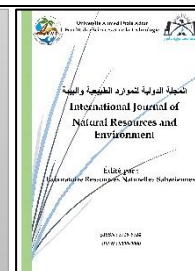




International Journal of Natural Resources and Environment

Journal home page: <https://ijnre.univ-adrar.dz>

ISSN 2710-8724



I
J
N
R
E

L'Effet antibactérien et antifongique d'huile essentielle des feuilles de

Moringa oleifera L.

Kamel Kaidi^{1*}, Ahmed Boulal², Abdelkader Meknassi³

¹ Laboratoire de Matériaux Catalytiques et Procédés Industriels (LMCPI). Département Sciences de la Nature et de la Vie.
Université Ahmed Draïa, Adrar. Algérie

² Laboratory of Saharan Natural Resources, Faculty of Science and Technology, University of Ahmed Draïa – Adrar 01000,
Algeria

³ Unité de Recherche en Energie Renouvelable en Milieu Saharien, URERMS - Centre de Développement des Energies
Renouvelables, CDER, 01000 Adrar, Algérie.

* Corresponding author: kamel.kaidi@yahoo.fr (K. Kaidi)

Article details: Received: 24 May 2023, Revised: 03 July 2023, Accepted: 04 July 2023

Résumé:

L'homme utilise des plantes médicinales et aromatiques depuis l'Antiquité pour soulager ses douleurs, ses maladies et essayer de les soigner en utilisant les plantes qui l'entourent. Il existe de nombreuses sources à partir desquelles les médicaments sont obtenus, dont les plus importantes sont des substances biologiquement actives extraites de plantes médicinales se développant naturellement, et une autre source qui est la synthèse de produits chimiques fabriqués dans les laboratoires et les sociétés pharmaceutiques. Avec le temps et en raison de l'utilisation continue de médicaments industriels, certaines maladies mortelles qui n'étaient pas connues auparavant sont apparues, telles que l'apparition de cancers malins et de nombreuses autres maladies résultant d'effets secondaires négatifs. C'est pourquoi nous avons discuté une étude visant à extraire les huiles essentielles de l'arbre *Moringa oleifera*, cultivé dans le sud-ouest de l'Algérie, "Adrar" par hydrodistillation. Nous avons obtenu un rendement de 0,12% et les résultats des analyses physico-chimiques sont conformes aux résultats des recherches dans ce domaine. Une étude de l'activité antibactérienne et antifongique a montré que l'huile aromatique affecte négativement les souches d'*Escherichia coli*, les souches fongiques et *Staphylococcus aureus*, qui sont résistantes à ce parfum.

Mots clés : *Moringa oleifera* ; antibactérienne; antifongique.

Abstract:

Man has been using medicinal and aromatic plants since Antiquity for his pains, his illnesses and tries to cure them using the plants that surround him. There are many sources from which drugs are obtained, the most important of which are biologically active substances extracted from naturally growing medicinal plants, and another source, which is the synthesis of chemicals produced in laboratories and pharmaceutical companies. Over time and due to the continuous use of industrial drugs, some deadly diseases, which were not known before, have appeared, such as the occurrence of malignant cancers and many other diseases resulting in negative side effects. This is why we imagined a study aimed at extracting essential oils from the *Moringa oleifera* tree, grown in the south-west of Algeria, "Adrar" by hydrodistillation. We obtained a yield of 0.12% and the results of the physico-chemical analyzes are in line with the results of research in this field. A study of antibacterial and antifungal activity showed that the aromatic oil negatively affects strains of *Escherichia coli*, fungal strains and *Staphylococcus aureus*, which are resistant to this scent.

Keywords: *Moringa oleifera* ; antibacterial; antifungal.

1. Introduction

Depuis longtemps l'homme reconnaît et utilise les plantes pour se nourrir et pour traiter diverses maladies. Selon l'Organisation mondiale de la santé, plus de 80% des populations africaines utilisent la médecine traditionnelle et la pharmacopée pour leur santé primaire soins (Ali-Rachedi et al., 2018 ; Mangambu et al., 2014).

