

中文摘要

研究青蔥、紅蔥頭在體外試驗之抗氧化及抑菌能力。青蔥、紅蔥頭之水萃液及其精油顯著地延緩多層磷脂膜（微脂粒）及人類紅血球細胞膜的氧化（ $p < 0.05$ ），且濃度為 5 和 10 μM 紅蔥頭精油，於 75 $^{\circ}\text{C}$ 仍具有抗氧化能力（ $p < 0.05$ ）。青蔥及紅蔥頭精油皆能明顯的抑制四株食物感染菌：*Salmonella typhimurium* DT104、*Escherichia coli* O157:H7、*Listeria monocytogenes*、*Staphylococcus aureus* 及四株院內感染菌：MRSA、*Klebsiella pneumoniae*、*Pseudomonas aeruginosa*、*Acinetobacter baumannii*（ $p < 0.05$ ）的生長。研究顯示隨著青蔥、紅蔥頭水萃液及其精油的濃度增加，抗氧化及抑菌能力亦增加（ $p < 0.05$ ）。本研究結果認為青蔥及紅蔥頭精油可應用於食品系統，以增加食物中脂質及微生物的安定性。

關鍵字：紅蔥頭、青蔥、抗氧化、抑菌

英文摘要

In vitro antioxidant and antibacterial protection of shallot and scallion were examined. Water extract and oil of shallot and scallion significantly delayed lipid oxidation in multilamellar phosphatidylcholine liposomes and human RBC membranes ($p < 0.05$). Shallot oil at 5 and 10 μM showed marked antioxidant activity at 75°C ($p < 0.05$). Shallot and scallion oils significantly inhibited the growth of four food-borne bacteria, *Salmonella typhimurium* DT104, *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes* and *Staphylococcus aureus*, and four nosocomial bacteria, methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* ($p < 0.05$). All observed antioxidant and antibacterial activities were dose-dependent ($p < 0.05$). These results suggested the use of shallot and scallion oils in food systems could enhance lipid and microbial stability.

Keywords: shallot, scallion, antioxidant, antibacterial

壹、文獻探討 (Literature Review)

第一節、青蔥與紅蔥頭

一、青蔥

學名：*Allium fistulosum*

英名：Scallion, Welsh onion, Green onion, Bunching onion

俗名：青蔥、葉蔥、胡蔥、大蔥、蔥仔、菜伯、水蔥和事草、水晶管

原產地：中國北部及西伯利亞貝加爾湖一帶（李，1991）

簡介：

青蔥（Scallion）屬於蔥科（Alliaceae）植物，學名為 *Allium fistulosum*。屬名 *Allium* 取自於拉丁文的意思是“臭的、灼熱的、強烈的味覺”，而含有有機硫化合物是造成此特殊風味的主要因子。種名 *fistulosum* 原意為管狀中空的意思，也清楚地指出青蔥在植物學上的特徵（Tindall，1983）。青蔥為簇生型多年生草本植物，莖短縮呈盤狀，白色的葉鞘抱合形成棍狀假莖，也就是俗稱的「蔥白」。葉剛自葉鞘中長出來時是實心黃綠色的，長成後便成為中空圓筒狀，同時葉表面披覆著一層白色臘狀物質。中醫方面研究指出「蔥味辛性平。生用辛熱，能通竅散寒；熟用甘溫，能和中利氣，有解肌發冷、通陽利氣、去淤止血及消腫解毒的功效」（李，1994）

二、分蔥（紅蔥頭）

學名：*Allium ascalonicum* 或 *Allium cepavar ascalonicum*

英名：Shallot

俗名：紅蔥頭、珠蔥、油蔥、大頭蔥

原產地：亞洲西部（李，1991）

簡介：

分蔥（Shallot）屬於蔥科蔥屬多年生草本鱗莖植物，在本省大家都叫它「紅蔥頭」。分蔥是分蔥植珠完全成熟，上頭莖葉枯乾倒伏時，鱗莖長大為半結球狀而成。其為斜傾長囊形，長約3公分，分蘖力甚強，內外數個分立密生，表面覆有紅褐色薄膜，肉厚鱗片少，稍互生排列（黃，1978）。常食用具有調胃溫中、興奮、發汗、祛痰、利尿等療效。

第二節、脂質氧化及食物感染菌對食物的影響

一、脂質氧化對食物的影響

脂質氧化（autoxidation）是食品劣變（deterioration）的一個主要原因。氧化反應的發生是由於不飽和脂肪酸或含不飽和脂肪酸的油脂因輻射作用、助氧化劑或酵素的存在，而促使其與氧分子結合後，依序進行一系列的裂解及原子的重新排列組合，最後形成氧化產物。其中生成氫過氧化物，或由其分解成醛、酮等揮發性化學成分物質（張，

2001)。許多研究指出脂質氧化及其一級、二級氧化產物，對食品的味道、風味、顏色、構造、口感等造成許多不良的影響 (Forss, 1972；Sims, 1994；St Angelo, 1996；Dobarganes & Marquez, 2003)。

二、食物感染菌對食物的影響

(一)、食物感染菌

1. 鼠傷寒桿菌 DT 104 型 (*Salmonella typhimurium* DT104)

一般特性：革蘭氏陰性菌，具有鞭毛所以具運動性。耐酸，可保護菌體免受胃酸與吞噬體 (phagosome) 作用。生存於家禽、家畜、爬蟲類、嚙齒類、鳥類及人類體內 (王, 2000)。

感染途徑：動物與動物間之散佈及餵食被沙門氏菌污染之動物飼料是主要的動物傳染窩 (王, 2000)。人類經食用受污染的肉類或務農者常接觸被感染之畜養動物或飲用其未經妥善加熱處理的牛奶而感染此菌 (Poppe et al., 1998)。

2. 埃希氏大腸桿菌 O157:H7 (*Escherichia coli* O157:H7)

一般特性：革蘭氏陰性桿菌，具有週鞭毛所以具運動性，能醱酵葡萄糖產生酸。生存於人類及其它哺乳類動物之腸道中。此病原菌能分泌很強的毒素，嚴重可以致死 (蔡, 2002)。

感染途徑：經飲用和進食受污染的水、未煮熟或受污染的食物，例如：漢堡肉、烤牛肉、未經妥善加熱處理的牛奶、蔬菜、乳酪

等感染此菌而引起腸道傳染病。若個人衛生不佳亦會經口糞途徑在人與人之間傳播（蔡，2002）。

3. 李斯特菌 (*Listeria monocytogenes*)

一般特性：革蘭氏陽性桿菌，兼性厭氧，常呈串排列。於 25°C 具有運動性成翻滾狀；培養在半固定之運動培養基（motility medium）中，可呈現特殊的傘狀生長，是此菌最重要的鑑定依據。可在巨噬細胞、上皮細胞及培養的纖維母細胞中生長，所有的致病菌種都會產生 β 溶血素〔稱之為李斯特菌溶血素（Listeriolysin）〕（蔡，2002）。

感染途徑：未經妥善加熱處理的乳製品、沒煮熟的肉類、生菜及冷盤。

4. 金黃色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*)

