

动物性食品中头孢氨苄残留检测研究进展

张伟, 王兴, 刘金萍, 秦海艳, 刘若璇, 蔡云虹, 汝晓飞, 王捍东* (扬州大学兽医学院, 江苏扬州 225009)

摘要 头孢氨苄属于人兽共用 β -内酰胺类抗生素,在兽医临床上应用广泛。介绍了头孢氨苄的性质、危害及国内外主要的检测方法和检测技术,包括紫外分光光度法、高效液相色谱法、液质联用、毛细管电泳法、酶联免疫吸附法、荧光偏振免疫法、免疫层析法,并对头孢氨苄残留分析前景进行了展望。

关键词 头孢氨苄; 抗生素残留; 危害; 检测方法

中图分类号 S851.34*7 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2016)19-084-03

Recent Advances in the Determination of Cephalexin Residue in Animal Derived Foods

ZHANG Wei, WANG Xing, LIU Jin-ping, WANG Han-dong* et al (College of Veterinary Medicine, Yangzhou University, Yangzhou, Jiangsu 225009)

Abstract As a β -lactam antibiotic, Cephalexin can be used in both humans and animals. It has been widely applied in veterinary clinic. Firstly, the characteristics, hazard, the major detecting methods and technologies of Cephalexin in domestic and foreign were introduced. Methods and technologies, including Ultraviolet-Visible spectroscopy, High Performance Liquid Chromatography (HPLC), Liquid Chromatography-Mass Spectrometry (LC-MS), Capillary Electrophoresis (CE), Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA), Fluorescence Polarization Immunoassay (FPIA), Immunochromatography (IC), were described. Finally, prospects of analysis of Cephalexin residue were presented.

Key words Cephalexin; Antibiotic residues; Hazard; Detection methods

头孢氨苄(Cephalexin, CEX), 又称头孢菌素IV、先锋霉素IV、头孢立新等,属于第一代人工半合成头孢菌素类抗生素,其作用机制主要是在细菌的分裂繁殖期通过抑制细菌细胞壁的合成,使细菌在外部渗透压的作用下死亡。相对于其他几种兽用头孢类抗生素,头孢氨苄有着价格低廉、可口服吸收等优点,因此在兽医临床中应用较为广泛,常用于治疗动物尿道感染、皮肤感染、奶牛的乳腺炎等。我国农业部第235号文件规定,头孢氨苄在牛体内最大残留限量(MRLs)分别为:奶100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、肌肉200 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、脂肪200 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、肝200 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、肾1000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ^[1]。但随着动物疫病的不断增加与复杂化,以及不遵守停药期规定等,使头孢氨苄在动物性食品中的残留情况日趋严峻,尤其以牛奶中的过量残留最为严重,已成为危及人类健康的食品安全问题,并严重影响到贸易出口。有研究显示,头孢菌素类抗生素在畜禽养殖场中超标使用现象普遍,其中头孢氨苄占较大比例^[2]。因此,针对头孢氨苄残留,建立一种快速、准确、简便的检测方法十分重要,笔者对头孢氨苄的危害及检查方法进行了综述。

1 头孢氨苄的性质与危害

1.1 头孢氨苄的理化性质 头孢氨苄的化学名称为(6R, 7R)-3-甲基-7-[(R)-2-氨基-2-苯乙酰氨基]-8-氧代-5-硫杂-1-氮杂双环[4.2.0]辛-2-烯-2-甲酸,传统合成方法是以7-氨基-3-去乙酰氧基头孢烷酸(7-Amino-3-methyl-3-cephem-4-carboxylic acid, 7-ADCA)为母核并与苯甘氨酸甲酯(D-phenylglycine methyl ester, PGM)经过酯化氧化、重排、酰化、水解等步骤合成得到^[3]。分子式为 $\text{C}_{16}\text{H}_{17}\text{N}_3\text{O}_4\text{S}$,摩尔分子量为347.39 g/mol,熔点为326.81 $^{\circ}\text{C}$,沸点为636.05 $^{\circ}\text{C}$ 。头孢氨苄的化学结构见图1。

