]

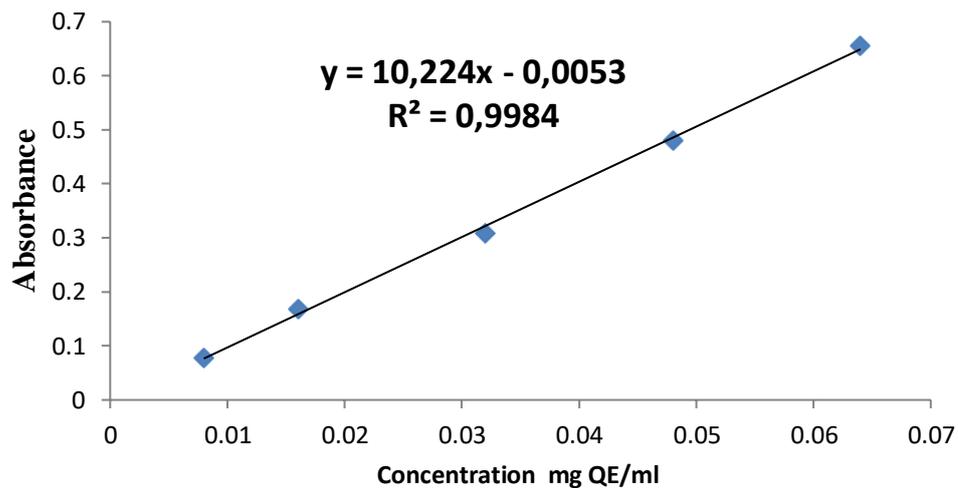


Figure 24 : Courbe d'étalonnage de Quercitine (mg QE/ml).

Tableau 10: Résultats de concentration des flavonoïdes dans les différentes plantes.

Les plantes	L1	L2	L3	Cam	Rub
Concentration en Flavonoïdes (mg QE/ml)	0.41	0.9	0.5	0.58	0.030

### 6 Evaluation de l'activité anti-oxydante :

L'acide ascorbique est utilisé comme standards afin d'évaluer cette activité. Des valeurs de concentration nécessaire pour l'inhibition de 50% des radicaux libres (IC<sub>50</sub>) sont déterminées à l'aide des équations des courbes d'inhibition en fonction de la concentration pour tous les extraits étudiés.

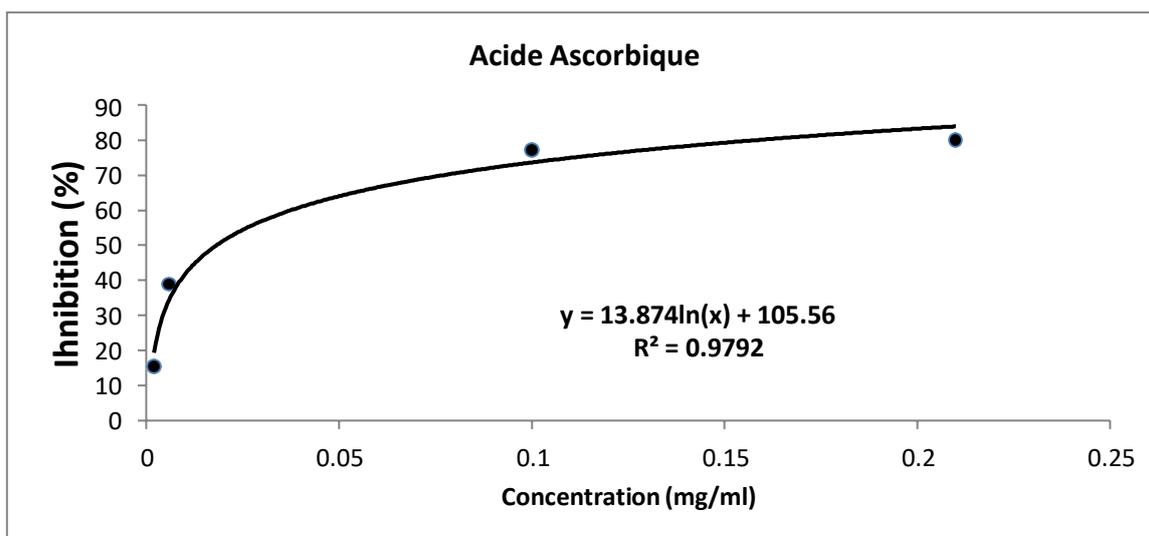


Figure 25 : Inhibition des radicaux libre de DPPH en fonction de la concentration d'acide ascorbique

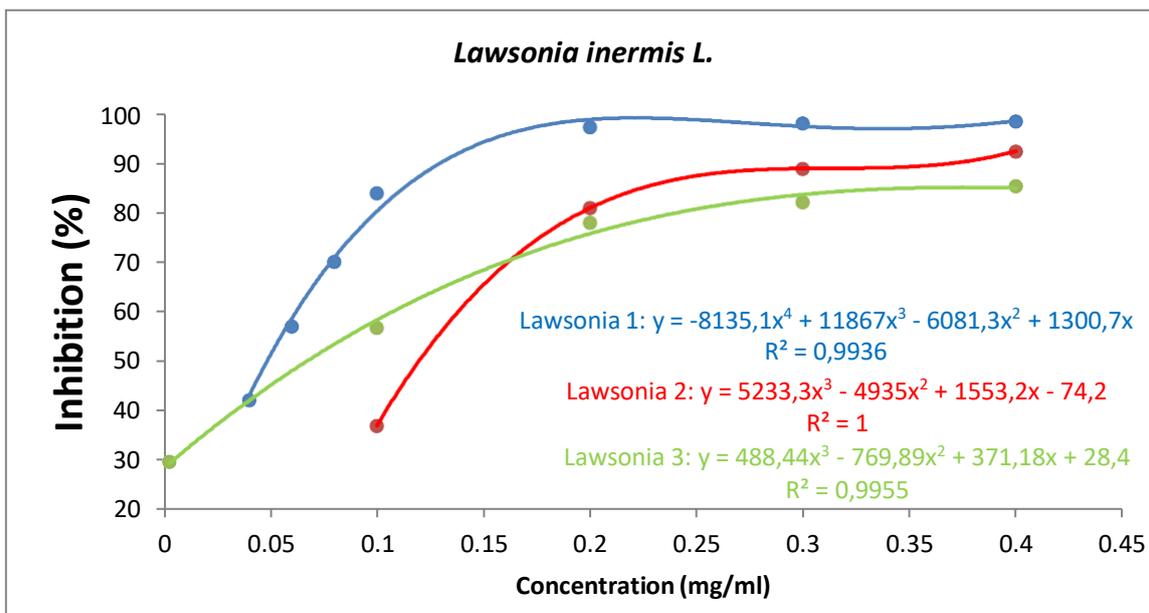


Figure 26 : Inhibition des radicaux libre de DPPH en fonction de la concentration de *Lawsonia inermis L.*

Les courbes séparées des différents échantillons de Lawsonia sont insérées dans l'annexe 3.

