

猪尿采集及“瘦肉精”残留检测经验总结

王有生 彭海生

云南省普洱市动物疫病预防控制中心, 云南普洱 665000

摘要 “瘦肉精”是一类药物的统称, 主要是肾上腺类、 β 激动剂、 β -兴奋剂。主要有盐酸克伦特罗、莱克多巴胺、沙丁胺醇、西马特罗、硫酸特布他林等 10 多种。用 5~10 倍大剂量加入饲料中可以促进猪的增长, 减少脂肪含量, 提高瘦肉率, 但食用含有瘦肉精的猪肉对人体有害。本文介绍了生猪养殖环节中“瘦肉精”残留检测的尿样采集方法、采样工具改进、样品保存处理、检测方法等。

关键词 猪尿样品; 采集方法; “瘦肉精”检测; 经验总结

“瘦肉精”是一类药物的统称, 主要是肾上腺类、 β 激动剂、 β -兴奋剂。主要有盐酸克伦特罗、莱克多巴胺、沙丁胺醇、西马特罗、硫酸特布他林等 10 多种。用 5~10 倍大剂量加入饲料中可以促进猪的增长, 减少脂肪含量, 提高瘦肉率, 但食用含有瘦肉精的猪肉对人体有害。“瘦肉精”在我国已经禁用, 农业部 1997 年发文禁止瘦肉精在饲料和畜牧生产中使用, 农业部分别下发 176 号和 193 号公告禁止动物食品使用 β 激动剂类药物作为饲料添加剂。但是一些非法厂商和畜禽养殖场, 为了获取更大经济利益, 不顾国家禁令, 仍然非法生产和使用“瘦肉精”, 肉品中瘦肉精引起的中毒事件不断发生, 严重影响消费者的身体健康和生命安全。为了查处“瘦肉精”违法行为, 国家对畜禽养殖、屠宰、销售环节每年安排了例行监测和监督抽查等专项检测工作。普洱市畜产品质量安全检测中心开展“瘦肉精”检测工作已有 10 多年。目前, 对生猪“瘦肉

精”的检测主要是在养殖环节中对猪尿中残留的检测, 通过养殖环节预警监测, 可以提前发现是否饲喂“瘦肉精”, 从而避免不安全的“瘦肉精”肉品进入消费市场危害消费者。本文结合工作实际, 就猪尿样品采集、采样工具改进和检验检测浅谈个人经验, 与同行共勉。

1 猪尿样品采集

1.1 猪尿样品采集难度大

用猪的尿液检测“瘦肉精”是比较方便、快捷、经济和有效的方法。然而到猪场、养殖农户中采集猪尿液是比较困难的。每年的畜产品安全检测任务中, “瘦肉精”检测任务较大。要到县、乡、村养殖场、屠宰场、农户中采取大量的尿液样品, 要花费大量财力、人力和时间。一是畜主不让进猪圈接尿; 二是让畜主帮接一份猪尿要花费 3~4 h, 甚至一天到晚接不到几份猪尿。因此如何及时有效地采集尿样是

收稿日期: 2016-05-03

王有生, 男, 1959 年生, 农艺师。

0.01), 由管理不当造成死亡的, 夏季和秋季极显著高于春季和冬季 ($P < 0.01$), 由弱仔造成死亡的, 夏季和秋季显著高于春季和冬季 ($P < 0.05$)。

3 讨论分析

1) 腹泻。仔猪因腹泻死亡 2 731 头, 占总死亡头数的 65.71%, 居第 1 位。仔猪腹泻主要发生在寒冷季节。本次调查的腹泻主要有生理性腹泻、病毒

性腹泻、细菌性腹泻。春季和冬季极显著高于夏季和秋季 ($P < 0.01$)。

2) 管理不当。哺乳仔猪因管理不当死亡 1 020 头, 占总死亡头数的 27.54%, 居第 2 位。夏季和秋季极显著高于春季和冬季 ($P < 0.01$)。

2) 弱仔。因弱仔死亡 171 头, 占总死亡头数的 4.11%, 居第 3 位, 夏季和秋季极显著高于春季和冬季 ($P < 0.01$)。

一项值得研究的课题,根据笔者近几年来参加全市畜尿样采集经验总结,必须注意以下几个环节。

1)做好宣传工作。首先态度要和蔼,向畜主说明来意,宣传国家政策,希望畜主支持配合完成采样工作。同时,畜主同意采样后,采样人员要进行相应消毒,穿戴鞋套等,以防传播疫病。