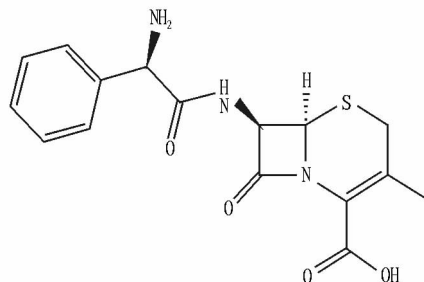


图1 头孢氨苄化学结构

Fig. 1 Chemical structure of Cephalexin

常温下头孢氨苄呈白色或微黄色结晶性粉末,微臭,在水中微溶,在乙醇、三氯甲烷或乙醚中不溶。加水溶解并定量稀释成每1 mL中含5 mg的溶液,其比旋度为 $+149^{\circ} \sim +158^{\circ}$,在262 nm紫外吸收区有最大吸收波长^[4]。头孢氨苄在干燥状态下较稳定,对紫外光敏感,由于含有内酰胺环,在碱性条件下易水解开环。

1.2 头孢氨苄的危害 头孢氨苄属于人兽共用的广谱抗生素,其残留问题比动物专用抗生素更为严重。一方面,长期摄入广谱抗生素残留的动物产品,会使人体内敏感菌群受到抑制,导致人体内菌群比例失调,消化道功能紊乱,免疫力下降,影响人类健康。另一方面,人类的病原菌长期接触头孢氨苄,就有可能诱导产生耐药性菌株,对病人的诊断、治疗造成恶劣影响,而且病原菌的耐药基因可以在人群中、动物群中、生态系统中的细菌间相互传递,由此可引发更为严重的耐药性问题。

在传统的头孢氨苄生产工艺过程中,会使用大量化学试剂,而其中部分化学试剂由于较难分离而发生残留,如N,N-二甲基甲酰胺(N,N-Dimethylformamide, DMF)、2-萘酚(2-Naphthol)等。研究已证实,DMF具有肝毒性^[5-6]、肾毒性^[7]、心脏毒性^[8]等,并有致癌、致畸、致突变的可能^[6,9];2-萘酚对皮肤、黏膜有强烈的刺激作用^[10],对机体的免疫系统有一

作者简介 张伟(1991-),男,安徽淮南人,硕士研究生,研究方向:动物性食品安全卫生。*通讯作者,教授,硕士生导师,从事动物性食品安全卫生方面的研究。

收稿日期 2016-05-23

定的抑制作用^[11],可在短时间内迅速穿过胎盘屏障,并有致癌的风险^[12]。

在水环境中,头孢氨苄易发生水解,其水解产物7-氨基头孢烷酸(7-ACA)和7-氨基-3-去乙酰氧基头孢烷酸(7-ADCA)有较强的生长抑制毒性,因此头孢氨苄具有一定的生态毒性。

2 头孢氨苄残留检测的概况

目前,国内外用于检测头孢氨苄的方法主要包括理化检测方法和免疫学检测方法两大类。

2.1 理化检测方法 依据头孢氨苄的物理和化学性质,如分子量大小、溶解性、熔沸点、分子基团特点、共轭形式等,对其进行定性和定量分析的方法。主要包括紫外分光光度法、高效液相色谱法、液质联用、毛细管电泳法等方法。

2.1.1 紫外-可见分光光度法(UV-Vis)。紫外-可见分光光度法是通过测定待测物质在紫外光区和可见光区范围内光的吸光度或发光强度,对该物质进行定性、定量、结构分析的方法。G. Venkata Prasad 等依据头孢氨苄在紫外光区下有特殊的发光基团且在一定浓度范围内其吸光度与浓度成正比,通过绘制标准曲线求出样品中头孢氨苄的含量,试验结果显示,在磷酸盐缓冲液(pH 2.0)中,头孢氨苄的定量范围为5~40 μg/mL,其定量限(LOQ)和检测限(LOD)分别为2.85、0.855 μg/mL^[13]。王学立等亦采用紫外分光光度法对原料奶中头孢氨苄的含量进行测定,试验结果表明,紫外分光光度法操作简单,所需时间短、重现性好,平均回收率99.88%,最小检出限为0.50 μg/mL^[14]。