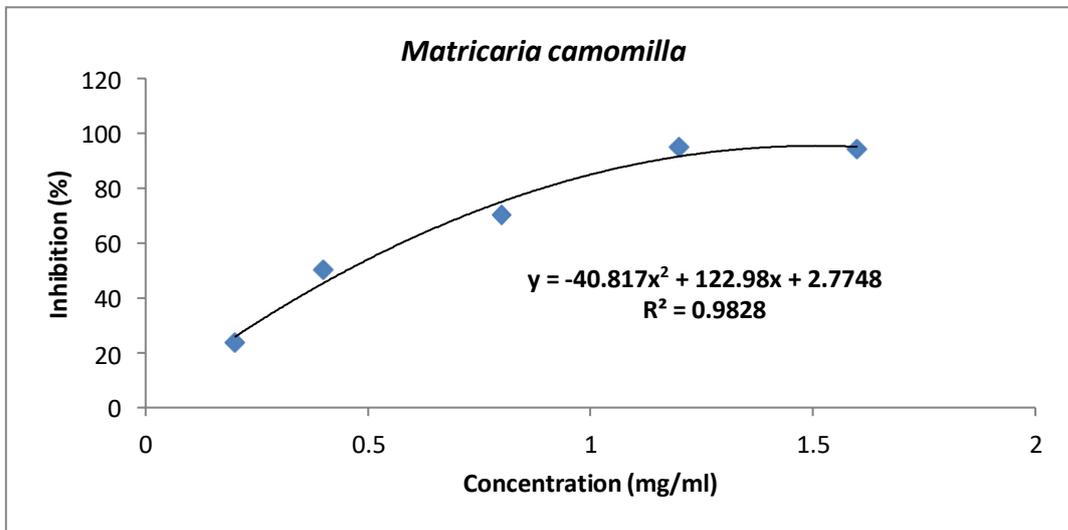
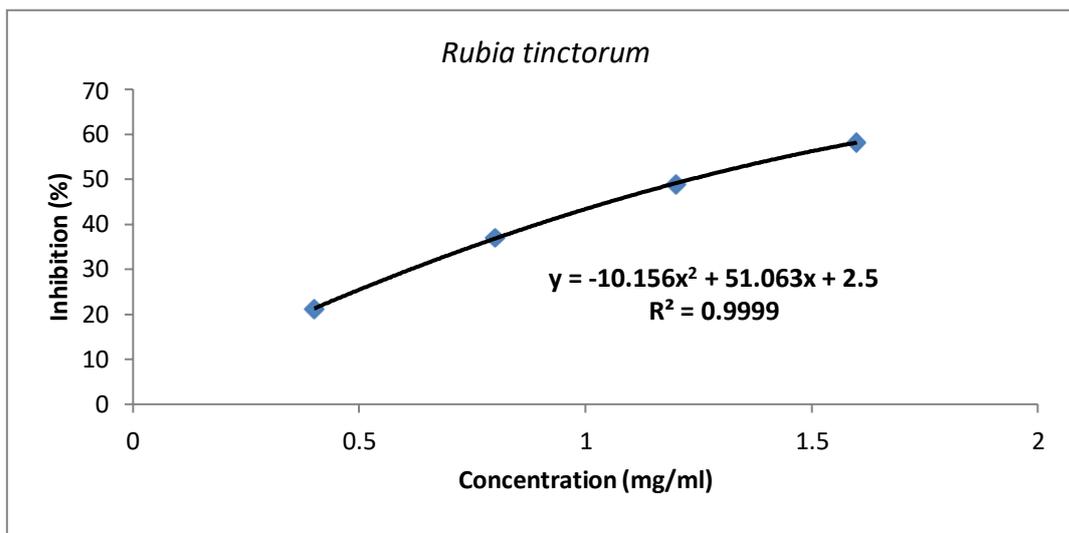


Figure 27 : Inhibition des radicaux libre de DPPH en fonction de la concentration de *Matricaria Chamomilla*



**Figure 28 :** Inhibition des radicaux libre de DPPH en fonction de la concentration de *Rubia tinctorum*

Les valeurs de IC<sub>50</sub> sont regroupées dans le tableau 15.

**Tableau 11:** Résultats de l'activité antioxydant

Plante	Acide ascorbique	Lawsonia 1	Lawsonia 2	Lawsonia 3	Camomille	Rubia
<b>IC<sub>50</sub> (mg/ml)</b>	0.0183	0.049	0.12	0.07	0.45	1.2

Les valeurs de IC<sub>50</sub> trouvées pour la plante *Lawsonia inermis* L. sont très intéressantes en les comparant à la valeur trouvée par Manish Kumar et Al.[72] qui trouvent une valeur de IC<sub>50</sub> de 1mg/ml pour *Lawsonia inermis* de l'Inde. Par contre Dhaouadiet al.[73] trouvent une valeur de 51.36µg/ml lors de l'étude de la même plante de la Tunisie.

Le pouvoir antioxydant de *Matricaria camomilla* est intéressant avec une valeur de IC<sub>50</sub> de 0,45 mg/ml comparée à la valeur donnée par l'acide ascorbique (0.0183mg/ml). Ce qui est expliqué par la présence des polyphénols et flavonoïdes dans échantillon étudié. Cette activité reste faible en la comparant avec les résultats trouvés par Hadj Mohamed et al.[74] Avec la camomille récolté en Tunisie.

D'après la valeur de IC<sub>50</sub> donnée par l'extrait de la plante *Rubia tinctorum*, l'activité antioxydante de cette plante est très faible. Citant que la même plante récolté en Iran donne une valeur de 200 µg / ml et donc une très bonne activité d'après Yekefallah et al.[71]

Les résultats de cette partie de travail ont fait objet de deux communications au congrès international des Énergies et Génie des Procédés Industriel (CEGPI'22) qui a eu lieu en mai 2022 à Alger. Les attestations sont en annexes N°5

## 7 Résultats d'application des teintures naturelles

### 7.1 Application de Lawsonia seule sur les mèches

La dégradation de couleurs obtenus par l'application de Lawsonia seule sur les mèches est indiquée par la figure 29. On remarque que Lawsonia 1 et 2 donnent une même couleur foncée mais avec Lawsonia 3, la couleur s'éclaircie et ceci pour toutes les bases. Pour cela que la suite des applications a été réalisée par le mélange de Lawsonia 3 et les autres plantes.

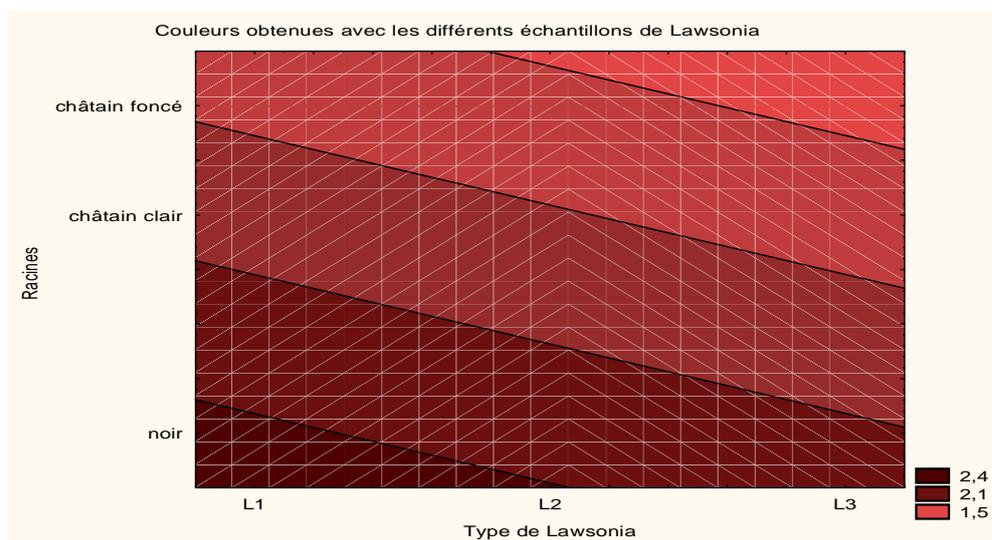


Figure 29 : Dégradation de couleurs donnée par Lawsonia seule.