一般特性：革蘭氏陽性球菌，不產生芽孢，沒有鞭毛，故不具運動性。適合生長的溫度為 6.5~45°C，pH 值為 4.2~9.3，細菌本身不具耐熱性，但約 30~50% 可產生腸毒素（enterotoxin）且其耐熱性佳（王，2000）。

感染途徑：受污染的火腿、肉類加工品、乳製品、魚貝類、生菜沙拉、便當等食品，亦會附著於化膿的傷口，於食物製備時經人體而污染食物（王，2000）。

(二)、食物感染菌對食物的危害

食物中有許多有機化合物能被各種微生物分解，而產生不同的化學變化，造成食物氣味、外觀及口感等的變化，例如：食物腐敗（putrefaction）即是蛋白質或胺基酸被微生物嫌氣性分解，使產生惡臭及含硫化合物（陳，1992）。許多研究指出 *Salmonella typhimurium* DT104、*Escherichia coli* O157:H7、*Listeria monocytogenes* 容易污染肉類，會影響肉類食品的品质並使安全性降低（Dorsa et al., 1998; Cutter, 2000; Nissen et al., 2000），人若誤食被微生物污染的食物則會引起許多不舒服的症狀及疾病。

第三節、脂質氧化及院內感染菌對住院病人的影響

一、脂質氧化對人的影響

許多研究指出自由基於體內的氧化會造成糖尿病、癌症、動脈粥狀硬化、心血管等疾病（Fabryova & Cagan, 1995; Holvoet, 1999; Vendemiale et al., 1999; Brozmanova et al., 2001），這其中細胞膜不飽和脂肪酸是最常發生氧化的地方（Borst et al., 2000），而脂質氧化產生之氧化物，如：乙烷、戊烷以及一些醛類（ex: Malondialdehyde; MDA），會快速分解產生其他不安定的物質。脂質氧化不只會破壞脂質，也會造成細胞膜上蛋白質（ex: 接受體、酵素）的破壞（Stadtman et al., 1991）。紅血球細胞膜的氧化會造成膜上脂肪酸分解，甚至降低

膜上蛋白質的安定性，影響膜的流動性（Huang et al., 2000）。另外，也有研究指出第二型糖尿病、洗腎患者之紅血球細胞膜脂質安定性差，易於氧化（Srouf et al., 2000）。

二、院內感染菌對住院病人的影響

（一）、院內感染菌

1. 對甲氧苯青黴素有抗藥性之金黃色葡萄球（methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*；MRSA）

一般特性：大致同 *Staphylococcus aureus*。但因人類長期使用抗生素 methicillin 抑制此菌，致使此菌對此抗生素產生抗藥性（Hewitt et al., 1969）。

感染途徑：經醫護人員之雙手、醫院環境、醫療設備傳給病患，或可經由醫院轉診而造成醫院間交叉傳染。常發生於長期使用廣效性抗生素、長期住院、褥瘡及留置侵入性動靜脈插管等人。此菌常造成皮膚、眼部等感染，嚴重可導致菌血症（蔡，2002）。

2. 克雷伯氏菌（*Klebsiella pneumoniae*）

一般特性：革蘭氏陰性桿菌，腐生、不具運動性，常存於水源及腸道中。在培養基上生長的菌落很大、高突，因產生細胞外黏液而呈現黏液樣（蔡，2002）。

感染途徑：平時存在腸道中對健康人體並無危害，但一旦進入血液中，很容易侵犯肝臟，造成肝膿瘍；患者會出現發燒、咳嗽、血壓不穩、心跳快、呼吸喘、腹痛、白血球上升等症狀。易引起老年人、酒精中毒者、肺支氣管炎患者及糖尿病病人之肺炎及敗血症，亦可引起尿道感染（蔡，2002）。

3. 綠膿桿菌 (*Pseudomonas aeruginosa*)

一般特性：葡萄糖非醱酵性、革蘭氏陰性桿菌，有 1 至數根端鞭毛，因此具運動性。此菌為假單胞菌屬 (*Pseudomonas*) 中唯一可產生綠膿青素 (pyocyanin) 之菌種。此外亦可產生水溶性螢光色素，可用伍德氏紫外燈 (Wood's light) 偵測。只要溼度適合，可在任何地方生長。一般常污染呼吸輔助器、潮濕瓶、地板、浴罐、水龍頭等（蔡，2002）。

感染途徑：能伺機感染任何部位，如燒傷處傷口、角膜、尿道及肺部等，並引起細菌性心內膜炎及腸胃炎。引起敗血症，死亡率超過 80% ，引起肺炎死亡率甚高，尤其是白血病患者（蔡，2002）。

4. 靜止桿菌 (*Acinetobacter baumannii*)

一般特性：葡萄糖非醱酵性、革蘭氏陰性桿菌，喜好潮濕，但也可在乾燥、無生命的環境中存活。廣泛存在於大自然環境，例

如：水、土壤及食物或人體的皮膚、口腔、上呼吸道及下腸胃道中（Rello, 1999）。

感染途徑：其感染與醫療器材有關，例如：靜止桿菌所引起之院內性肺炎感染與室內加濕器或蒸氣器之裝置有關；靜止桿菌之院內敗血症導因於靜脈導管的使用。其危險因子包括：重大手術後、燒傷、使用各種侵入性設備以及使用類固醇等，若有嚴重潛在性疾病，如慢性肺部疾病、長期住院、重症病患等，其罹病率及死亡率皆增加（蔡，2002）。

（二）、院內感染的成因與影響

醫院環境、醫護人員的行為、病患本身的狀況、住院時間長短以及醫療行為的進行等都是造成院內感染的因子（蘇，2002）。而病人常服用廣效性抗生素，將原本大量存在的正常菌群殺死，易使另一些少量存在的菌群過度繁殖而引起感染（蔡，2002）。於行政院衛生署疾病管制局公佈「91 年第一、二、三季醫學中心加護中心院內感染菌種趨勢分析（排名前 15 名）」中，*Acinetobacter baumannii* 是主要造成院內感染的病原菌，其次是 *Escherichia coli*、*Staphylococcus aureus*、*Pseudomonas aeruginosa*、*Klebsiella pneumoniae*。研究指出院內感染菌的危害會造成住院病人罹病率及死亡率的增加並會增加醫療資源的浪費及成本的支出（Lark et al., 2001）。