2.1.2 高效液相色谱法(HPLC)。高效液相色谱法具有选择性高、灵敏度高、重现性良好等优点,是国际上检测头孢氨苄残留的主要方法之一。蔡玉娥等用高效液相色谱法检测牛奶和尿液当中多种头孢类抗生素,组织样品加20%乙酸后再加入水,冷冻离心取上清,之后过滤稀释,进样检测^[15]。固定相:C₁₆色谱柱(46 mm×150 mm,5 μm);进样:20 μL;流动相A:水:磷酸缓冲液(98:2,V/V);流动相B:乙腈:水:磷酸缓冲液(10:9:1,V/V);流速:1.0 mL/min;检测器:紫外/可见光(UV/VIS)检测器;检测波长:270 nm;其中头孢氨苄检测限达5.60 μg/L,回收率高。Regina V. Oliveira 等使用柱切换高效液相色谱法测定牛奶和脱脂奶中的头孢氨苄^[16],以C₈-牛血清白蛋白(bovine serum albumin)RAM柱(100 mm×4.6 mm,10 μm)作为第一柱去除牛奶样品中的蛋白质,以C₁₈分析柱为第二柱(150 mm×4.6 mm,5 μm);进样:20 μL;流动相:磷酸盐缓冲液(pH 7.5,0.01 mol/L):丙烯晴(98:2,V/V);流速:1.0 mL/min;检测器:紫外/可见光(UV/VIS)检测器;检测波长:260 nm。在以上条件下检测样品中头孢氨苄,结果表明,头孢氨苄在25~1600 ng/mL浓度范围内,峰面积与浓度呈良好线性关系,方法的定量限(LOQ)为20 ng/mL、检测限(LOD)为10 ng/mL,且平均回收率高。

2.1.3 液相色谱-质谱联用法(LC-MS)。液相色谱-质谱联用法是将分离能力高的液相色谱与高灵敏的质谱技术充分结合的一种分析工具,具有分辨率高、样品损失少、自动化

程度高等优点。倪梅林等采用Oasis HLB固相萃取小柱净化样品^[17],经MG-II C₁₈(150 mm×2.1 mm,5 μm)色谱柱分离,在LC-MS/MS多反应监测(MRM)模式下对动物组织和水产品中头孢氨苄定性定量分析,结果表明,头孢氨苄定量限为0.01 mg/kg,相对标准偏差RSD为5.30%~12.10%,方法回收率为75%~106%。顾蓓乔等建立一种超高效液相色谱-三重四级杆质谱仪(UPLC-MS/MS)检测水产品中头孢菌素类药物残留的方法^[18],样品经过提取、净化、浓缩、过滤等一系列处理后,采用外标法测出头孢氨苄等抗生素残留量,研究表明,头孢氨苄在2~100 μg/L质量浓度范围内,线性关系良好,定量检出限为2.00 μg/kg,平均回收率为76.70%~93.10%,相对标准偏差RSD<13%。

2.1.4 毛细管电泳法(CE)。毛细管电泳兼具电泳和色谱的特点,样品在电场力的作用下,在装有电泳介质的毛细管中迁移,根据带电粒子的迁移速度不同而进行分离,具有高效、快速、微量、多模式、自动化程度高等优点。张小莉等建立了一种快速检测头孢氨苄的毛细管电泳法^[19],试验以枸橼酸昔多芬为内标,分离电压14 kV,检测波长214 nm,每次进样前用25 mmol/L硼砂缓冲液冲洗3 min,结果显示,头孢氨苄在33.90~678.00 μg/mL浓度范围呈良好的线性关系,相关系数为0.999 6,回收率在97.90%~102.40%。然而许多动物组织样品成分和基质复杂,所以对肉、蛋、奶等样品中的相关药物测定时,通常需要对样品进行一系列的前处理过程。汪雪雁等采用分子印迹固相萃取技术(MISPE)作为样品前处理方法,克服了样品体系复杂、预处理繁琐等困难,成功建立了分子印迹固相萃取-毛细管电泳(MISPE-HPCE)检测鸡肉中头孢菌素药物的分析方法^[20],结果表明,头孢氨苄在3.125~100.000 μg/mL时线性关系良好,相关系数为0.998 5,定量限(LOQ)和检出限(LOD)分别为80 μg/kg和50 μg/kg,样品回收率为78.00%~83.04%,RSD为2.18%~3.79%。