7.2 Résultats de l'application des mélanges de Lawsonia / Rubia sur les mèches

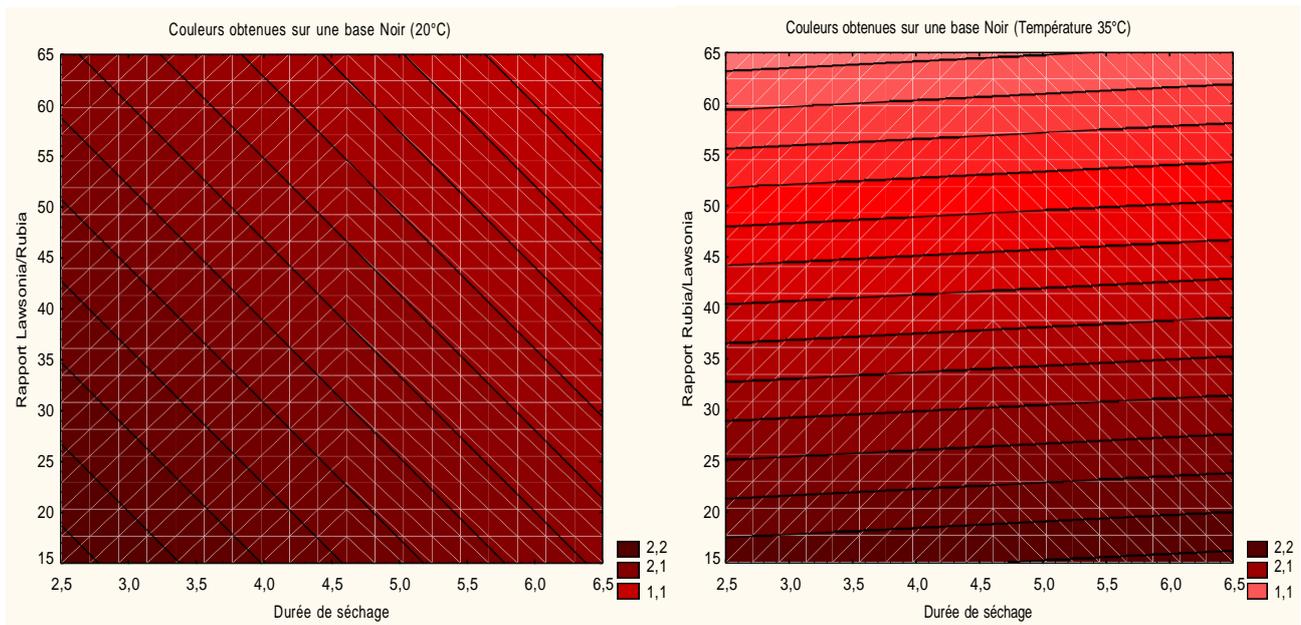


Figure 30 : Dégradation de couleurs donnée par le mélange Lawsonia/Rubia avec la racine noir

La dégradation de couleur obtenue par application du mélange de rubia + Lawsonia sur les maiche noir dépend du rapport de mélange (Lawsonia/Rubia) et de la durée de séchage pour la température d'application 20°C. Alors que, l'application à une température de 35°C ne varie qu'en fonction du rapport de mélange. La durée de séchage d'influe pas. (Figure 30).

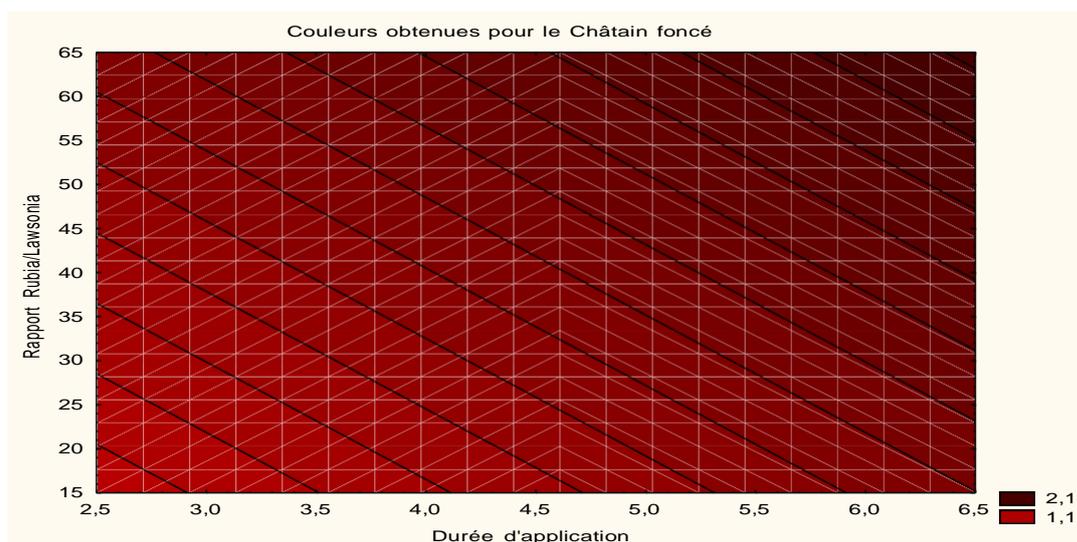
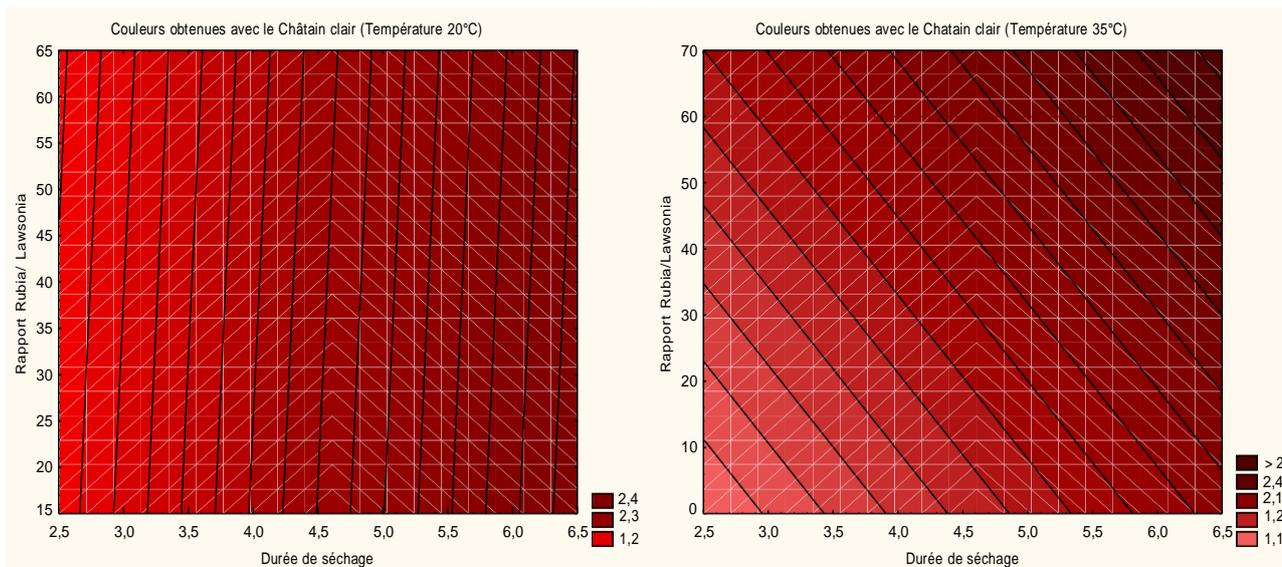


Figure 31 : Dégradation de couleurs donnée par le mélange Lawsonia/Rubia avec la racine châtain foncé.