第四節、蔥屬植物的抗氧化能力

蔥屬植物種類繁多，依 Agardh(1985)將之分類共有 30 屬(genus)約有 600 多種(species)。但只有一部分可當食用蔬菜或調味辛香料，其中國人較常食用或做為辛香料的包括有大蒜(garlic; *Allium sativum* L.)、青蒜(green garlic; *Allium sativum* L.)、青蔥(scallion; *Allium fistulosum* auct.)、洋蔥(onion; *Allium cepa* L.)、紅蔥頭(shallot; *Allium ascalonicum* L.)、韭菜(Chinese leek; *Allium odorum* L.)、韭菜花(Chinese chive; *Allium tuberosum* Rottler)等蔥屬植物(吳, 1987)。先前許多研究指出大蒜、洋蔥具有抗氧化的功能(Yang et al., 1993; Cao et al., 1996; Yin & Cheng, 1998)。已知蔥屬植物之油溶性成分主要是 Diallyl sulfide (DAS)、Diallyl disulfide (DADS) ... 等有機硫分子化合物(Block et al., 1985)，這些含硫化合物被證實在酵素性或非酵素性系統中皆具有抗氧化性(Dwivedi et al., 1996; Liu et al., 2000; Yin et al., 2002b)。本實驗室先前的研究也證實大蒜、韭菜精油抗氧化之能力(廖, 2000)，青蔥及紅蔥頭亦為蔥屬植物之成員，但卻很少有相關文獻研究其抗氧化能力。

第五節、蔥屬植物的抑菌能力

蔥屬植物之抑菌作用一直被廣泛的注意，先前許多研究指出大蒜具有抗菌的功能，其含硫成分 DAS、DADS... 等亦證實具有抑制

Helicobacter pylori、*Pseudomonas aeruginosa*、*Klebsiella pneumoniae*、
(O’Gara et al., 2000；Tsao & Yin, 2001a、b) 的功效。本實驗室先前
也證實許多蔥屬植物具有抑菌能力，如：蒜仁、蒜白、蔥白、蔥綠等
對黑麴菌、白色念珠菌抑制能力(張, 1996)；七種蔥屬植物：大蒜、
青蒜、青蔥、洋蔥、韭菜、韭菜花、紅蔥頭對黃麴菌、薰煙色麴菌抑
菌效果(汪, 1998)；大蒜、韭菜精油對 *Staphylococcus aureus*、MRSA、
三種黴菌及念珠菌的抑制能力 (Taso & Yin, 2001a)；大蒜精油及其
四種含硫化合物對 *Pseudomonas aeruginosa*、*Klebsiella pneumoniae* 的
抑制能力 (Taso & Yin, 2001b)；大蒜精油及其水萃液、含硫化合物
對腸內菌抑菌能力 (Yin et al., 2002a) 等。青蔥及紅蔥頭亦為蔥屬植
物之成員，但卻很少有相關文獻研究其抗菌效果。

第六節、研究目的

食物中脂質的氧化及細菌污染會影響食物的品質且縮短食物的保存期限。另外，脂質氧化及院內感染菌的感染會增加病人的罹病率及死亡率，因此，本研究主旨在了解青蔥與紅蔥頭水萃液及其精油抗脂質氧化及抑菌的效果。在抗脂質氧化的部分，以微脂粒及人類紅血球細胞膜檢測青蔥、紅蔥頭水萃液及其精油的抗氧化能力；在抑菌的部分，分別使用食物感染菌 *Salmonella typhimurium* DT104、*Escherichia coli* O157:H7 等及院內感染菌 *Pseudomonas aeruginosa*、*Klebsiella pneumoniae* 等研究此兩種可食植物的抑菌能力。

貳、材料與方法：

一、實驗材料：

(一) 實驗使用的植物

青蔥(scallion) 學名 (*Allium fistulosum auct.*)

紅蔥頭(shallot) 學名 (*Allium ascalonicum L.*)

以上實驗之食用植物皆直接購自佑全青菜批發商(台中，大里)。

(二) 菌種

1. 對甲氧苯青黴素有抗藥性之金黃色葡萄球菌

(methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* ; MRSA)

2. 克雷伯氏菌 (*Klebsiella pneumoniae*)

3. 綠膿桿菌 (*Pseudomonas aeruginosa*)

4. 靜止桿菌 (*Acinetobacter baumannii*)

以上四株病原菌分離自被感染的病人(中山醫學大學附設醫院)。分離後的菌株參考 Vitek (Vitek AMS ; BioMerieux Vitek, inc., Hazelwood, MO) 及 API 20E (API-BioMerieux, La Balme Les Grottes, France) 方法確認菌株種類。

5. 鼠傷寒桿菌 DT 104 型 (*Salmonella typhimurium* DT104)

6. 埃希氏大腸桿菌 O157:H7 (*Escherichia coli* O157:H7)

7. 李斯特菌 (*Listeria monocytogenes*)

8. 金黃色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*)