2)选择在猪喂食后及时采尿。在等候采样时,要做好采样用品用具等一切准备。在南方,猪 1 d 最佳排尿时间是早上喂食后 7:00~9:00,中午喂食后 11:00~12:00,下午喂食后 17:00~18:00,也就是几时喂食几时排尿。这是猪的新陈代谢规律,吃饱后肯定要拉屎排尿,所以,在这段时间采集猪尿是最好时间,所以集中人力,抓住最佳时间快捷采样。

3)错过猪排尿时间段后采集猪尿的方法。如果猪刚刚喂食后排尿不久的时间去采尿,采尿人员可在畜主允许情况下,走进猪圈后把猪赶动顺时针或逆时针不断转圈,转到 4~8 圈后让猪在经常排粪便撒尿地方静停下来,这时猪开始排粪便,再转上 2~3 圈后,再让猪在排粪便撒尿地方静静停下,紧接着猪就要开始排尿了,这时抓紧接尿。另外是在炎热天采猪尿时,可给猪大量饮水,给健康猪下半身淋水让猪产生条件反射也可排尿。这时接尿的动作要轻快、准确,否则接不到猪尿。经过多年的经验,采用这种方法随时都可以接到猪尿,一般成功的机率达 80%~90%。

1.2 选择和改进接尿工具

1)接尿工具的改良。选择和改进接尿工具是有效采取猪尿的关键。以前,采尿人员用瓢穿上木棍去接猪尿,不论什么瓢,瓢的大小、把的长短和颜色的变化,都使猪受到惊吓,排尿停止了或跑了,接不到猪尿,收效很差。原因是瓢的体积过大,瓢把长活动不自如,把短接不到猪尿,即使接到猪尿,倒后每次都要清洗,在运输过程中体积过大不便携带,所以采用瓢去接猪尿很不理想。经过采样人员到基层养殖户接尿的经验总结,改进了一种适用有效的接尿工具。此工具用时小巧玲珑,经济适用,携带方便,不论大猪和小猪接尿时都不会受到惊吓,尿样干净,无污染,效果很好。具体的做法是用 8 号铁线或细钢筋焊成一圆环,环的大小能紧扣一个 250~300 mL 的纸杯或塑料杯即可,环上同时留有一根 15 cm 长的铁线;同时准备一根长 1.5~1.8 m 长,粗约 2 cm 的圆木棍,木棍的一端缠绕橡胶带,把铁

环预留的铁线插进胶带内固定,在环上紧扣一个接尿纸杯或塑料杯,这样一套简易的接尿工具便完成了。

最好的接尿工具是把木棍换成像钓鱼杆一样能够伸缩的杆子,杆子一端固定圆环,环上紧扣(卡住)纸杯或塑料杯,这样的接尿工具能够长短伸缩,体积非常小,使用自如,携带方便,同时比较耐用,效果非常好。

2)改良工具的优点。一是制作简单,经济适用,采样效率高;二是采样人员可以分散进猪圈接尿,一个纸杯接一份猪尿,纸杯上可以标注记号不易混淆;三是尿样清洁,不易混淆;四是可大大缩短了采样时间,节约人力物力;五是生猪免受惊吓,畜主接受。

2 尿样的封存、运输、送检

1)尿样的分装封存。采样结束后及时分装封存样品。将采集到的尿样,用干净的 30 mL 聚乙烯瓶分装尿样,每一份样品分装 30 mL 的 3 瓶,每瓶贴上标签,编上编号装入自封内袋,再套上纸袋封口,贴上封签。同时填好采样单让畜主签字。采样单与样品连在一起。2 瓶带回实验室检测,一瓶跟随留样单留给户主。每个样品不论带样和留样都要及时装入冰箱冷冻,不然尿液遇高温变质损坏。

2)尿样的运输。样品在运输过程中有车载冰箱的装入车载冰箱内冷冻,没有车载冰箱必须装入冷藏箱内加冰块或冰袋冷藏保存。在较短时间样品送到检测中心,填写收样单收样人签字后,存于 -18℃ 冰箱内保存待检。

3 样品检验

3.1 样品的检验方法

1)GB/T5009.192-2003 标准适用于动物性食品中盐酸克伦特罗残留量的测定。本标准规定了动物性食品中盐酸克伦特罗的测定方法。本标准适用于新鲜或冷冻的畜、禽肉与内脏及其制品中盐酸克伦特罗残留的测定,也适用于生物材料(人或动物、血液、尿液)中盐酸克伦特罗的测定。检出限量:气相色谱-质谱法为 0.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$;高效液相色谱法为 0.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$;酶联免疫法为 0.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。线性范围:相色谱-质谱法为 0.025~2.500 ng;高效液相色谱法为 0.5~4.0 ng;酶联免疫为 0.004~0.054 ng。