Pour la racine châtain foncé, les deux facteurs (rapport et durée d'application) influe sur la couleur comme le montre la figure 31 et ceci pour les deux températures.

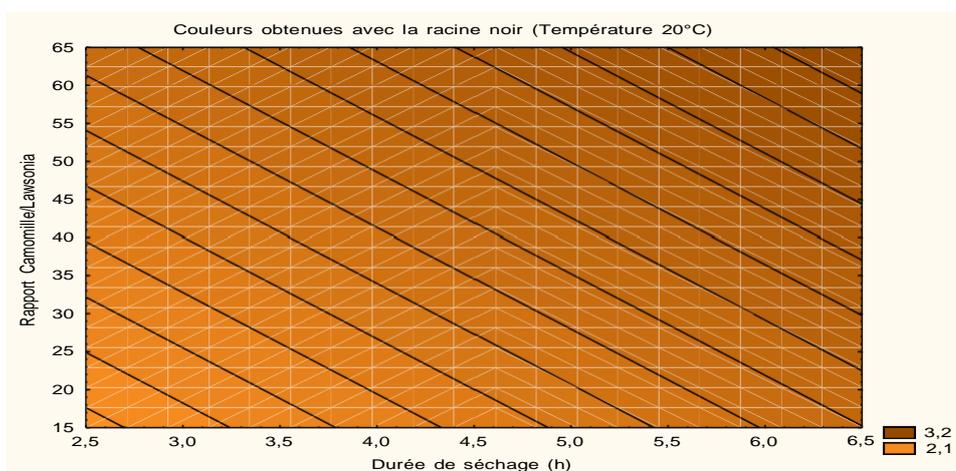


**Figure 32 :** Dégradation de couleurs donnée par le mélange Lawsonia/Rubia avec la racine châtain claire

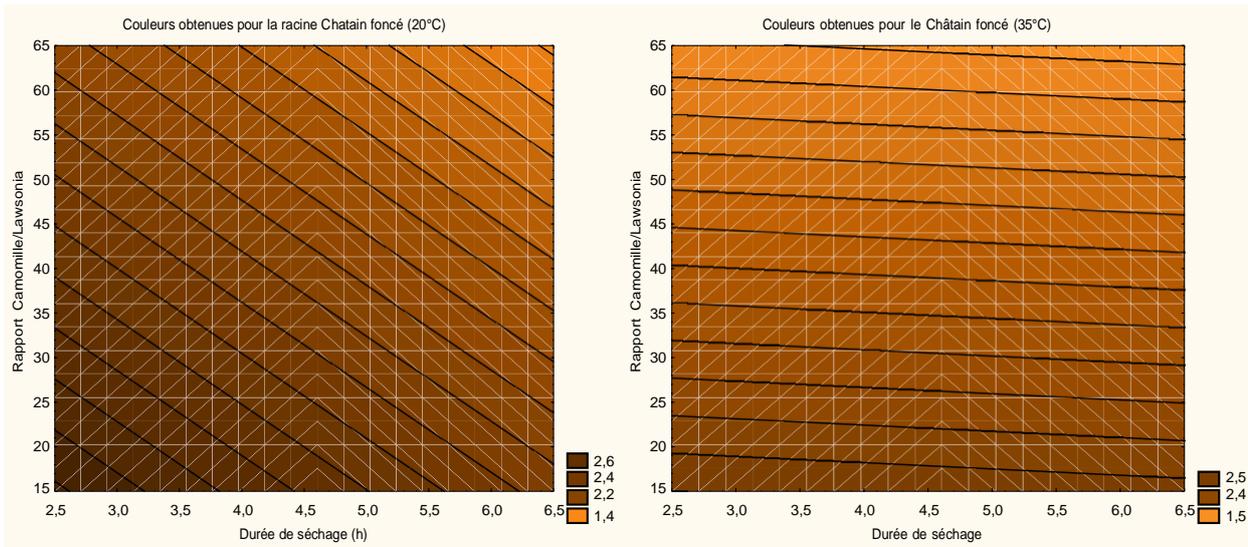
La dégradation de couleur obtenue par application du mélange de Rubia et Lawsonia sur les maiches châtain clair dépend du rapport de mélange (Lawsonia/Rubia) et de la durée de séchage pour la température d'application 35°C. Alors que, l'application à une température ambiante ne varie qu'en fonction du rapport de mélange. La durée de séchage d'influe pas.

### 7.3 Résultats de l'application des mélanges de Lawsonia / Camomille sur les mèches

La camomille a donné des couleurs dans la marge du marron. Pour la racine noir et à température 20 °C, plus le rapport et la durée augmente la couleur devienne plus foncé. Par contre à température 35°C une seul couleur de numéro 1.5 a été obtenue.



**Figure 33 :** Dégradation de couleurs donnée par le mélange Lawsonia/Camomille avec la racine noir.



**Figure 34** : Dégradation de couleurs donnée par le mélange Lawsonia/Camomille avec la racine châtain foncé.

A température 20°C, le rapport Camomille /Lawsonia et la durée d’application, par contre à température 35°C le durée n’influe pas sur la coloration.

Le châtain clair a donné une seule couleur celle symbolisée par le numéro 1.5.

**Tableau 17 :** numéro des couleurs

Numéro de la couleur	Noms de la couleur	
1.1	Brique	
1.2	Auburn	
1.3	Ambre	
1.4	Rouge biasmarque	
1.5	Fauve	
2.1	Marron foncé	
2.2	Blet	
2.3	Caramel	
2.4	Acajou	
2.5	feuille morte	
2.6	Noisette	
2.7	Orange brulé	

# *Conclusion générale*

L'objectif de ce travail et la caractérisation physico-chimique et biologique des plantes *Lawsonia inermis L.*, *Rubia tinctorum* et *Matricaria Chamomilla L.* pour usage cosmétique.

La caractérisation physico-chimique telle que l'humidité et le taux d'acidité des plantes étudiées donne des résultats concordant avec la littérature.

L'évaluation du taux des minéraux dans les échantillons de *Lawsonia inermis* étudiés révèle une certaine différence beaucoup plus pour Lawsonia 2 provenant de la wilaya d'El Oued qui contient des faibles quantités de potassium et de sodium.

L'étude phytochimique des extraits des plantes étudiées, a montré la présence des flavonoïdes, des polyphénols et des quinones principalement.

Le pouvoir anti-oxydant est évalué par l'étude de l'activité anti-radicalaire au DPPH. Les résultats ont montrés une activité très intéressante pour *Lawsonia inermis L.* en comparaison avec des travaux réalisés sur la même plante.

Lawsonia 2 provenant de la wilaya d'El Oued montre aussi un pouvoir antioxydant faible par rapport à Lawsonia 1 et 3 avec des valeurs de IC<sub>50</sub> de 0.12mg/ml pour Lawsonia 2 et 0.049 mg/ml et 0.0068mg/ml pour Lawsonia 1 et 3 respectivement.

L'activité antioxydante est jugée acceptable pour la Camomille et la Rubia en la comparant avec la littérature.

L'application de la teinture naturelle sur des mèches en réalisant des mélange de poudre de Lawsonia et de la Rubia et des mélanges de Lawsonia et de la Camomille dans des conditions bien déterminées nous a permis d'établir une gamme de couleur variée.

En qualité de perspectives et dans le but de compléter ce travail à l'avenir, il serait intéressant de caractériser qualitativement et quantitativement les substances actives de chaque plante. Nous pouvons aussi élargir la gamme des couleurs en utilisant d'autres plantes colorantes disponible en Algérie.