2.2 免疫学检测方法 免疫学检测方法是抗原和抗体的特异性结合为基础,利用胶体金、荧光素、酶及化学发光剂等等作为追踪物,并借助电子显微镜、光学显微镜、酶标检测仪等仪器定性或定量检测出样品中物质含量的方法,主要包括酶联免疫吸附测定、荧光偏振免疫、免疫层析法等。

2.2.1 酶联免疫吸附测定(ELISA)。酶联免疫吸附法是采用酶标记抗体(或抗原),使其与相应的抗原(或抗体)特异性结合,然后通过酶与底物的颜色反应,进行定性定量的检测方法。常用标记酶有:辣根过氧化物酶(HRP)、碱性磷酸酶(AP)、葡萄糖氧化酶(GOD)等。Chen Liben 等通过碳二亚胺法合成免疫原免疫小鼠,并结合杂交瘤技术筛选出针对头孢氨苄的杂交瘤细胞株,建立一种快速检测头孢氨苄的ELISA方法,检测范围为1~50 μg/kg,检测限为0.39 μg/kg^[21]。卞素敏等采用戊二醛法将头孢氨苄偶联于鸡卵清白蛋白(OVA)并作为检测抗原,利用头孢氨苄单克隆抗体建立了牛奶中头孢氨苄残留的间接竞争酶联免疫吸附(CiELISA)检测方法,结果显示,头孢氨苄在1.0~

50.0 ng/mL 浓度范围内线性关系良好,检测限为 1.0 ng/mL^[22]。

2.2.2 荧光偏振免疫(FPIA)。荧光偏振免疫是利用荧光分子或荧光团经偏振光照射而被激发,在回复基态后可释出光子,经偏振仪形成偏振荧光,再结合光学系统测定偏振荧光的强度。该荧光强度与荧光分子的大小呈正比,通过绘制标准曲线即可测定物质的含量。Zhang Jing 等将头孢氨苄单克隆抗体与异硫氰酸荧光素(FITC)结合,成功建立一种在牛奶中快速检测头孢氨苄与头孢羟氨苄的荧光偏振免疫检测法,试验证明,荧光偏振免疫检测法在检测头孢氨苄残留方面具有灵敏度高、精确度好、耗时短等优点,头孢氨苄检出限为 1.80 ng/mL,回收率介于 82% ~ 125%,变异系数(CV)在 3.20% ~ 14.20%^[23]。

2.2.3 免疫层析法(IC)。免疫层析法是利用抗原和抗体特异性结合的一种亲和层析法。胡佳丽等研制出一种用头孢氨苄单克隆抗体制备的荧光免疫层析试纸条,示踪标记物采用稀土铕荧光纳米颗粒,以碳二亚胺法制备的头孢氨苄-卵清蛋白(CEX-OVA)及羊抗鼠 IgG 作为检测线和质控线,成功制备免疫层析试纸条,检测快速,检测限为 0.16 ng/mL,并与 ELISA 方法进行对比,获得了满意的效果^[24]。Guo Jingnan 等则以胶体金作为标记物,检测线上结合头孢氨苄-血蓝蛋白(CEX-KLH),质控线上结合羊抗鼠 IgG,所建立的检测方法检测时间不到 5 min,用肉眼即可判定显示结果,检测限为 (1.3 ± 0.1) ng/mL^[25]。

3 研究展望

头孢氨苄作为人兽共用抗生素,与兽用抗生素相比可能存在更大的食品安全隐患,近年来研究发现,头孢氨苄在空气、土壤、水中均有检出^[26-28],在动植物体内针对头孢氨苄的抗性细菌也具有较高比例^[28],因此为保护人类及动物健康并提高我国动物性食品在国际贸易上的竞争力,除了完善相应的法律法规,建立和改进头孢氨苄残留检测方法也显得尤为重要。