Aujourd'hui encore, la science confirme les différentes vertus des plantes aromatiques, leurs huiles essentielles et leurs extraits bruts dont les domaines d'application sont très variés. En effet, elles sont très utilisées dans l'industrie alimentaire comme additifs, dans les cosmétiques, les parfumeries, les industries de savon et de détergents en volume impressionnant. Elles rentrent également dans la composition de plusieurs médicaments, sous forme de crèmes, gélules et suppositoires. Leur utilisation s'appelle "l'aromathérapie", qui consiste à utiliser les huiles essentielles pour le traitement de diverses manifestations pathologiques (Boulal et al., 2021 ; Yahyaoui, 2005).

Actuellement, les plantes aromatiques possèdent un atout considérable grâce à la découverte progressive des applications de leurs huiles essentielles dans les soins de santé ainsi que leurs utilisations dans d'autres domaines d'intérêt économique. Leurs nombreux usages font qu'elles connaissent une demande de plus en plus forte sur les marchés mondiaux. Ce travail réalisé au niveau du Laboratoire de URER/MS-Adrar, a pour objectif d'extraction des huiles essentielles des feuilles de *Moringa oleifera* cultivée dans la région d'Adrar-Algérie, effectuer les analyses physicochimiques et voir l'activité antimicrobienne et antifongique.

2. Matériels et Méthodes

2.1. Matériel végétal

Ces dernières années, l'intérêt des chercheurs s'est orienté vers le *Moringa oleifera* et cela se traduit par un nombre important de publications et de documents scientifiques. En effet, nous nous sommes intéressés à cette plante pour ses nombreuses vertus à savoir :

- La disponibilité de la plante végétale dans la région.
- L'adaptation de *Moringa* aux larges gammes de type de sols et de conditions climatiques.
- La rusticité remarquable et la croissance initiale très rapide avec une floraison dès la première année de plantation.
- Les multiples potentialités sociales, économiques, alimentaires et médicinales qu'occupe le *Moringa* dans la vie familiale de plusieurs régions.
- L'exploitation de toutes les parties du *Moringa* dans différents domaines à savoir : alimentation humaine et animale, thérapeutique, économique et surtout le domaine environnemental (reboisement, fumier, prévention des maladies des plantes et traitement des eaux).

2.2. Extraction des huiles essentielles

Les feuilles sont séchées à l'ombre pendant au moins 4-5 jours, L'extraction a été réalisée par hydrodistillation à l'aide d'un dispositif de type Clevenger. Avant l'emploi, l'appareil a été nettoyé à l'acétone puis rincé à l'eau distillée afin d'éliminer les poussières et les graisses probablement présentes dans l'appareil afin d'éviter toute contamination de l'huile au cours de l'extraction (Fig. 1). On fait chauffer la cocotte contenant de l'eau ainsi que l'espèce végétale dont on veut récupérer l'huile jusqu'à ébullition. Sous l'effet de la chaleur, les cellules végétales éclatent et libèrent leurs huiles, puis les vapeurs d'eau et d'huile vont s'élever pour atteindre un réfrigérant constitué de deux tubes : le premier dans lequel passe la vapeur pour se liquéfier et le second qui l'entoure et qui dispose d'une entrée et d'une sortie à travers lequel on fait circuler de l'eau à température ambiante en continu pour refroidir.



Fig. 1. Montage d'extraction type Hydrodistillation.

Après la récupération du distillat, On Verse le mélange dans une ampoule à décanter et laissez le mélange décanter, pour que les 2 phases se séparent bien et soient bien distinctes. L'huile essentielle apparaît alors sur le dessus car elle est moins dense que l'eau (densité de 0,89 pour l'huile essentielle de lavande contre 1 pour l'eau) (Fabre et al., 2013).

2.3. Analyses physicochimiques de l'huile essentielle

La détermination du rendement d'extraction est réaliser selon la norme AFNOR (NF ISO 695). L'Indice de réfraction et la densité est effectuée selon (Lion, 1995). La valeur du pH est mesurer par un pH-metre de marque HANNA HF-4480.