以上四株菌均購自食品工業發展研究所菌種保存中心(台灣，新竹)。

(三) 化學試藥

1. Methanol (CH_3OH): 美國 TEDIA 公司

2. Dichloromethane (CH_2Cl_2): 美國 TEDIA 公司

3. Chloroform (CHCl_3): 美國 TEDIA 公司

4. Lecithin: 日本和光化學純藥公司

5. 氮氣: 99.9% , 吉源行有限公司

6. Potassium dihydrogenphosphate (KH_2PO_4): 99.0% , 日本和光化學純藥公司

7. Disodium Hydrogenphosphate 12-water ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$): 99.0% , 日本和光化學純藥公司

8. Sodium Hydroxide (NaOH): 93% , 日本昭和化學公司

9. Hydrochloride acid (HCl): 12 N , 日本和光化學純藥公司

10. Bovine Albumin : 96.0% , 美國 SIGMA 公司

11. Cupper (II) Sulfate Pentahydrate ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$): 99.5% , 日本和光化學純藥公司

12. Trisodium Citrate Dihydrate ($C_6H_5Na_3O_7 \cdot 2H_2O$): 99.0% , 日

本和光化學純藥公司

13. Sodium Carbonate Anhydrous (Na_2CO_3): 99.0% , 聯工化學廠

股份有限公司

14. Folin-Ciocalten phenol reagent : 德國 MERCK 公司

15. Ferrous Sulfate ($FeSO_4 \cdot 7H_2O$): 99.0% , 日本和光化學純藥

公司

16. Trichloroacetic acid : 99% , 英國 Lancaster 公司

17. 2-Thiobarbituric acid : 98% , 美國 SIGMA 公司

(四) 培養基

1. Nutrient broth : 美國 DIFCO 公司

特性 : 適合各式微生物生長

2. Nutrient agar : 美國 DIFCO 公司

特性 : 適合各式微生物生長

先前研究 (Taso 及 Yin, 2001a, b) 指出此培養基適用於院內感

染病原菌的培養。

3. Trypticase soy broth : 美國 DIFCO 公司

特性 : 適合各式微生物生長

Cutter 等人 (2000) 指出此培養基適用於 *S. typhimurium* DT104、

E. coli O157:H77、*L. monocytogenes* 食品感染菌的培養。

4. Rambach agar，德國 MERCK 公司

特性：可區別出沙門氏菌

5. McConkey Sorbitol agar，美國 DIFCO 公司

特性：可隔離區別出腸道感染性 *Escherichia coli*

6. Oxford agar，美國 DIFCO 公司

特性：可隔離區別出李斯特菌

7. Mannitol salt agar，美國 DIFCO 公司

特性：可隔離區別出感染性葡萄球菌

(五) 儀器設備

1. 減壓濃縮機 (Rotary Vacuum Evaporator)：EYELA，Japan

2. 酸鹼測定儀 (pH meter)：SUNTEX，SP-701，Taiwan

3. 螺旋震盪器 (Orbitron Rotat)：KS，OS701，Taiwan

4. 恆溫水浴槽 (Immersion Water Bath)：捷達公司，BT-150，Taiwan

5. 超音波細胞均質破碎機 (High Intensity Ultrasonic Liquid Processors)：SONICS，VCX-750，USA

6. 離心機：① HERMLE，Z-200A，Germany

② HITACHI，MIKRO 12-24，Japan

7. 高速離心機：HITACHI，CR21，Japan

8. 分光光度計 (Spectrophotometer) :
 - ① METERTEK SP-850, 進基儀器公司
 - ② JASCO, V-500, Japan
9. 恆溫培養箱 (Incubator) : KS-31, 光勝有限公司
10. 高溫高壓滅菌釜 (Autoclave) : YTM-B, 永大明儀器公司
11. 菌落計數器 (Cloning counter) : SUNTEX, 570, Taiwan
12. 相位差顯微鏡 (Phase-contrast microscope) : Diophot, TMD, Nikon, Japan

二、實驗方法：

(一) 青蔥、紅蔥頭水萃液製備

新鮮的植物原料取可食部份 50 g, 先後以自來水及 ddH₂O 洗淨瀝乾, 切成約 0.5 cm 細末以研鉢搗碎, 利用無菌紗布濾取汁液, 接著以孔徑 0.22 μm 濾紙過濾, 以無菌瓶收集濾液並儲存於 4°C 冰箱備用。

(二) 青蔥、紅蔥頭精油製備

精油製備的方法參考 Taso 及 Yin (2001b) 的方法, 每次取新鮮的植物原料約 500 g 加少量的蒸餾水於攪拌機中打碎, 以體積 1:1 之比例加入等量的甲醇 (Methanol) 充分攪拌兩小時, 並靜置於室溫

下二十四小時。以無菌紗布過濾殘渣，再以體積 1：1 之比例加入等量的二氯甲烷(Dichloromethane；DCM)充分攪拌兩小時後，以分液漏斗分層。收集下層（DCM 層）後，於真空減壓濃縮裝置萃取，即可得到精油。精油萃取率為 2.4~3.5 g oil/kg 紅蔥頭；1.3~2.7 g oil/kg 青蔥，製備後儲存於-80°C 冰箱備用。

（三）微脂粒的製備（Liposomes preparation）

微脂粒（Liposomes）（multilamellar vesicles）製作係依據 Liao 及 Yin（2000）的方法，將 1 g 卵磷脂（Lecithin）溶於 10 ml 溶劑（Methanol：Chloroform=3：2）當作 stock solution 保存於褐色瓶中。取 2 ml stock solution 加入 100 ml 圓底燒瓶，再加入 10 ml 溶劑（Methanol：Chloroform=3：2），靜置室溫下 5 分鐘待其分散均勻後，以氮氣（99.9%）吹乾形成半通透均勻脂膜，加入 20 ml 磷酸鈉緩衝溶液（0.05 M phosphate buffer saline，PBS，pH=7.2）及 12-15 顆直徑 5 mm 的小玻璃珠（glass bead）於 4°C 震盪 1 小時將微脂粒懸浮，所有樣品製備後，分別培養於 25, 50, 75°C 並進行氧化測定。

（四）人類紅血球細胞膜的製備（Erythrocyte membrane preparation）

人類血液取自於健康的中山醫學大學（台灣，台中）研究生，人類紅血球細胞膜製備係依據 Virgili 等人（1996）的方法，將 15 ml 血

液加入 150 ml 等張性磷酸鈉緩衝溶液 (10 mM PBS, pH=7.2) 稀釋後離心 (3000 rpm, 10 分鐘, 4°C), 取 pellet 加入等量的 PBS (10 mM, pH=7.2), 重複三次洗滌及離心的過程可分離出紅血球。利用低張性磷酸鈉緩衝溶液 (5 mM PBS, pH=8.2) 破裂紅血球使形成空細胞膜 (membrane ghost), 再重複兩次洗滌及離心的過程, 分離出不含有血紅素的 pellet, 最後空細胞膜再以磷酸鈉緩衝溶液於 37°C 培養 10 分鐘使懸浮。紅血球細胞膜的蛋白質濃度係依據 Lowry 等人 (1951) 的方法, 以胎牛血清白蛋白 (bovine serum albumin) 作為蛋白質定量的標準。利用 PBS (0.05 M, pH=7.2) 將不同處理組的細胞膜蛋白質濃度稀釋至 2 mg/ml, 培養於 37°C 並進行氧化測定。

(五) 試劑處理 (Antioxidants treatments)

為比較各別的抗氧化活性, 青蔥、紅蔥頭精油濃度皆為 5 及 10 μ M, 並以礦物油作為控制組。由於試驗材料為油溶性, 礦物油、青蔥精油、紅蔥頭精油於製備 liposome 時與溶劑 (Methanol: Chloroform = 3:2) 一同加入, 使精油可以包在 liposome 中進行氧化測定。同樣的, 須先將這三種油溶於溶劑 (Methanol: Chloroform = 9:1) 後, 加入已定量蛋白質的紅血球細胞膜溶液中進行氧化測定。在紅血球細胞膜脂質氧化測定中, 溶劑 (Methanol/Chloroform) 對紅血球細胞膜氧化並無顯著性的影響。青蔥、紅蔥頭水萃液的部分, 以 ddH₂O 作

為控制組，直接加入 liposome 或紅血球細胞膜的 PBS 中即可。在這個實驗結果中，三組控制組礦物油、溶劑 (Methanol/Chloroform)、ddH₂O 有相似的氧化結果 ($p > 0.05$)；因此，ddH₂O 可作為圖一的控制組，礦物油可作為表一的控制組。

(六) 脂質氧化測定 (Lipid oxidation measurement)

依據 Yin 等人 (1993) 利用 Thiobarbituric acid (TBA) assay 於不同時間點進行 Liposome 脂質氧化的測定。測驗的起始點，於試管中添加 0.1 ml 的 50 μ M FeSO₄ 誘發脂質的氧化，取 1 ml 的試液與 1 ml 30% trichloroacetic acid (TCA) 混合均勻後離心 (10000 rpm, 5 分鐘, 4°C)，取 1 ml 的上清液加上 1 ml 的 0.02 M thiobarbituric acid (TBA) 混合均勻，置於暗室 25°C，20 小時後，以 UV-Vis 分光光度計於 532 nm 波長測其吸收值，將此吸光值直接定為 TBA 值。TBA 值愈高表示樣品的脂質氧化程度愈高。依據 Jain 等人 (1989) 利用測量 malondialdehyde (MDA) 含量 (nmole/ml) 進行紅血球細胞膜脂質氧化的分析。取 1 ml 的紅血球細胞膜溶液與 0.5 ml 30% trichloroacetic acid (TCA) 混合均勻並置於冰上 2 小時後，離心 2000 rpm 15 分鐘 (4°C)，取 1 ml 的上清液加上 0.25 ml 的 1% thiobarbituric acid (TBA, 內含 0.05N NaOH) 混合均勻，於 100°C 沸騰的水中煮 15 分鐘，利用 UV-Vis 分光光度計於 535 nm 波長測其吸光值，經換算可得每毫升的