1. Brunett A. R., T.R.H., *Naturally occurring quinones .Biogenesis of the anthraquinones in Rubia tinctorum L.* Journal of the Chemical Society 1968: p. 2437-2441.
2. Fatima Zahra Marhoume 1, Rachida Aboufatima 3, et al., *Antioxidant and Polyphenol-Rich Ethanolic Extract of Rubia tinctorum L. Prevents Urolithiasis in an Ethylene Glycol Experimental Model in Rats.* molecules.
3. Hsouna, A.B., et al., *Antioxidant constituents from Lawsonia inermis leaves: Isolation, structure elucidation and antioxidative capacity.* Food Chemistry, 2011. **125**(1): p. 193-200.
4. Alem, F.-Z., et al., *Lawsonia quantification in Lawsonia inermis L. by HPLC-MS: How does the temperature and pluviometry affect lawsonia concentration?* Industrial Crops and Products, 2020. **158**: p. 112960.
5. Pelletier, A.-S., et al., *Les colorations capillaires du XXI<sup>e</sup> siècle.* Actual Chim, 2011. **358**: p. 6-13.
6. El-Hag, A., A. Al-Jabri, and O. Habbal, *Antimicrobial properties of Lawsonia inermis (henna): a review.* 2007.
7. Ghédira, K. and P. Goetz, *Le henné Lawsonia inermis L. (Lythraceae).* Phytothérapie, 2017. **15**(2): p. 85-90.
8. Gozubuyuk, G.S., E. Aktas, and N. Yigit, *An ancient plant Lawsonia inermis (henna): Determination of in vitro antifungal activity against dermatophytes species.* Journal de Mycologie Médicale, 2014. **24**(4): p. 313-318.
9. *Lawsonia inermis également appelé Henné sa description et les photos de ses fleurs fruits et feuilles.* 2013.
10. P.Goetz, K.G., *Le henné Lawsonia inermis L.(Lythracéae) phytothérapie* 2017: p. 85-90.
11. MALEKZADEH, F., *antimicrobial activity of lawsonia inermis L* 1968. **16**.
12. Chaudhary, G., S. Goyal, and P. Poonia, *Lawsonia inermis Linnaeus: a phytopharmacological review.* International journal of pharmaceutical sciences and drug research, 2010. **2**(2): p. 91-98.
13. Walid, B., *contribution à l'évaluation de couts de production d'un hectare de henné dans la région de Zribet El Oued.* mémoire de master 2019.
14. Petzel-Witt, S., et al., *Detection of lawsonia (2-hydroxy-1,4-naphthoquinone) in henna treated hair.* Forensic Science International, 2019. **297**: p. 184-188.
15. Chaudhary, G., S. Goyal, and P. Poonia, *Lawsonia inermis Linnaeus: a phytopharmacological review.* Int J Pharm Sci Drug Res, 2010. **2**(2): p. 91-8.
16. Pradhan, R., et al., *From body art to anticancer activities: perspectives on medicinal properties of henna.* Current drug targets, 2012. **13**(14): p. 1777-1798.
17. al., K.P.e., *Activité antifongique in vitro de l'indirubine isolée d'une plante ethnométriciale du sud de l'Inde Wrightia tinctoria R* Br J Etnopharm. 2010.
18. Alia, B., A. Bashir, and M. Tanira, *Anti-inflammatory, antipyretic, and analgesic effects of Lawsonia inermis L.(henna) in rats.* Pharmacology, 1995. **51**(6): p. 356-363.
19. Katya, Y., *Les bienfaits du henné.* 2016. **1**.
20. Ahmed, S., et al., *Evaluation of the efficacy of Lawsonia alba in the alleviation of*

carbon tetrachloride-induced oxidative stress. Journal of ethnopharmacology, 2000. **69**(2): p. 157-

164.

21. al., P.B.e., *Activités antimicrobiennes de Lawsonia inermis – un examen Académique J Usine Sci.* 2009.
22. H.F, G.H.e.L., *Précis de Botanique (végétaux supérieur)*. 1982: p. 426.
23. G., P., *Artemisia herba-alba*. 1981: p. 1012.
24. A., M., *Etude phytochimique d'une plante médicinale de l'est Algérien (Artemisia herbaalba)* Thèse de Doctorat des sciences en Chimie Organique Université Mentouri Constantine 2011: p. 96.
25. O., G., *Etude phytochimique et activité antioxydante de matricaria pubescens (desf.) sch.bip. et chrysanthemum batt. et trab.(asteraceae)*. Thèse de Doctorat en Chimie pharmaceutique 2014: p. 219.
26. J, B., *Plantes médicinales au Maghreb et soins de base, Précis de Phytothérapie Moderne* Editions Le Fenec 2006 p. 385.
27. Allais, D., *La partenelle (grande camomille)*. Actualités Pharmaceutiques, 2008. **47**(475): p. 57-59.
28. J, B., *Pharmacognosie ,phytochimie plantes médicinales* 1999: p. 521-4.
29. S., Q.P.e.S., *Nouvelle Flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales ,Tome II* Edition du centre national de la Recherche scientifique 1963: p. 788.
30. M, F., *Flore et Végétation* Grupp.Walk .Over Italie 1987: p. 114-116.
31. Pino J ., M.M.P., Mestres M., Pérez J., Busto O., and Guasch J, *Headspace solid-phases microextraction of higher fatty acid ethyl esters in white rum aroma* Journal of Chromatography A, 2002: p. 954.
32. kato A., M.Y., Yamamoto J., Adachi I., Awatson A., and Nash R.J, *Protective Effects of Dietary Chamomile Tea on Diabetic complications* Food Chemistry, 2008: p. 56.
33. Abd El-Twab, M.H., A.M. Mekawy, and M.S. El-Katatny, *Karyomorphological studies of some species of Chrysanthemum sensu lato in Egypt*. Chromosome Botany, 2008. **3**(2): p.41-47.
34. Hajizadeh-Sharafabad, F., et al., *Chamomile (Matricaria recutita L.) and diabetes mellitus, current knowledge and the way forward: A systematic review*. Complementary Therapies in Medicine, 2020. **48**: p. 102284.
35. Giordano, F., *ALLERGIE À LA PARAPHÉNYLÈNEDIAMINE: TEINTURES CAPILLAIRES ALTERNATIVES*. Progrès en Dermatologie-Allergologie-GERDA 2013, 2013: p. 47.
36. Chen, X.-Q., et al., *Green extraction using deep eutectic solvents and antioxidant activities of flavonoids from two fruits of Rubia species*. LWT, 2021. **148**: p. 111708.
37. Ford, L., C.M. Rayner, and R.S. Blackburn, *Degradation of lucidin: New insights into the fate of this natural pigment present in Dyer's madder (Rubia tinctorum L.) during the extraction of textile artefacts*. Dyes and Pigments, 2018. **154**: p. 290-295.
38. kohler-S, *Rubia tinctorum-des plantes médicinales* 1897.
39. Lotfi, R. and D. Zakarya, *L'éco-efficacité du recyclage d'un rejet de teinture végétale à la garance (Rubia tinctorum)*. Journal of Applied Biosciences, 2017. **111**: p. 10877-10881.
40. Djahafi, A., K. Taïbi, and L.A. Abderrahim, *Aromatic and medicinal plants used in traditional medicine in the region of Tiaret, North West of Algeria*. Mediterranean Botany, 2021(42): p. 23.
41. Chen, Y., et al., *Anti-thrombotic and pro-angiogenic effects of Rubia cordifolia extract in zebrafish*. Journal of Ethnopharmacology, 2018. **219**: p. 152-160.