3. Résultats et Discussion

3.1. Résultats de la matière sèche et taux d'humidité des feuilles

Les pourcentages de l'eau et de la matière sèche que nous avons trouvés sont proches des résultats des travaux de Moussa (MS=27%, H= 73%) (Moussa et al., 2007) et aussi de Toury et al., (MS=26%, H= 74%) (Toury et al., 1963).

3.2. Les paramètres organoleptiques

Les paramètres organoleptiques de notre huile essentielle (aspect, couleur et odeur sont résumés dans le tableau suivant :

Tableau 1. Les caractères organoleptiques de l'huile essentielle.

Aspect	Couleur	Odeur
liquide	Jaune	Dégage une forte
limpide	pâle	odeur caractéristique

Les huiles essentielles sont habituellement liquides à température ambiante et volatiles, ce qui les différencie des huiles dites fixes, elles sont plus ou moins colorées (AFSSAPS, 2008).

L'hydrodistillation des feuilles de *Moringa oleifera* produit une huile essentielle de couleur jaune pâle (Tatiana et al., 2013).

3.3. Résultats physicochimiques de l'huile essentielle

3.3.1. Détermination du rendement d'extraction

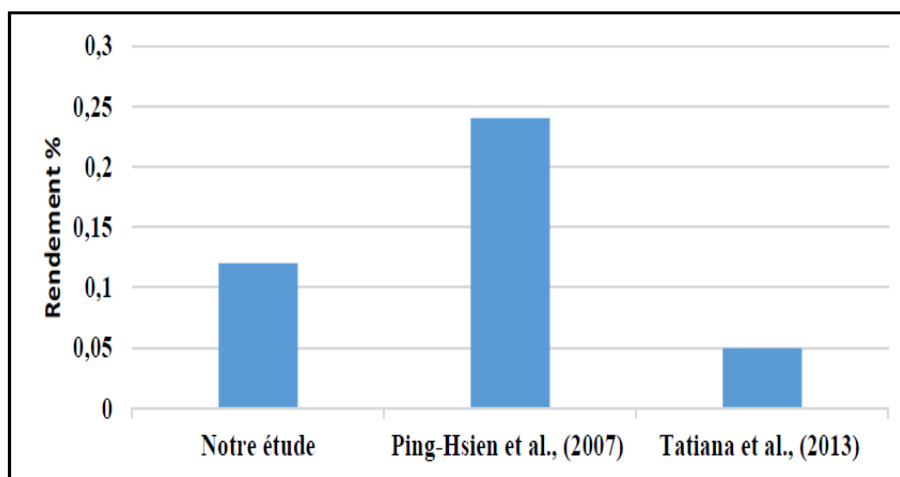


Fig. 3. Comparaison du résultat de rendement obtenu avec d'autres études.

Le rendement en huile essentielle des feuilles de *Moringa oleifera* obtenu est de l'ordre de 0.12%. Cette valeur est considérée comme faible comparée à celle obtenue par Ping-Hsien et al., qui est de l'ordre de 0,24% (Boulal et al., 2021 ; Ping-Hsien et al., 2007). Il est par contre supérieur au rendement obtenu par Tatiana et al., qui est de l'ordre de 0,05% (Tatiana et al., 2013), cette différence est due à plusieurs facteurs : l'origine géographique, les facteurs écologiques notamment climatiques (la température, l'humidité et les vents), le stade de la croissance, la période de cueillette, la conservation du matériel végétal et la méthode d'extraction (Granger et al., 1973 ; Rosua et al., 1987 ; Sefidkon et al., 2007). La lumière stimule aussi la production des huiles essentielles. Des études sur *Mentha piperita* L. montrent que l'obscurité diminue le rendement en huiles essentielles de 1,43 % à 1,09 %. De même, le pourcentage du menthol dans l'huile essentielle diminue de 61,8 % à 57,5 %. L'irrigation a un effet positif sur la croissance végétative. Il est démontré que l'insuffisance ou l'excès d'eau a un effet négatif sur le rendement en huiles essentielles. Le pourcentage de l'huile essentielle est passé de 1,4 % (pendant la période des jours longs) à 0,7 % (pendant la période des jours courts). La teneur en huiles essentielles dépend aussi du moment de la récolte. Les sommités fleuries et les feuilles doivent être récoltées pendant la floraison car 70% des huiles essentielles s'évaporent dans l'air après la floraison.