紅血球細胞膜中 MDA 含量 (nmole/ml)。測試實驗中使用於製備 liposome 的卵磷脂及紅血球細胞膜的脂質穩定度，卵磷脂 TBA 值 ≤ 0.01 ，紅血球細胞膜 MDA ≤ 1 nmole/ml，方使用於本實驗。

(七) 培養基的製備方式

依瓶上標示秤取適當量之 nutrient agar、Rambach agar、McConkey sorbitol agar、Oxford agar、mannitol salt agar 粉末，分別溶解於 1 L 之 ddH₂O 中，充分攪拌 10~20 分鐘，以高溫高壓滅菌釜 121°C 滅菌 30 分鐘後，靜置冷卻到 50°C，分別倒入約 20 ml 於無菌培養皿 (90×150mm) 中，靜置冷卻後倒置，並置於 4°C 中冷藏保存備用。

(八) 標準菌液的製備

將已確認菌株種類的 4 株院內感染菌 MRSA、*K. pneumoniae*、*P. aeruginosa*、*A. baumannii* 及 4 株食品感染菌 *S. typhimurium* DT104、*E. coli* O157:H77、*L. monocytogenes*、*S. aureus* 分別培養在 nutrient broth 及 Trypticase soy broth 中，並置於 37°C 恆溫培養箱培養 18 小時後，參照 National Committee for Clinical Laboratory standards (NCCLS, 1999) 所訂定之方法，以無菌水稀釋細菌懸浮液，經菌落計數器計數及顯微鏡下選取 n=5 格子測定，定標準細菌懸浮液的菌量為 6 log CFU/ml。

(九) 抑菌效果的分析 (Antibacterial assay)

在無菌離心管中以無菌水稀釋植物萃取液 (包括青蔥、紅蔥頭的水萃液或精油) 至特定濃度 (5 及 10 μM) 體積共 900 μl ，每管再分別加入 100 μl 菌液，另做一組以 100 μl 無菌水代替菌液的控制組，以確定實驗與培養過程中青蔥、紅蔥頭水萃液及其精油與培養基是否有被污染。將每管震盪混合後，分別置於 25 或 37°C 培養箱。各別於不同時間點，取 100 μl 的菌液至培養基中，利用無菌玻棒將試液塗抹均勻，倒置於 37°C 培養箱培養 18 小時後，利用菌落計數器計算培養基上的菌數，單位以 log CFU/ml 表示。

(十) 統計分析

實驗中每一試驗皆採五重複分析，微脂粒抗氧化及菌數分析數據以平均值正負標準差表示，數值結果以 SAS 統計軟體 (SAS Institute, Inc., 1990) 之 ANOVA (one-way analysis of variance) 進行分析，並以 p 值小於 0.05 表示具有統計上的差異。

參、結果：

在 liposome 氧化系統中，青蔥、紅蔥頭水萃液及精油對於 Fe^{2+} 所誘發的脂質氧化與控制組相比皆有顯著延緩脂質氧化的效果，且隨著濃度的增加，抗氧化效果顯著的增加 ($p < 0.05$)。青蔥、紅蔥頭精油無論在 50 或 75°C 培養下皆能延緩脂質的氧化 ($p < 0.05$) (表一)。在人類紅血球細胞膜氧化系統中，青蔥、紅蔥頭水萃液及精油明顯減少 MDA 值 ($p < 0.05$) (圖一)，且抗氧化效果隨著濃度增加而增加 ($p < 0.05$)。

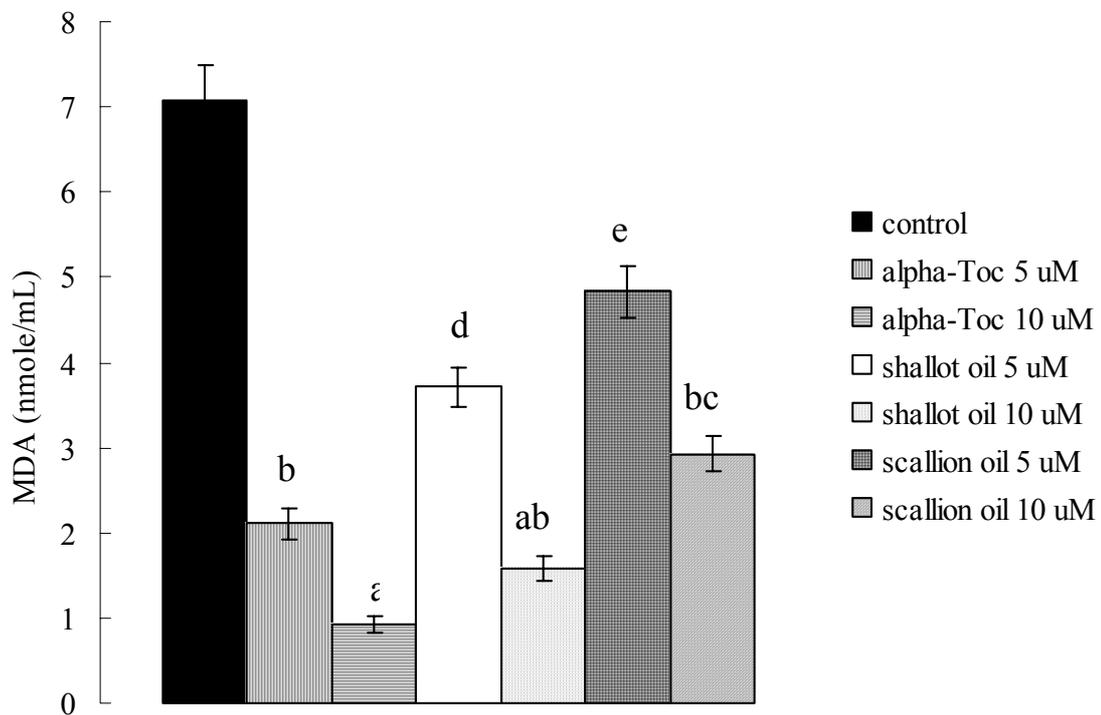
青蔥、紅蔥頭水萃液及其精油對院內感染菌及食品感染菌的抑制效果列於表二和表三。青蔥水萃液對於所有測試的感染菌皆無顯著抑制能力 ($p > 0.05$)，而紅蔥頭水萃液只有輕微但具顯著差異的抑制能力 ($p < 0.05$)。青蔥、紅蔥頭精油對所有測試的感染菌皆有明顯的抑制能力，且抑菌的能力隨著濃度增加而增加 ($p < 0.05$)。無論濃度在 5 或 10 μM ，紅蔥頭油的抑菌能力明顯比青蔥油好 ($p < 0.05$)。