目前,针对头孢氨苄的检测方法多以 HPLC 和 LC-MS 为主,其优点是准确度高、假阳性率低,适用于头孢氨苄检测方法的标准化,但这些方法需要的仪器价格昂贵、操作复杂、耗时长,难以满足实际检测中快速鉴定诊断的需要。近些年来,免疫学检测技术被发展用于残留检测,因其具有灵敏度高、特异性强、分析容量大、操作简单、检测成本低等优点,深受人们的青睐,但免疫分析法也有自身的局限性,试验的准确性和重复性都不及理化分析方法,出现假阳性和假阴性的概率也较大,而且所制备抗体的亲和力与灵敏度也会对检测结果产生影响。因此,如何制备高特异性的单克隆抗体及提高免疫分析法的灵敏度,避免假阳、阴性的出现还需要进一步研究。随着科学技术的迅速发展,一些新的检测技术也层出不穷,如免疫亲和柱联合高效液相色谱法、免疫磁珠法、蛋白芯片技术等,但这些方法成本较高,材料大多依靠进口,限制了其发展。因而在以后相当长的时间内,基层实际检测中以 HPLC 和 LC-MS 为主的理化分析法仍占主要地位。

综上所述,在实际检测过程中,应该根据实际情况,选择合适的检测方法。目前来看,将免疫学方法与 HPLC、LC-MS 等理化分析方法结合起来是一种可行、易行的方案,以免疫学方法作为初筛法,以 HPLC 和 LC-MS 等方法作为定量法,不仅可以大规模快速筛选,而且也能保证检测结果的可靠性,对保障食品安全及提高我国进出口贸易的国际竞争力都具有重要意义。

参考文献

- [1] 农业部. 动物性食品中兽药最高残留限量(农业部公告[2002]235号)[A]. 北京:农业部,2002-12-24.
- [2] QI S, Y, REN S W, LI X L, et al. Multidrug-resistant bacteria in livestock feces[J]. Acta ecologica sinica, 2013, 33(13): 3970-3977.
- [3] SCHREIBER F G. Process for preparing cephalixin monohydrate: U S, 5142043[P]. 1992-08-25.
- [4] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010.
- [5] HAMADA M, ABE M, TOKUMOTO Y, et al. Occupational liver injury due to N,N-dimethylformamide in the synthetics industry[J]. Internal medicine, 2009, 48(18): 1647-1650.
- [6] SENOH H, AISO S, ARITO H, et al. Carcinogenicity and chronic toxicity after inhalation exposure of rats and mice to N,N-dimethylformamide[J]. Journal of occupational health, 2004, 46(6): 429-439.
- [7] 菅向东, 阙宝甜, 张秀莲. 二甲基甲酰胺对大鼠肾脏线粒体和微粒体⁴⁵Ca 转运的影响[J]. 中华劳动卫生职业病杂志, 2001, 19(1): 62-64.
- [8] DING R, CHEN D J, YANG Y J. Liver and heart toxicity due to 90-day oral exposure of ICR mice to N,N-dimethylformamide[J]. Environmental toxicology and pharmacology, 2011, 31(3): 357-363.
- [9] SHIEH D B, CHEN C C, SHIH T S, et al. Mitochondrial DNA alterations in blood of the humans exposed to N,N-dimethylformamide[J]. Chemico-biological interactions, 2007, 165(3): 211-219.
- [10] 刘文生, 张凤林. 浅议 2-萘酚对人体的危害[J]. 中国社区医师, 2008, 10(6): 9.
- [11] SUN H, SHEN O X, XU X L, et al. Carbaryl, 1-naphthol and 2-naphthol inhibit the beta-1 thyroid hormone receptor-mediated transcription *in vitro* [J]. Toxicology, 2008, 249(2): 238-242.
- [12] MIRGHANI H, OSMAN N, DHANASEKARAN S, et al. Transplacental transfer of 2-naphthol in human placenta[J]. Toxicology reports, 2015, 2: 957-960.
- [13] PRASAD G V, SRAVANI S, ISHAQ B M, et al. Development and validation of UV-spectrophotometric method for determination of cephalixin [J]. Asian journal of research in chemistry, 2013, 6(5): 490-494.
- [14] 王学立, 程亮亮, 温俊柳, 等. 头孢氨苄的紫外分光光度法测定[J]. 中国奶牛, 2011(18): 59-61.
- [15] 蔡玉娥, 蔡亚岐, 牟世芬, 等. 高效液相色谱-紫外光度法检测尿液和牛奶中多种头孢类抗生素[J]. 分析化学, 2006, 34(6): 745-748.
- [16] OLIVEIRA R V, DE PIETRO A C, CASS Q B. Quantification of cephalixin as residue levels in bovine milk by high-performance liquid chromatography with on-line sample cleanup[J]. Talanta, 2007, 71(3): 1233-1238.
- [17] 倪梅林, 崔晓美, 殷居易, 等. 动物组织与水产品中头孢氨苄残留量的液相色谱-串联质谱检测[J]. 分析测试学报, 2009, 28(4): 489-492.
- [18] 顾蓓乔, 梅光明, 喻亮, 等. 液相色谱-质谱联用法测定水产品中头孢菌素类残留量[J]. 浙江海洋学院学报(自然科学版), 2015, 34(3): 222-226.
- [19] 张小莉, 张彦. 毛细管区带电泳法测定头孢氨苄胶囊的含量[J]. 解放军药学学报, 2006, 22(2): 144-146.
- [20] 汪雪雁, 祁克宗, 陈汀汀, 等. 鸡肉中头孢类抗生素的 MISPE-HPLC 检测[J]. 江苏农业学报, 2012, 28(1): 193-197.
- [21] CHEN L, WANG Z, FERRERI M, et al. Cephalixin residue detection in milk and beef by ELISA and colloidal gold based one-step strip assay [J]. Journal of agricultural and food chemistry, 2009, 57(11): 4674-4679.
- [22] 卜素敏, 扈洪波, 邢仕歌, 等. ELISA 法检测牛奶中头孢氨苄残留[J]. 食品科学, 2013, 34(20): 186-189.
- [23] ZHANG J, WANG Z, MI T, et al. A homogeneous fluorescence polarization immunoassay for the determination of cephalixin and cefadroxil in milk [J]. Food analytical methods, 2014, 7(4): 879-886.