3.3.2. Résultats des paramètres physico-chimiques

Tableau 2. Résultats de quelque paramètre physico-chimique.

Indice de réfraction	Densité à 20°C	pH
1,4745	0.902	5,85

Généralement les huiles essentielles ont un indice de réfraction élevé et la plupart dévient la lumière polarisée (AFSSAPS, 2008). L'indice de réfraction dépend de la composition chimique qui augmente en fonction des longueurs des chaînes d'acides, de leurs degrés d'insaturation et de la température. Il varie essentiellement avec la teneur en monoterpènes et en dérivés oxygénés. Une forte teneur en

monoterpènes donnera un indice élevé. Pour certains auteurs, le faible indice de réfraction de l'huile essentielle indique sa faible réfraction de la lumière ce qui pourrait favoriser son utilisation dans les produits cosmétiques (Boulal et al, 2021 ; Salle et al., 1991).

La densité des huiles essentielles est général inférieure à celle de l'eau (AFSSAPS, 2008). La densité d'une huile essentielle constitue un critère très important pour évaluer sa qualité dans différents domaines (cosmétique, pharmacie, agroalimentaire, chimique, ...). Elle peut facilement donner un aperçu sur la naturalité du produit ainsi que les tentatives de fraudes et d'adultération (Salle et al., 1991).

On constate que le pH de notre huile essentielle est dans l'intervalle de pH des huiles essentielles qui se situe entre 4-6. Quand on sait que l'alcalinité favorise la prolifération bactérienne alors que l'acidité s'y oppose et la neutralise, on comprend aisément les propriétés antiseptiques et bactéricides des huiles essentielles et ça que nous allons voir dans l'étude d'activité antibactérienne et antifongique de notre huile. La détermination des propriétés physico-chimiques (densité, indice de réfraction...) est une étape nécessaire mais non suffisante pour caractériser les huiles essentielles. Ces paramètres sont influencés par les conditions édaphiques et climatiques ainsi que les conditions de culture des plantes, cela fait partie aussi de la complexité de la notion de chémotype (Boulal et al., 2019 ; Iwariet al., 2009).

3.4. Résultats de l'activité antimicrobienne

Nous avons eu recours à l'antibiogramme qui est une méthode biologique efficace pour déterminer directement l'effet antimicrobien de l'huile essentielle de *Moringa oleifera* sur les micro-organismes testés. Pour cela, la sensibilité des souches testées est estimée par la mesure des diamètres des zones d'inhibition.

3.4.1. Activité antibactérienne

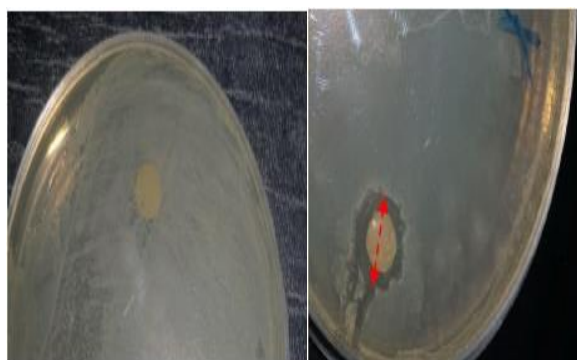


Figure 4. Résultat de **A:** *Staphylococcus aureus* et **B:** *Escherichia coli*

D'après les résultats obtenus, on observe qu'il y a des disques imbibés d'huile essentielle de *Moringa oleifera* sont entourés par des zones d'inhibition (absence de croissance microbienne) et d'autres disques ne sont pas entourés par des zones d'inhibition (croissance microbienne). Les résultats des tests antibactériens sont présentés dans le tableau 3.