表一、青蔥、紅蔥頭水萃液及其精油於微脂粒系統，分別在不同溫度培養 48 小時條件下，以 Fe^{2+} 誘發脂質氧化 (TBA 值) 之影響 (n=5)。

	TBA 值		
	25°C	50°C	75°C
Control	0.315±0.023 ^g	0.706±0.026 ^h	1.113±0.032 ^g
α -tocopherol, 5 μM	0.074±0.012 ^b	0.261±0.020 ^c	0.522±0.026 ^c
α -tocopherol, 10 μM	0.039±0.008 ^a	0.162±0.013 ^a	0.325±0.018 ^a
Shallot			
Water extract, 5 μM	0.236±0.015 ^{ef}	0.498±0.019 ^f	1.127±0.028 ^g
Water extract, 10 μM	0.172±0.010 ^d	0.416±0.016 ^e	1.015±0.024 ^f
Oil, 5 μM	0.113±0.009 ^c	0.338±0.021 ^d	0.601±0.022 ^d
Oil, 10 μM	0.052±0.008 ^{ab}	0.219±0.014 ^b	0.455±0.017 ^b
Scallion			
Water extract, 5 μM	0.267±0.011 ^f	0.544±0.010 ^g	1.103±0.027 ^g
Water extract, 10 μM	0.217±0.014 ^e	0.493±0.016 ^f	1.124±0.025 ^g
Oil, 5 μM	0.154±0.007 ^d	0.437±0.015 ^e	0.854±0.023 ^e
Oil, 10 μM	0.106±0.006 ^c	0.276±0.014 ^c	0.656±0.021 ^d

^{a-h} 表示統計上的差異性，於表格中，同一行數值之上標相同，表示組之間沒有達顯著差異 ($p < 0.05$)

圖一、濃度 5 及 10 μM 之青蔥、紅蔥頭精油、 α -tocopherol 於人類紅血球細胞膜氧化系統，在 37°C 培養 48 小時條件下，以 Fe^{2+} 誘發脂質氧化並測其 MDA 值 (nmole/ml) (n=5)。



^{a-c} 表示與對照組有顯著差異，且於圖中上標相同表示組之間沒有達顯著差異 ($p < 0.05$)

表二、青蔥、紅蔥頭水萃液及其精油與四株食物感染菌，於 25°C 培養 4 天之抑菌效果(n=5)。

Bacteria	log CFU/mL						
	Control	Shallot water extract (10 µM)	Shallot oil (5 µM)	Shallot oil (10 µM)	Scallion water extract (10 µM)	Scallion oil (5 µM)	Scallion oil (10 µM)
<i>S. typhimurium</i> DT104	7.67±0.21 ^e	6.24±0.10 ^d	2.81±0.10 ^b	1.44±0.05 ^a	7.03±0.18 ^e	5.35±0.15 ^c	3.06±0.19 ^b
<i>E. coli</i> O157:H7	8.11±0.15 ^f	7.08±0.14 ^e	3.48±0.09 ^c	2.19±0.07 ^a	7.49±0.17 ^e	4.81±0.12 ^d	2.87±0.10 ^b
<i>L. monocytogenes</i>	7.53±0.17 ^e	6.92±0.12 ^d	3.04±0.11 ^b	1.91±0.10 ^a	7.13±0.20 ^e	5.67±0.11 ^c	3.32±0.15 ^b
<i>S. aureus</i>	7.42±0.18 ^e	6.33±0.13 ^d	3.65±0.08 ^b	2.57±0.08 ^a	7.09±0.21 ^e	5.25±0.16 ^c	3.71±0.17 ^b

^{a-e} 表示統計上的差異性，於表格中，同一列數值之上標相同，表示組之間沒有達顯著差異 (p < 0.05)

表三、青蔥、紅蔥頭水萃液及其精油與四株院內感染菌，於 37°C 培養 2 天之抑菌效果(n=5)。

Pathogen	Control	log CFU/mL					
		Shallot Water extract (10 µM)	Shallot oil (5 µM)	Shallot oil (10 µM)	Scallion Water extract (10 µM)	Scallion oil (5 µM)	Scallion oil (10 µM)
MRSA	8.14±0.22 ^e	7.34±0.15 ^d	3.35±0.12 ^b	1.82±0.08 ^a	8.23±0.18 ^e	7.15±0.11 ^d	5.06±0.21 ^c
<i>K. pneumoniae</i>	8.27±0.17 ^e	6.72±0.10 ^d	4.28±0.18 ^b	2.53±0.10 ^a	7.95±0.20 ^e	6.74±0.14 ^d	4.87±0.18 ^c
<i>P. aeruginosa</i>	8.31±0.16 ^e	7.21±0.18 ^d	4.62±0.15 ^b	2.74±0.06 ^a	8.16±0.23 ^e	6.97±0.10 ^d	5.19±0.14 ^c
<i>A. baumannii</i>	8.18±0.23 ^e	7.45±0.20 ^d	3.71±0.09 ^b	2.17±0.05 ^a	8.24±0.14 ^e	7.26±0.19 ^d	5.51±0.22 ^c

^{a-c} 表示統計上的差異性，於表格中，同一列數值之上標相同，表示組之間沒有達顯著差異 (p<0.05)

肆、討論

許多文獻 (Avato et al., 2000; Borek, 2001; Moriguchi et al., 2001; Harris et al., 2001) 及本實驗室先前研究 (Yin & Cheng, 1998; Yin et al., 2002a) 證實蔥屬植物中之大蒜具有抗氧化及抑菌的功能。故本實驗更進一步研究另外兩種蔥屬植物成員：青蔥、紅蔥頭之抗氧化及抑菌的能力。實驗結果顯示青蔥、紅蔥頭水萃液及其精油皆具抗氧化能力 (表一、圖一)，也證明具有抑菌的能力 (表二、三)，此結果支持青蔥、紅蔥頭應有更廣泛之用途。

無論於體內或體外試驗，DAS、DADS 等這些含硫化合物皆被證實具有抗氧化的能力 (Dwivedi et al., 1996; Yin et al., 2002b)，同屬蔥科植物之青蔥或紅蔥頭精油，很可能因為也含有這些具有抗氧化的物質而表現出抗氧化的效果，這有待後續證實。

本實驗發現紅蔥頭精油於 50 及 70°C 中，對微脂粒仍具有抗氧化性 (表一)，這個結果有利於將紅蔥頭油廣泛用於食品加工，在含高脂肪的食品中，或許能減低食物加熱時的氧化傷害及增加食物中油脂的穩定度。另外，紅血球細胞膜的氧化已被證實是與肝臟疾病、糖尿病、貧血等疾病的惡化高相關 (Girelli et al., 1992; Vasarhelyi et al., 1996; Inouye et al., 1998)。青蔥、紅蔥頭精油抗人類紅血球細胞膜氧化之能力 (圖一) 支持這兩種食用植物可發展成預防或控制氧化傷害