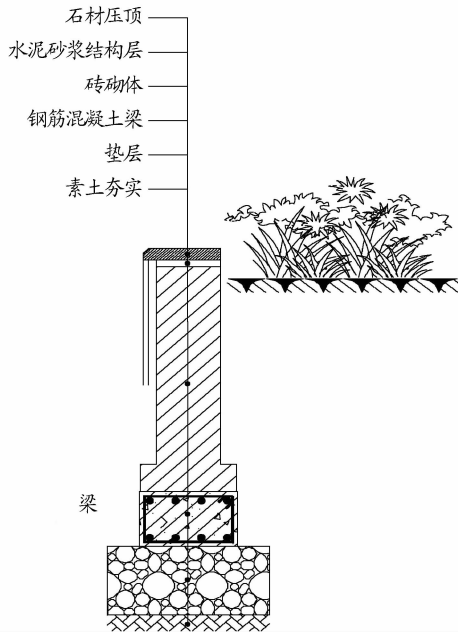


图2 改进后种植池做法断面示意

Fig.2 Schematic diagram of the section of improved planting beds

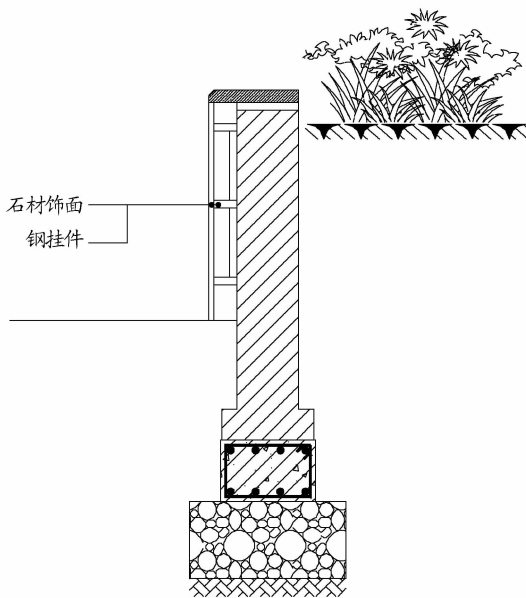


图3 干法镶挂饰面种植池断面示意

Fig.3 Schematic diagram of the section of dry hang planting bed

情绪,在城市景观设计中,景观色彩是人对于城市最直观、最感性的认识。例如俄罗斯、芬兰、挪威、丹麦和冰岛等一些气候寒冷的国家,为触动居民的视觉和心理感受,把城市的色彩