2)GB/T21313-2007 标准。适用于猪肉、猪肝、猪肾等动物源性食品以及猪尿中盐酸克伦特罗、沙丁胺醇、妥布特罗、特布它林、非诺特罗、福莫特罗、莱克多巴胺、异丙喘宁等 8 种 β -受体激动剂类残留量的高效液相色谱-质谱/质谱测定。

3)NY/T933-2005 标准。尿液中盐酸克伦特罗的测定胶体金免疫层析法,本标准规定了用胶体金免疫层析法检测尿液中盐酸克伦特罗的方法。本标准适用于猪、牛尿液中盐酸克伦特罗的快速检测,检测限为 3 ng/mL。

3.2 选择胶体金检测技术定性、筛选猪尿中“瘦肉精”

1)用胶体金检测卡快速检测定性、筛选。特点成本低、速度快、灵敏度高,仪器设备较易,可以定性筛选,可以到现场进行检测,适合大批量样品的快速检测和分析,是目前比较普遍采用的筛选检测方法。

2)胶体金技术检测猪尿液“瘦肉精”注意事项。金标检测卡,滴管、尿液样本从冰箱中取出,置于操作台上,并检查是否过期,与室温一致。标记好尿样编号,用滴管垂直滴加 2 滴尿样于加样孔(S)中,在 5 min 内观察判断结果。阳性(+):仅质控区(C)出现一条紫红色带,在测试区(T)内无紫红色带出现。表明尿液中的盐酸克伦特罗残留物大于 3 ng/mL。阴性(-):2 条紫红色条出现。一条位于测试区(T)内,另一条位于质控区(C)内。表明尿液中不含克伦特罗残留物或小于 3 ng/mL。

3.3 酶联免疫吸附法(ELISA)检测猪尿液中“瘦肉精”

有对双抗体夹心法测抗原、间接法测抗体、竞

争法测抗体等。以笔者最近使用的杭州迪恩科技有限公司生产的 ELISA 试剂盒(盐酸克伦特罗)为例,作简要概述。

1)试验材料。猪尿液样品,酶联吸附试剂盒(包被有抗体的微孔板(96 孔),酶标物冷干粉 1 瓶,酶标物溶解液 1 瓶(13 mL),样品稀释液 1 瓶(20 mL),清洗液 1 瓶(20 mL),显色剂 1 瓶(13 mL),终止液 1 瓶(13 mL),盐酸克伦特罗标准品 6×1 mL/瓶 0、0.1、0.3、0.9、2.7、8.1 ng/mL。

2)检测与结果计算。仪器校准、环境要求按实验室规则执行。样品处理、检测检验、结果计算依照试剂盒说明书要求执行。

3)酶联免疫吸附检测方法的注意事项。①操作前应对物理参数充分了解,如温度应保持在 18~25℃。反映孵育温度和孵育时间、洗涤次数等是否符合说明书要求;②正确使用加样器,加样器应垂直加入标本或试剂,避免刮擦包被板底部,避免样液交叉污染,重复等;③显色液量不可太多,加样的工作环境不能处于阳光直射的环境,加显色剂要避免光反应,显色液量不能过多以免显色过强;④试剂的影响因素:试剂要用有国家批准文号、质量靠得住的产品,不能图便宜忽视质量保证。试剂应妥善保存于 4℃冰箱内冷藏,在使用时先平衡至室温,不同批号的试剂不宜交叉使用。试剂开启后要在 1 周内用完,剩余的试剂及时封存,再用时应先检查是否变质,显色剂如被污染变色将造成全部显色导致错误结果。过期试剂不能再用,若别无选择应做好双份质控品的检测,确保检测结果的可靠性。

临产前蛋鸡的光照管理

临产前蛋鸡的光照管理也是非常重要的,养殖户需按下面的方法进行。

1)临产期鸡群的光照要从育成鸡每天 10 h,逐渐延长到开产后的每天 16 h,所以应进行人工补光。

2)为避免晚上用电高峰致光照强度不足或停电致补光失败这一现象,最好采用早晨补光。方法是晚上鸡舍熄灯前,将饲料加好,饮水流速调好后将水、电总开关关闭,清晨 3:00 将水、电开关打开。

3)冬季夜间寒冷,清晨鸡群采食、运动产热可以维持鸡舍内温度;炎热的夏季鸡食欲下降,清晨凉爽,鸡采食量增加使营养得以补充。另外,清晨补光至早上 8:00,鸡群产蛋基本结束,当日即可将鸡蛋收齐售出。

来源:中国禽病网