42. Henderson, R.L., C.M. Rayner, and R.S. Blackburn, *Isolation and extraction of lucidin primeveroside from Rubia tinctorum L. and crystal structure elucidation*. *Phytochemistry*, 2013. **95**: p. 105-108.
43. Marhoume, F.Z., et al., *Anti-aggregant effect of butanolic extract of Rubia tinctorum L on platelets in vitro and ex vivo*. *Journal of Ethnopharmacology*, 2019. **241**: p. 111971.
44. Ford, L., et al., *Mild extraction methods using aqueous glucose solution for the analysis of natural dyes in textile artefacts dyed with Dyer's madder (Rubia tinctorum L.)*. *Journal of Chromatography A*, 2017. **1487**: p. 36-46.
45. <https://activilong.com/en/content/95->
46. *Teinture Végétale*.
47. Colorants naturels : sources, c., application et questions de durabilité and S. Feuille deroute pour des textiles et des vêtements durables , Singapour ( 2014) , pp. 37 - 80.
48. Bhuiyan, M.A.R., et al., *Color and chemical constitution of natural dye henna (Lawsonia inermis L) and its application in the coloration of textiles*. *Journal of Cleaner Production*, 2017. **167**: p. 14-22.
49. Berkem, *EXTRACTION VÉGÉTALE : le coeur de métier de Berkem; Une activité rigoureusement définie. .*
50. Moussaoui, F. and T. Alaoui, *CHEMICAL CONSTITUENTS AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF LEAVES EXTRACTS OF CISTUS LADANIFERUS (L)*. 2017.
51. Petrova, O. and K. Sauer, *High-Performance Liquid Chromatography (HPLC)-Based Detection and Quantitation of Cellular c-di-GMP*. 2017. p. 33-43.
52. Koffi N'GUESSAN 1 \*, B.K., Guédé N. ZIRIHI 1 and D.T.L.A.-A. , *Screening phytochimique de quelques plantes médicinales ivoiriennes utilisées en pays Krobou (Agboville, Côte-d'Ivoire)*. original, 2009. **6**: p. 1-15.
53. Khan, B.A., et al., *Preparation and properties of High sheared Poly(Vinyl Alcohol)/Chitosanblended Hydrogels films with Lawsonia inermis extract as wound dressing*. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 2021. **61**: p. 102227.
54. Moussaoui, F. and T. Alaoui, *CHEMICAL CONSTITUENTS AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF LEAVES EXTRACTS OF CISTUS LADANIFERUS (L)*. 2017.
55. Fahima Ali-RACHEDI\* (1.2), S.M., Nourhène TOUAIBIA (1) et Sabrina M, *Analyse quantitative des composés phénoliques d'une endémique algérienne Scabiosa Atropurpurea sub. Maritima L*. *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège*, 2018. **87**: p. 13-21.
56. Zhishen, J., T. Mengcheng, and W. Jianming, *The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals*. *Food Chemistry*, 1999. **64**(4): p. 555-559.
57. Kim, D.O., et al., *Quantification of polyphenolics and their antioxidant capacity in fresh plums*. *J Agric Food Chem*, 2003. **51**(22): p. 6509-15.
58. Kallo, M.S., et al., *Enquête ethnobotanique et criblage phytochimique de quelques plantes tinctoriales du Niger en vue d'une valorisation en énergie solaire*. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 2018. **12**(2): p. 867-883.
59. al., K.H.M.e., *Caractérisation phytochimique, activités biologiques et possibilité d'application dans la lutte biologique*. *Journal of new science* 2021. **83** (1).
60. Dengre, R.G., K.N. Patel, and M.B. Chauhan, *Comparative studies of rubia*

- cordifolia* linn. *And rubia tinctorum* linn (*rubiaceae*)(\*). *Ancient science of life*, 1993. **13**(1-2): p. 165-179.
61. Scorrano, G., *La chimica Italiana* 1896.
62. Bao, Y.-F., et al., *Antioxidant activities of cold-nature Tibetan herbs are significantly greater than hot-nature ones and are associated with their levels of total phenolic components*. *Chinese Journal of Natural Medicines*, 2015. **13**(8): p. 609-617.
63. Lemordant, D. and J.-P. Forestier, *Commerce et henné. Identification, contrôle, fraudes, additifs*. *Journal d'agriculture traditionnelle et de botanique appliquée*, 1983. **30**(3): p. 283-310.
64. CISSE, M., et al., *ETUDES ETHNOBOTANIQUE ET PHYTOCHIMIQUES DE LA POUDRE VEGETALE DE CHRYSANTHELLUM AMERICANUM (L.) VATKE (ASTERACEAE)*. *Revue Malienne de Science et de Technologie*, 2019(22): p. 11-17.
65. SELMI, H., et al., *Activités biologiques et potentiel nutritionnel de Rubia peregrina et Malva sylvestris chez les ovins et les caprins*. *Revue Marocaine des Sciences Agronomiques et Vétérinaires*, 2022. **10**(1).
66. Begaa, S. and M. Messaoudi, *Thermal neutron activation analysis of some toxic and trace chemical element contents in Mentha pulegium L*. *Radiochimica Acta*, 2018. **106**(9): p. 769-774.
67. Al-Snafi, A., *A review on Lawsonia inermis: A potential medicinal plant*. *International Journal of Current Pharmaceutical Research*, 2019. **11**(5): p. 1-13.
68. Fatima Zahra Marhoume 1, Rachida Aboufatima 3, Younes Zaid 4,5,6, Youness Limami 4,6, and Raphaël E. Duval 7, Jawad Laadraoui 2, Anass Belbachir 8,9, bderrahmane Chait 2 and Abdallah Bagri, *Antioxidant and Polyphenol Rich Ethanolic Extract of Rubia tinctorum L. Prevents Urolithiasis in an Ethylene Glycol Experimental Model in Rats*. *molecules*, 2021.
69. Snezana Agatonovic-Kustrina, Davoud Babazadeh Ortakanda, David W. Mortona, Ahmad P. Yusofb, *Rapid evaluation and comparison of natural products and antioxidant activity in calendula, feverfew, and German chamomile extracts*. *Chromatography*, 2015.
70. Fatima Zahra Marhoume 1, Rachida Aboufatima 3, et al., *Antioxidant and Polyphenol-Rich Ethanolic Extract of Rubia tinctorum L. Prevents Urolithiasis in an Ethylene Glycol Experimental Model in Rats*. *molecules*.
71. Yekefallah, M. and F. Raofie, *Production of herbal nanocolloids from Rubia tinctorum L. roots by rapid expansion from supercritical solution into suspension system*. *Industrial Crops and Products*, 2022. **176**: p. 114286.
72. Kumar, M., et al., *Chemical composition and inhibitory effects of water extract of Hennaleaves on reactive oxygen species, DNA scission and proliferation of cancer cells*. *EXCLI Journal*, 2016. **15**: p. 842-857.
73. Dhaouadi, K., et al., *Commercial Lawsonia inermis L. dried leaves and processed powder: Phytochemical composition, antioxidant, antibacterial, and allelopathic activities*. *Industrial Crops and Products*, 2015. **77**: p. 544-552.
74. a, K.H.M., et al., *Matricaria recutita L. : Phytochemical characterization, biological activities and possibility of application in biological control. Matricaria recutita L. : Caractérisation phytochimique, activités biologiques et possibilité d'application dans la lutte biologique*.

# Annexes

## Annexe 1 : Model de questionnaire pour l'étude ethnobotanique

## Questionnaire Plantes médicinales et phytothérapie

## استبيان النباتات الطبية و العلاج بها

Date التاريخ.....  
 Commune البلدية.....  
 Numéro de relevé رقم الكشف.....

## المخبر Informateur

Age السن.....