Table 3. Les résultats des tests d'activité antibactérienne	
Les souches	Diamètre de zone d'inhibition (mm)
<i>Escherichia coli</i>	06
<i>Staphylococcus aureus</i>	00

Il est bien connu que les huiles essentielles et leurs composants présentent une meilleure efficacité antimicrobienne contre les bactéries à Gram positif. En raison de la composition de la membrane externe, l'huile essentielle peut modifier non seulement les structures mais pénétrer dans la cellule, conduisant à ces modifications, telles que la dénaturation des protéines et des enzymes, le "déséquilibre" du K⁺ et H⁺, jusqu'à la modification de l'ensemble de la morphologie des cellules, ce qui peut conduire à la mort du micro-organisme. Les composés phénoliques montrent généralement une bonne efficacité antimicrobienne contre les bactéries Gram positif, ils sont capables d'interférer avec les enzymes impliquées dans la production d'énergie, ils peuvent provoquer la dénaturation des protéines jusqu'à la modification irréversible de la cellule et la mort (Boula et al., 2021 ; Henouda et al., 2023 ; Iwari et al., 2009).

L'hydrophobie, typique des huiles essentielles, représente la principale propriété responsable de la distribution dans les structures bactériennes, principalement dans les bactéries Gram positif. Cet aspect est d'une importance réelle et utile : en effet, le rôle de la perméabilité de la barrière de la membrane cellulaire est indispensable pour de nombreuses fonctions cellulaires, y compris le maintien de l'état énergétique de la cellule, les processus de transduction d'énergie membranaires couplés, le transport de solutés et la régulation du métabolisme. Il est également essentiel de contrôler la pression de turgescence (Boula et al., 2020 ; Sikkema et al., 1995).

L'*Escherichia coli* à Gram négatif a été inhibé avec un halo d'inhibition de 06 mm. Le mécanisme d'action moléculaire de l'huile essentielle de *Moringa oleifera* est inconnu, mais il peut probablement inhiber la génération de l'adénosine triphosphate à partir de dextrose et de perturber la membrane cellulaire (Gill et al., 2004). La grande quantité d'hydrocarbures et la présence simultanée de la quercétine et la lutéoline pourraient également contribuer à inhiber l'ADN gyrase microbienne.

Inversement, le Gram positif *Staphylococcus aureus* est une souche résistante. Ce désaccord avec la littérature (Cailliet et al., 2006) qui a signalé une baisse de la teneur en ATP intracellulaire de *Staphylococcus aureus* et une baisse ultérieure de la croissance bactérienne dans la présence de l'huile essentielle d'origan. Probablement, la composition et la synergie entre les différentes biomolécules présentes dans *Moringa oleifera* huile essentielle a agi d'une manière différente (Tatiana et al., 2013).

3.4.2. Activité antifongique



Fig. 5. Résultat **A:** *Aspergillus Niger* et **B:** *Penicillium sp.*

Les résultats des tests sur la croissance mycélienne des champignons vis-à-vis de l'huile essentielle de *Moringa oleifera* sont présentés dans le tableau 4.

Tableau 4. Les résultats des tests d'activité antifongique.

souches	Diamètre de zone d'inhibition (mm)
<i>Aspergillus Niger</i>	04
<i>Penicillium sp</i>	07

L'huile essentielle de *M. oleifera* a montré différents degrés d'activité antifongique et une activité inhibitrice contre tous les champignons utilisés comme souches d'essai. Le *Penicillium sp* montre un halo d'inhibition de 07 mm. L'*Aspergillus niger* a été moins sensible à l'huile essentielle qui donne une zone d'inhibition de 04 mm.

La quantité élevée des hydrocarbures trouvés dans l'huile essentielle peut être responsable de l'activité antifongique (Caillet et al., 2006).