设计得非常丰富。加拿大魁北克的小村庄正是因为明快的城市色彩而举世闻名^[7]。在寒区,室外环境的颜色更加适合于红色、黄色和橙色且高饱和度、高明度的暖色系颜色。冬季覆雪后,城市主体色调以灰白色为主,而这类颜色看上去比较干净,可以与沉闷的覆雪色调形成鲜明的对比,在寒冷的冬天给人们心理上带来温暖^[8]。种植池色彩可以有效弥补冬季寒区的园林景观色彩的单调,改变园林景观空间环境色彩的灰暗色调。

种植池外饰面以石材和砖材为主。在设计上应该减少灰色系的饰面材料应用,如芝麻灰花岗岩面板等,增加暖色系的饰面材料,如红色系的樱花红、荔枝红花岗岩、暗红色系的外墙砖和黄色系的砂岩面板等,提高种植池饰面主体色调的明度和饱和度,调和后的颜色再与辅助色搭配,或者补充对比的点缀色,形成既丰富多彩,又温暖有活力的寒区城市色调,从而提高寒区冬季人们的视觉兴奋,增加温暖的色彩感知。

2.4 运用寒区特有的设计元素创造寒区种植池独特的景观艺术效果 寒区种植池的设计要深刻挖掘寒区文化,融入寒区代表性元素,充分发挥寒区艺术资源的独特魅力。例如,对冰雪形态进行采集,通过提炼、加工和创作形成富有特色的冰雪元素,并把这样的元素应用在种植池设计上。可以形成在平面上呈雪花图案造型的特色种植池,或在种植池外立面装饰上融入抽象冰雪主题图案,从而形成氛围浓厚的寒区景观文化,体现寒区景观特色。

3 结论

由于特殊的客观自然条件,寒区园林景观系统中种植池的设计应采取有针对性的设计方法来应对寒区种植池所出现的问题。通过对构造、功能、色彩和元素方面的设计和改进,可以应对寒区的不利因素,提高种植池艺术品质和抵抗极端气候的性能,体现寒区园林景观的地域文化和人文关怀,充分发挥种植池在园林景观系统中的作用。

参考文献

- [1] 范传俊. 环境小品设计[M]. 哈尔滨:黑龙江教育出版社,2011:89.
- [2] 陈仁升,康尔泗,吴立宗,等. 中国寒区分布探讨[J]. 冰川冻土,2005(4):469-475.
- [3] 丁园. 景观设计概论[J]. 景观设计概论,2008(2):226.
- [4] 夏兆君. 挡土墙冻胀裂缝的分析[J]. 冰川冻土,1986(3):281-286.
- [5] 扬·盖尔. 交往与空间[M]. 北京:中国建筑工业出版社,2002:10-20.
- [6] 余书超,夏多田,石磊,等. 北方城市花坛挡墙被冻坏的机理分析与预防措施[C]//现代农业工程与自然资源高效利用:中国科协2005年学术年会(第10分会场)论文集. 北京:中国农业工程学会,2005:164-166.
- [7] 韩雪,梁爽,吴少华. 寒地边境城市景观营造[J]. 长江大学学报(自然科学版),2013(35):19-22.
- [8] 保罗·贝尔,托马斯·格林,杰弗瑞·费希尔,等. 环境心理学[M]. 北京:中国人民大学出版社,2009:44-45.

(上接第86页)

- [24] 胡佳丽,刘小雷,于东升,等. 头孢氨苄残留荧光免疫层析试纸条的研制[J]. 中国药理学杂志,2014,49(12):1067-1072.
- [25] GUO J, LIU L, XUE F, et al. Development of a monoclonal antibody-based immunochromatographic strip for cephalixin[J]. Food and agricultural immunology, 2015, 26(2):282-292.

- [26] 朱婷婷,宋战锋,段标标,等. 深圳石岩水库抗生素污染特征与健康风险初步评价[J]. 环境与健康杂志,2013,30(11):1003-1006.
- [27] 张玉玲. 化工区高致敏原料药生产过程环境污染的风险评估[D]. 济南:山东大学,2013.
- [28] 祁诗月,任四伟,李雪玲,等. 禽畜养殖粪便中多重抗生素抗性细菌研究[J]. 生态学报,2013,33(13):3970-3977.