Situation familiale الوضع العائلي : Célibataire اعزب  Marié متزوج

Sexe الجنس : Masculin ذكر  Féminin مؤنث

Niveau académique المستوى الأكاديمي : Néant قليل  Primaire ابتدائي  Secondaire ثانوي  Universitaire جامعي

Localité المكان : Douar دوار  Village قرية  Ville مدينة  Nomade بدوي

Traitement médicinal العلاج الطبي : Médecine traditionnelle الطب القديم   
 Médecine moderne الطب الحديث  Les deux الاثنين

## Matériel végétal الجهاز النباتي

Nom vernaculaire الاسم العامي.....

Type de plante نوع العشبة : Sauvage بري  Cultivée مزروع  Adventice ضارة

Usage de la plante استعمال العشبة : Thérapeutique علاجي  Cosmétique تجميلي  Autres أخرى

Technique de la récolte تقنية الحصاد : Manuel يدوي  Mécanique ميكانيكي

Moment de la récolte وقت الحصاد (saison الفصل) : hiver الشتاء  automne الخريف   
 été الصيف  printemps الربيع  Tous les saisons كل الفصول

## Utilisation الاستعمال

Mode d'utilisation كيفية الاستعمال : Plante seule العشبة لوحدها  Association possible خليط   
 (مع الاعشاب de plantes) ممكن

État de la plante lors de l'utilisation حالة العشبة عند استعمالها : Fraîche جديدة

Desséché مجففة  Après traitement بعد معالجة

Si desséché, méthode de séchage في حالة التجفيف, ما هي الطريقة : .....

**Partie utilisée** الجزء المستعمل : Tige الساق  Fleurs الزهور  Fruits الفواكه   
 Graine البذور  Écorce القشرة  Rhizome الجذر  Bulbe البصلة  Feuilles   
 الاوراق  Plante entière العشبة كاملة  Autres combinaisons تركيبية اخرى

**Forme d'emploi** طريقة الاستعمال : Poudre مسحوق  Huiles essentielles زيوت اساسية   
 Huiles grasses زيوت دهنية  Extrait مستخلص (teinture صبغة , solution محلول , crème كريم )

**Mode de préparation** طريقة التحضير : A chaud بالحرارة  A froid بالبرودة   
 Autres اخرى

**Domaine d'utilisation** مجال الاستعمال : Thérapeutique علاجي  Cosmétique تجميلي   
 Alimentaire غذائي  Autres   
 اخرى.....

**Moment d'utilisation** وقت الاستعمال : Matin الصباح  Soir المساء  Nuit الليل

**Dose utilisée** الكمية المستعملة : Pincée قبضة اصبعين  poignée حفنة  Cuillerée ملعقة   
 Autres اخرى

**Précaution d'emploi** احتياطات الاستعمال : .....

**Méthode de conservation** كيفية الحفظ : A l'abri de la lumière بعيد عن الضوء  Exposé à la lumière معرض للضوء  Autres اخرى

## Traitement العلاج

**Diagnostic par** تشخيص : Lui-même نفس الشخص  Le médecin الطبيب  L'herboriste العشابي   
 Autres اخرى

**Durée de traitement** مدة العلاج : Un jour يوم  Une semaine اسبوع  Un mois شهر   
 Jusqu'à la guérison حتى الشفاء

**Résultats** النتيجة : Guérison شفاء  Amélioration تحسن  Inefficace بلا فائدة

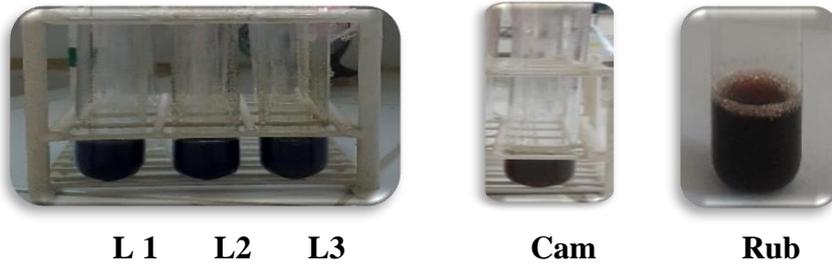
**Maladies traités par cette plante** الامراض المعالجة بهذه العشبة :

**Effet secondaires** الاثار الثانوية .....

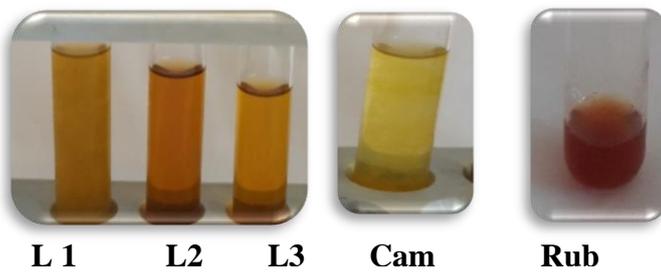
**Toxicité** السمية.....

**Annexe 2 : Détection chimique des substances dans les échantillons.**

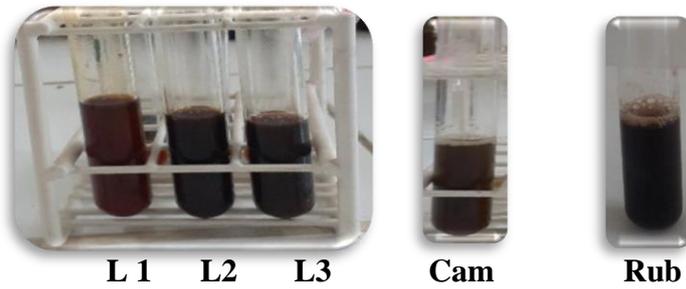
## 1. Polyphénols :



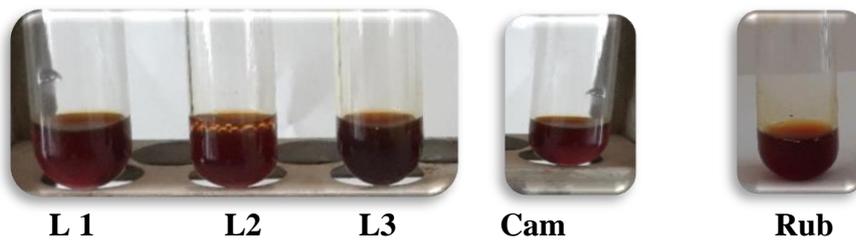
## 2. Flavonoïdes



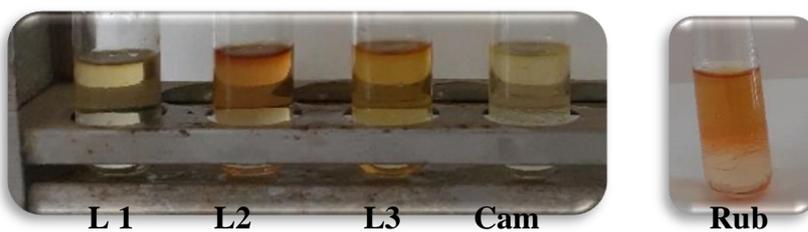
## 3. Tanin :



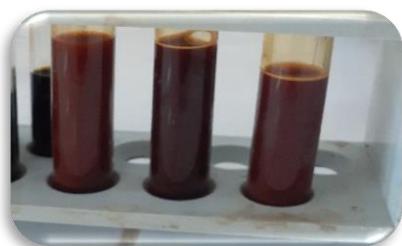
## 4. Alcaloïdes :