5. Conclusion

L'objectif de notre travail consiste à l'extraction de l'huile essentielle des feuilles de *Moringa oleifera* et faire des analyses physicochimiques et des tests antimicrobiennes.

L'hydrodistillation des feuilles sèches de *Moringa oleifera* nous a permis d'obtenir une huile essentielle liquide avec une couleur jaune pâle et une forte odeur caractéristique. Le rendement d'extraction obtenu est de l'ordre de 0,12% qu'est différent de résultats d'autres recherches. Cette déférence à cause d'influence des plusieurs facteurs climatique et technique.

Les analyses physico-chimiques effectuées sur les huiles essentielles ont donné des résultats identiques à celle des normes et de certains résultats des autres recherches.

L'activité antibactérienne et anti fongique ont donné les résultats suivants :

- La sensibilité d'*Escherichia coli* avec une zone d'inhibition de 06mm.
- La résistance de *Staphylococcus aureus*.
- La sensibilité des souches fongiques (*Aspergillus niger* avec une zone d'inhibition de 04mm et *Penicillium sp* avec une zone d'inhibition de 07mm).

Les huiles essentielles de *Moringa oleifera* pourraient être une source efficace d'agents antimicrobiens naturels polyvalents avec des applications potentielles, par exemple dans l'industrie pharmaceutique pour contrôler les différentes bactéries Gram positives et Gram négatives, également impliqués dans des maladies gastro-intestinales. L'évaluation de l'activité antimicrobienne d'huile essentielle de *Moringa* contre différents micro-organismes permettre la possibilité d'utilisé comme un désinfectant ou un conservateur naturel destiné à l'industrie alimentaire.

Références

- A. Boulal, A.E. Atabani, M.N. Mohammed, M. Khelaf, G. Uguz, S. Shobana, A. Bokhari, G. Kumar, "Integrated valorization of *Moringa oleifera* and waste *Phoenix dactylifera* L. dates as potential feed stocks for biofuels production from Algerian Sahara: An experimental perspective". *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology* vol. 20 :101234. 2019. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2019.101234>
- A. Boulal, S. Kalloum, H. Bekouche, K. Boulahya, "Microbiological treatment of domestic wastewater with *Moringa oleifera* seeds from the city of Adrar-Algeria". *Fascicula Biologie* vol. 27, n°2, Pp. 209-214. 2020.
- A. Boulal, A. Ouafiane, M. Oubiri, S. Ladjel, "Study of the antibacterial and antioxidant capacities of fixed oil of *Moringa oleifera* L. cultivated in the Southwest of Algeria". *Asian Journal of Dairy and Food Research*, vol. 40, n°4, Pp. 415- 421. 2021. <https://doi.org/10.18805/ajdfr.DR-219>