的機能性食品。然而，在建議食用前，應更進一步研究這些油在體內之安定性。

本研究中的四株食物感染菌，無論對食品或人體皆造成許多的污染問題及危害。本實驗結果證實青蔥或紅蔥頭精油皆能有效抑制這四株食物感染菌的生長（表二），因此，應用於食品系統中可防止這些菌的污染。本研究中另四株院內感染菌的感染，不但會增加病人的罹病率及死亡率，也造成住院時間的延長（Menzies et al., 2000）。本實驗結果證實青蔥或紅蔥頭精油皆能有效抑制這四株院內感染菌的生長（表三）。因此，醫院工作者及病患常食用青蔥或紅蔥頭或許可以預防或控制這些院內感染菌的感染。然而，同先前所討論，在建議食用前，應更進一步研究這些物質在體內之安定性。

除了 DAS、DADS 等這些含硫化合物外，大蒜中其他化合物如：allicin、ajoene 也被證實具有抗氧化及抑菌之能力（Prasad et al., 1995; Naganawa et al., 1996; Ankri et al., 1999），因此，在同屬蔥科植物之青蔥或紅蔥頭精油，很有可能含有 allicin、ajoene，但因缺乏這些物質的標準品，因而無法在進一步分析青蔥或紅蔥頭精油中這些物質的含量。本實驗中，紅蔥頭精油其抗氧化及抑菌能力優於青蔥精油，這極可能是紅蔥頭精油含有較高量的 DAS、DADS 等含硫化合物，但此推測仍需進一步的驗證。

先前本實驗室研究發現蒜汁的抑菌物質能被人體吸收並循環至血漿中，且最大的抑菌效果出現在食用蒜汁 40 至 60 分鐘後(Yin et al., 2002a)。本實驗證實青蔥及紅蔥頭於體外試驗中具有抗氧化及抗菌能力，但其於體內是否仍具抗氧化及抗菌能力是值得進一步探討的。青蔥、紅蔥頭及大蒜等蔥屬植物為天然且廣為亞洲地區居民所食用的植物，藉由平日攝取這些具有抗氧化及抗菌功能之蔥屬植物，或許可減少一些病原菌的伺機感染、抗生素的使用，亦可增加食物本身的保存時間及安全性。

伍、結論

青蔥及紅蔥頭精油皆具有抗脂質氧化(無論是微脂粒或人體紅血球細胞膜)及抑菌(包括四株食物感染菌：*Salmonella typhimurium* DT104、*Escherichia coli* O157:H7、*Listeria monocytogenes*、*Staphylococcus aureus* 或四株院內感染菌：MRSA、*Klebsiella pneumoniae*、*Pseudomonas aeruginosa*、*Acinetobacter baumannii*)的能力，將此結果運用於食品系統及臨床營養中，青蔥及紅蔥頭精油的使用不但可增加脂質的安定性，也能預防細菌的污染及感染。

參考文獻

- 王聖予, 李麗例, 吳秀玲, 周啟馥, 楊志元, 陳建和, 2000, 最新醫用微生物學, 藝軒圖書出版社, p209-317.
- 汪曉琪 民 87 七種蔥屬植物對黃麴菌與薰煙色麴菌之抑菌效果 私立中山醫學院營養科學研究所論文
- 吳昭其, 1987, 台灣的蔬菜(一), 度假出版社, 台北, p26-37.
- 李碩朋, 1991, 蔥科蔬菜淺述, 興農雜誌, 268: 26-31.
- 李南, 1994, 開門七寶食療篇, 博益出版集團, 香港
- 陳豐村, 1992, 食品微生物學, 合計圖書出版社, p104.
- 黃涵, 1978, 分蔥---莖菜栽培, 豐年叢書, 台北, HV No.781
- 張為憲, 李敏雄, 呂政義, 張永和, 陳昭雄, 孫璐西, 陳怡宏, 張基郁, 顏國欽, 林志城, 林慶文, 2001, 食品化學, 華香園出版社, p82.
- 張淑君 民 85 傳統食用植物抑制真菌生長影響之研究 私立中山醫學院營養科學研究所論文
- 廖魁隆 民 89 天然大蒜和韭菜的四種硫化物抗氧化及抗黴菌之體外試驗 私立中山醫學院營養科學研究所論文
- 蔡文城, 2002, 微生物學, 藝軒圖書出版社, p213、p383-519.
- 蘇世強, 林哲玲, 王淑芬, 曲佩芬, 葉淑貞, 姜秀子, 李聰明, 2002, 安寧病房院內感染-北部某醫學中心十年經驗, 醫院感染控制雜

誌, 第十二卷第二期 : 87-94.

Ankri S, Mirelman D. 1999. Antimicrobial properties of allicin from garlic. *Microbes Infects* 1:125-129.

Avato P, Tursil E, Vitali C. 2000. Allylsulfide constituents of garlic volatile oil as antimicrobial agents. *Phytomedicine* 7:239-243.

Block E. 1985. The chemistry of garlic and onions. *Scientific American* 252:94-99.

Borek C. 2001. Antioxidant health effects of aged garlic extract. *Journal of Nutrition* 131:1010S-1015S.

Borst JW, Visser NV, Kouptsova O, Visser AJ. 2000. Oxidation of unsaturated phospholipids in membrane bilayer mixtures is accompanied by membrane fluidity changes. *Biochimica et Biophysica Acta* 1487:61-73.

Brozmanova J, Dudas A, Henriques JA. 2001. Repair of oxidative DNA damage--an important factor reducing cancer risk. *Neoplasma* 48:85-93.

Cao G, Sofic E, Prior R. 1996. Antioxidant capacity of tea and common vegetables. *Journal of Agricultural & Food Chemistry* 44:3426-3431.

Cutter CN. 2000. Antimicrobial effect of herb extracts against *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes*, and *Salmonella typhimurium* associated with beef. *Journal of Food Protection* 63:601-607.

- Dobarganes C, Marquez RG. 2003. Oxidized fats in food. *Current Opinion in Clinical Nutrition & Metabolic Care* 6:157-163.
- Dorsa WJ, Cutter CN, Siragusa GR. 1998. Bacterial profile of ground beef made from carcass tissue experimentally contaminated with pathogenic and spoilage bacteria before being washed with hot water, alkaline solution, or organic acid and then stored at 4 or 12°C. *Journal of Food Protection* 61:1109-1118.
- Dwivedi C, Abu-Ghazaleh A, Guenther J. 1996. Effect of diallyl sulfide and diallyl disulfide on cisplatin-induced changes in glutathione and glutathione-S-transferase activity. *Anticancer Drugs* 7:792-794.
- Fabryova L, Cagan S. 1995. Free oxygen radicals in atherosclerosis and diabetes mellitus. *Bratislavske Lekarske Listy* 96:23-9.
- Forss DA. 1972. Odor and flavor compounds from lipids. *Progress in the Chemistry of Fat and Other Lipids*. vol. 13, R. T. Holman, ed., Pergamon Press, London. p177-258
- Girelli D, Lupo A, Trevisan MT, Olivieri O, Bernich P, Zorzan P, Bassi A, Stanzial AM, Ferrari S, Corrocher R. 1992. Red blood cell susceptibility to lipid peroxidation, membrane lipid composition, and antioxidant enzymes in continuous ambulatory peritoneal dialysis patients. *Peritoneal Dialysis International* 12:205-10.
- Harris JC, Cottrell SL, Plummer S. 2001. Antimicrobial properties of *Allium sativum* (garlic). *Applied Microbiology & Biotechnology* 57:282-286.