## 5. Terpénoïdes



## 6. Saponosides :



L 1    L 2    L 3

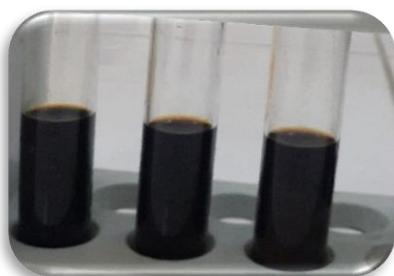


Cam



Rub

## 7. Anthraquinones :



L 1    L 2    L 3

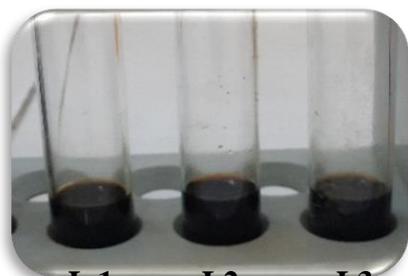


Cam



Rub

## 8. Quinone :



L 1    L 2    L 3

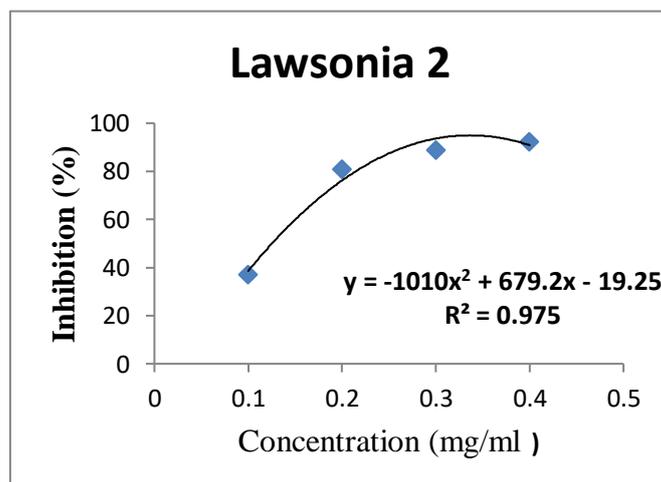
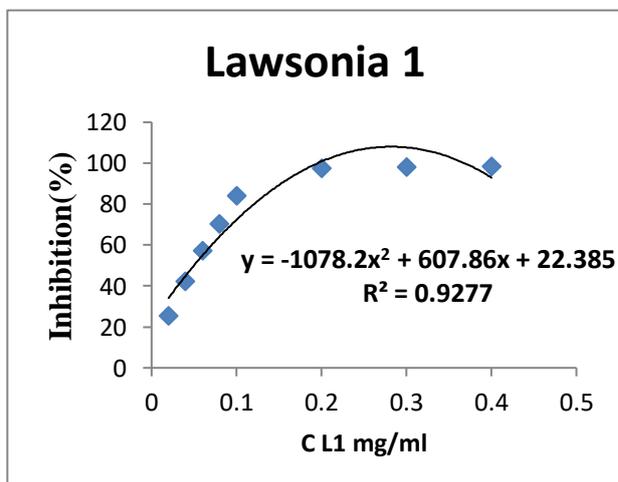


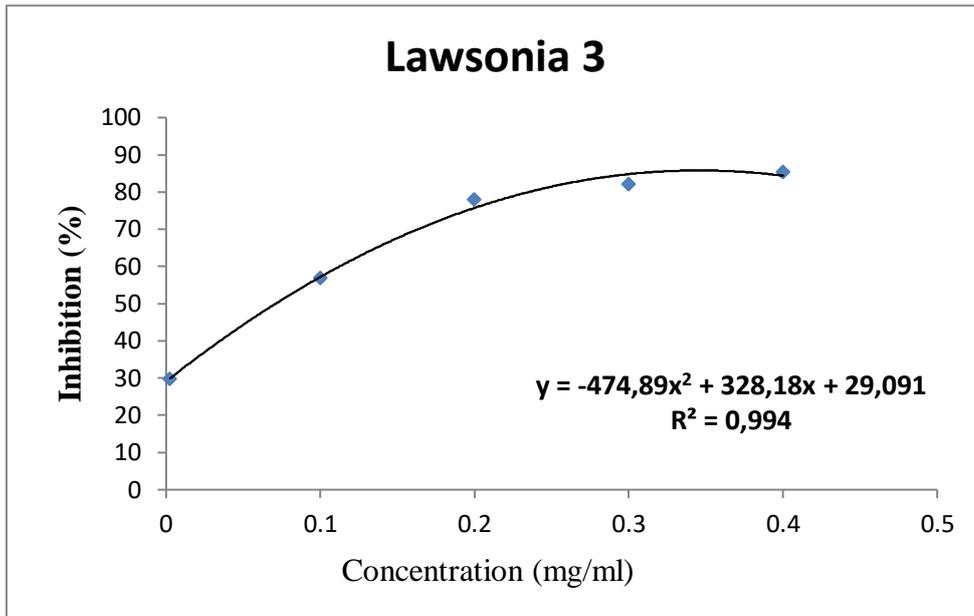
Cam



Rub

## Annexe 3 : l'activité anti-oxydante des échantillons Lawsonia inermis.





**Annexe 4** : les cheveux colorer après l'application





## Résumé

Cette étude consiste à caractériser d'un point de vue physico-chimique et biologique des plantes tinctoriales : *Lawsonia inermis L.*, *Rubia Tinctorum* et *Matricaria Chamomilla L.*, pour usage cosmétique. Le screening phytochimique a montré la présence des polyphénols, flavonoïdes, tanins, alcaloïdes, terpénoïdes, anthraquinones, quinones et présence des saponosides seulement pour la *Rubia* et la *Camomille*. La caractérisation quantitative des extraits a été obtenus par spectroscopie UV-V et HPLC. L'étude du pouvoir antioxydant des échantillons a donné des résultats intéressants. L'application des mélanges des différentes plantes étudiées sur des mèches de cheveux dans des conditions bien déterminées nous a permis d'établir une gamme de couleur variée.

**Mots clés :** *Lawsonia inermis L.* ; *Rubia Tinctorum* ; *Matricaria Chamomilla L.*, HPLC ; Teinture naturelle.

## Abstract :

This study consists in characterizing, from a physico-chemical and biological point of view, tinctorial plants: *Lawsonia inermis L.*, *Rubia Tinctorum* and *Matricaria Chamomilla L.*, for cosmetic use. Phytochemical screening showed the presence of polyphenols, flavonoids, tannins, alkaloids, terpenoids, anthraquinones, quinones and the presence of saponosides only for *Rubia* and *Chamomile*. The quantitative characterization of the extracts was obtained by UV-V spectroscopy and HPLC. The study of the antioxidant power of the samples gave interesting results. The application of mixtures of different plants studied on locks of hair under well-defined conditions allows us to establish a range of varied colors.

**Key words:** *Lawsonia inermis L.*; *Rubia Tinctorum*; *Matricaria Chamomilla L.*, HPLC; Natural dye.

## ملخص

تتكون هذه الدراسة من توصيف ، من وجهة نظر فيزيائية - كيميائية وبيولوجية ، نباتات صبغية: الحنة، البابونج، و القوة الصبغية لاستخدامها في مستحضرات التجميل. أظهر الفحص الكيميائي النباتي وجود البوليفينول ، الفلافونويد ، التانينات ، القلويدات ، التربينويدات ، الأنثراكينون ، الكينونات ووجود السابونوزيدات فقط للقوة الصبغية والبابونج. تم الحصول على التوصيف الكمي للمستخلصات بواسطة مطيافية UV-V و HPLC. أعطت دراسة القوة المضادة للأكسدة للعينات نتائج مثيرة للاهتمام. يسمح لنا تطبيق خليط من النباتات المختلفة التي تمت دراستها على خصلات الشعر في ظل ظروف محددة جيدًا بإنشاء مجموعة من الألوان المتنوعة.

**كلمات مفتاحية :** الحنة ؛ القوة الصبغية ، البابونج ، HPLC ؛ صبغة طبيعية.