- AFSSAPS.**, Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé, "Recommandations relatives aux critères de qualité des huiles essentielles", Contribution pour l'évaluation de la sécurité des produits cosmétiques contenant des huiles essentielles. 2008
- A.O. Gill, R.A. Holley**, "Mechanisms of bactericidal action of cinnamaldehyde against *Listeria monocytogenes* and of eugenol against *L. monocytogenes* and *Lactobacillus sakei*. *Appl. Environm. Microbiol.*, vol 70 pp 5750–5755. 2004.
- B.K. Iwari, V.P. Valdramidis, C.P. Donnell, K. Muthukumarappan, P. Bourke and P.J. Cullen**, "Application of natural antimicrobials for food preservation", *J. Agric. Food Chem.*, vol 57 pp 5987–6000. 2009.
- C. Ping-Hsien, L. Chi-Wei, C. Jia-Ying, M. Murugan, S. Bor-Jinn and C. Hueih-Min**, "Anti-fungal activity of crude extracts and essential oil of *Moringa oleifera* Lam". *Bioresource Technology*, vol 98, pp 232–236. 2007.
- Fabre Chloé, Morel Justine et Ballu Théo**. Est-il possible d'obtenir des huiles essentielles par distillation à partir du four solaire et si oui, comment ?. Première scientifique 624, Année scolaire 2013-2014. Lycée Jacques de Vaucanson.
http://www.vaucanson.org/php5/Accueil/attachments/article/743/Distillation_four_solaire.pdf
- F. Ali-Rachedi, S. Meraghni, N. Touaibia, M. Sabrina**, « Analyse quantitative des composés phénoliques d'une endémique algérienne *Scabiosa Atropurpurea* sub. *Maritima* L ». *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège*, vol. 87, pp 13–21. 2018. doi: 10.25518/0037-9565.7398.
- F. Sefidkon, K., Abbasi Z. Jamzad and S. Ahmadi**, "The effect of distillation methods and stage of plant growth on the essential oil content and composition of *Satureja Rechingeri jamzad*". *Food chemistry*, vol 100, pp 1054-1058. 2007
- J.I. Salle and J. Pelletier**, « Les huiles essentielles, synthèse d'aromathérapie et introduction à la sympathicothérapie ». Ed. Frison-Roche, pp 19–45. 1991
- J.L. Rosua and A.G. Granados**, "Analyse des huiles essentielles d'espèces du genre *Rosmarinus* L. et leur intérêt en tant que caractère taxonomique ». *Plantes Médicinales et Phytothérapie*, XXI vol 2, pp 138–143. 1987.
- J. Sikkema, J.A.M. De Bont and B. Poolman**, "Mechanisms of membrane toxicity of hydrocarbons". *Microbiol Rev.*, vol 59 pp 201–222. 1995
- J. Toury, R. Giogi, J.C. Favier, J.F. Savina**, "Tables de composition des aliments de l'Ouest Africain". Dakar Orana. 1963.
- .M.J. Mangambu, D. De, K.F. Mushagalusa, N.J. kadima**, « Contribution à l'étude phytochimique de quelques plantes médicinales antidiabétiques de la ville de Bukavu et ses environs (Sud-Kivu, R.D. Congo) ». *Journal of Applied Biosciences*, Vol 75, pp 6211–6220. 2014.
- M.M.R. Granger, J. Passet and G. Arbousset**, « L'essence de *Rosmarinus officinalis*, influence du mode de traitement du matériel végétal ». *Parf. Cosm. Sav. France*, vol 3, pp 133–137. 1973.

- M. Tatiana, N. Filomena, F. Emilia, Florinda, C. Raffaele, D. Laura, B.A. Adelaide and D. Vincenzo,** « Chmical Composition and Biological Activity of the Essential Oil from Leaves of *Moringa oleifera* Lam Cultivated in Mozambique”. *Molecules*, 2013. ISSN 1420-3049.
- N. Moussa, W. Salimata, D. Nicole, T. Amadou, DG. Okhaya,** « Valeur nutritionnelle du *Moringa oleifera*, etude de la biodisponibilite du fer, effet de l'enrichissement de divers plats traditionnels Senegalais avec la poudre des feuilles », *African journal of food agriculture nutrition and development*, vol. 7, n°3. 2007
- N. Yahyaoui,** « Extraction, analyse et évaluation de l’effet insecticide des huiles essentielles de *Menthe Spicata* L. sur *Rhyzoperlhu dominicu* (F.) (Coleoptera, Bostrychidae) et *Tribonium confusm* (Duv.) (Coleoptera, Tenebrionidae) ", Thèse de Magister en sciences agronomiques, option Ecologie, INA, El-Harrach. 2005.
- Ph. Lion.** Travaux pratiques de chimie organique. Ed. Dunod, Paris. 1995
- S. Henouda, S. Karouche, A. Attou, A Boulal,** « Study of the effect of *Moringa oleifera* leaves powder in Southwestern Algerian diabetic patients: a pilot clinical trial”. *Revue Notulae Scientia Biologicae*. Vol. 15, n°2. Pp. 11554-11554.2023.
- S. Caillet, M. Lacroix,** “Effect of gamma radiation and ore-gano essential oil on murein and ATP concentration of *Listeria monocytogenes*”. *J Food Prot* vol 69 pp 2961–69. 2006.