- Hewitt JH, Coe AW, Parker MT. 1969. The detection of methicillin resistance in *Staphylococcus aureus*. *Journal of Medical Microbiology* 2:443-56.
- Holvoet P. 1999. Endothelial dysfunction, oxidation of low-density lipoprotein, and cardiovascular disease. *Therapeutic Apheresis* 3:287-93.
- Huang Y, Liu D, Sun S. 2000. Mechanism of free radicals on the molecular fluidity and chemical structure of the red cell membrane damage. *Clinical Hemorheology & Microcirculation* 23:287-90.
- Inouye M, Hashimoto H, Mio T, Sumino K. 1998. Levels of lipid peroxidation product and glycated hemoglobin A1c in the erythrocytes of diabetic patients. *Clinica Chimica Acta* 276:163-72.
- Jain SK. 1989. Hyperglycemia can cause membrane lipid peroxidation and osmotic fragility in human red blood cells. *Journal of Biological Chemistry* 264:21340-21345.
- Lark RL, Saint S, Chenoweth C. 2001. Four-year prospective evaluation of community-acquired bacteremia: epidemiology, microbiology, and patient outcome. *Diagnostic Microbiology & Infectious Disease* 41:15-22.
- Liu L, Yeh YY. 2000. Inhibition of cholesterol biosynthesis by organosulfur compounds derived garlic. *Lipids* 35:197-203.
- Liao KL, Yin MC. 2000. Individual and combined antioxidant effects of seven phenolic agents in human erythrocyte membrane ghosts and

- phosphatidylcholine liposome systems: importance of the partition coefficient. *Journal of Agricultural & Food Chemistry* 48:2266-2270.
- Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL. 1951. Protein determination with the Folin phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry* 193:265-275.
- Menzies D, Fanning A, Yuan L. 2000. Hospital ventilation and risk for tuberculous infection in canadian health care workers. Canadian Collaborative Group in Nosocomial Transmission of TB. *Annals of Internal Medicine* 133:779-89.
- Moriguchi T, Takasugi N, Itakura Y. 2001. The effects of aged garlic extract on lipid peroxidation and the deformability of erythrocytes. *Journal of Nutrition* 131:1016S-1019S.
- Naganawa R, Iwata N, Ishikawa K, Fukuda H, Fujino T, Suzuki A. 1996. Inhibition of microbial growth by ajoene, a sulfur-containing compound derived from garlic. *Applied & Environmental Microbiology* 62:4238-4242
- National Committee for Clinical Laboratory Standards. 1999. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing Ninth informational supplement M100-59. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Villanova, PA. USA.
- Nissen H, Alvseike O, Bredholt S., Holck A, Nesbakken T. 2000. Comparison between the growth of *Yersinia enterocolitica*, *Listeria*

- monocytogenes*, *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella* spp. in ground beef packed by three commercially used packaging techniques. *International Journal of Food Microbiology* 59:211-220.
- O’Gara EA, Hill DJ, Maslin DJ. 2000. Activities of garlic oil, garlic powder and their diallyl constituents against *Helicobacter pylori*. *Applied & Environmental Microbiology* 66:2269-2273.
- Poppe C, Smart N, Khakhria R, Johnson W, Spika J, Prescott J. 1998. *Salmonella typhimurium* DT104: a virulent and drug-resistance pathogen. *Canadian Veterinary Journal* 39:559-565.
- Prasad K, Laxdal VA, Yu M. 1995. Antioxidant activity of allicin, an active principle in garlic. *Molecular & Cellular Biochemistry* 148:183-9.
- Rello J. 1999. *Acinetobacter baumannii* infections in the ICU: customization is the key. *Chest* 115:1226-1229.
- SAS. 1990. SAS/STAT User’s Guide, version 6. Statistical Analysis System Institute, Cary, N.C.
- Sims R. 1994. Oxidation of fat in food products. *Inform* 5:1020-1028
- Srouf MA, Bilto YY, Juma M. 2000. Susceptibility of erythrocytes from non-insulin-dependent diabetes mellitus and hemodialysis patients, cigarette smokers and normal subjects to in vitro oxidative stress and loss of deformability. *Clinical Hemorheology & Microcirculation* 22:173-180.

- St Angelo AJ. 1996. Lipid oxidation on foods. Critical Review in food Science & Nutrition 36:175-224.
- Stadtman ER, Oliver CN. 1991. Metal-catalyzed oxidation of protein. Journal of Biological Chemistry 266:2005-2008.
- Tindall HD. 1983. Vegetables in the Tropics. Macmillan Press LTD. London. p14-35.
- Tsao SM, Yin MC. 2001a. In-vitro antimicrobial activity of four diallyl sulphides occurring naturally in garlic and Chinese leek oils. Journal of Medical Microbiology 50:646-649.
- Tsao SM, Yin MC. 2001b. In-vitro activity of garlic oil and four diallyl sulphides against antibiotic-resistant *Pseudomonas aeruginosa* and *Klebsiella pneumoniae*. Journal of Antimicrobial Chemotherapy 47:665-670.
- Vasarhelyi B, Szonyi L, Tulassay T. 1996. Altered lipid composition and enzyme activities of erythrocyte membranes in hepatic cirrhosis. Metabolism: Clinical & Experimental 45:667.
- Vendemiale G, Grattagliano I, Altomare E. 1999. An update on the role of free radicals and antioxidant defense in human disease. International Journal of Clinical & Laboratory Research 29:49-55.
- Virgili F, Battistini N, Canali R. 1996. High glucose-induced membrane lipid peroxidation on intact erythrocytes and on isolated erythrocyte membrane (ghost). Journal of Nutritional Biochemistry 7:156-161.
- Yang GC, Yasaei PM, Page SW. 1993. Garlic as anti-oxidants and free

- radical scavengers. *Journal of Food & Drug Analysis* 1:357-364.
- Yin MC, Faustman C, Riesen JW. 1993. α -Tocopherol and ascorbate delay oxymyoglobin and phospholipid oxidation in vitro. *Journal of Food Science* 58:1273-1276.
- Yin MC, Cheng WS. 1998. Antioxidant activity of several *Allium* members. *Journal of Agricultural & Food Chemistry* 46:4097-4101.
- Yin MC, Chang HC, Tsao SM. 2002a. Inhibitory effects of aqueous garlic extract, garlic oil and four diallyl sulphides against four enteric pathogens. *Journal of Food & Drug Analysis* 10 : 120-125.
- Yin MC, Hwang SW, Chan KC. 2002b. Nonenzymatic antioxidant activity of four organosulfur compounds derived garlic. *Journal of Agricultural & Food Chemistry* 50:6143-6147.