

T/GXSES

团 体 标 准

T/GXSES XXXX—2026

甘蔗病害便携式检测操作规程

Technical specification for environmental health risk assessment of new antibiotic pollutants in drinking water

(征求意见稿)

2026 - XX - XX 发布

2026 - XX - XX 实施

广西环境科学学会 发布

前 言

本文件按照GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由广西壮族自治区产品质量检验研究院提出。

本文件由广西环境科学学会归口。

本文件起草单位：广西壮族自治区产品质量检验研究院、广西民族大学、广西大学、广西益谱科技有限公司、中国质量检验检测科学研究院。

本文件主要起草人：

甘蔗病害便携式检测操作规程

1 范围

本文件界定了甘蔗病害便携式检测的术语和定义，规定了检测的基本原则、基本要求、核心操作流程（样品采集-预处理-仪器操作-结果判定）、仪器与试剂要求、质量控制、结果记录与报告、注意事项及质量监督的技术要求。

本文件适用于广西壮族自治区内甘蔗主要病害（梢腐病、黑穗病等）的便携式检测；可供制糖企业、种植合作社、基层农业技术推广机构、生态环境与质量监管部门、第三方检测机构及科研单位使用，覆盖田间病害筛查、基层农技推广监测、疫情应急排查等场景。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

HJ 630 环境监测质量管理技术导则

NY/T 1488 农作物种质资源鉴定技术规程 甘蔗

NY/T 1804 甘蔗花叶病毒检测技术规范

SN/T 4543 出口植物源性食品中病原菌快速检测 实时荧光PCR法

《检验检测机构资质认定评审准则》（国家市场监督管理总局 2023年第21号公告）

《检验检测资质认定 生态环境监测机构评审补充要求》（国市监检测〔2018〕245号）

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

甘蔗病害 sugarcane disease

指影响甘蔗正常生长发育的传染性病害，包括蔗梢腐病（病原菌：*Fusarium verticillioides*）、黑穗病（病原菌：*Sporisorium scitamineum*）病原菌引起的典型病害，是本文件便携式检测的核心对象。

3.2

便携式检测 portable detection

指采用小型化、便捷化检测仪器和简易前处理方法，在田间、现场等非实验室场景下开展的快速病害检测活动，具备操作简便、耗时短、可移动的特点。

3.3

病害指标 disease index

指能够特异性表征甘蔗某类病害的生物标志物（如病原菌核酸片段）。

3.4

同批次样品 samples of the same batch

同一采样时间段、同一采样小组、采用相同采集方法采集的甘蔗样品，或同一检测批次、同一检测人员、使用相同试剂检测的样品。

3.5

平行样 parallel sample

在相同条件下，对同一检测对象（同一甘蔗植株或同一病害部位）同时采集或制备的两份或多份样品，用于检验采集和检测过程的精密度。

3.6

程序空白 global order space

采样前在实验室将空白载体（如无菌水、空白滤纸）放入采样容器中密封，带到采样现场，与样品容器同时开盖和密封，随样品运回检测现场，按与样品相同的检测步骤进行处理和测定，用于检查样品采集到检测全过程是否受到污染。

3.7

阳性对照 positive control

已知含有目标病害病原菌或特征指标的标准样品，用于验证检测方法的有效性和准确性。

4 基本要求

4.1 总体原则

检测工作应遵循实操性、统一性、准确性、安全性原则，聚焦广西甘蔗种植区域分散、田间环境复杂的特点，简化操作流程、降低检测门槛，确保检测结果一致可靠，满足基层快速筛查与早期预警需求。

4.2 适用边界

明确检测对象为广西主要甘蔗品种的典型病害（梢腐病：*Fusarium verticillioides*、黑穗病：*Sporisorium scitamineum*），检测场景限定为非实验室现场环境，核心检测目标为病害的快速定性判定，辅助开展污染范围初步筛查。

4.3 责任主体

检测单位或个人应具备相应技术能力；制糖企业、种植合作社配合提供甘蔗种植基础信息，基层农业技术推广机构负责技术指导与监督。

5 核心操作流程

5.1 样品采集

收集采样区域甘蔗品种、种植年限、田间管理情况等基础信息；准备采样工具（不锈钢剪刀、采样袋、标签、GPS定位仪等），确保工具经无菌处理，避免交叉污染。

5.1.1 采样方法

5.1.1.1 根据田间地形和病害分布，设置3个采样点位，每个点位选取3—5株代表性甘蔗植株。

5.1.1.2 梢腐病：采集甘蔗梢部病健交界处组织，每株采集1—2个样本，重量不少于5g。

5.1.1.3 黑穗病：采集病穗或带菌茎段，避免病穗孢子散落。

5.1.1.4 采样时记录采样点位经纬度（GPS定位误差不超过5m）、采样时间、甘蔗生长阶段、病害表现症状。

5.1.2 样品保存与运输

采集的样品装入无菌采样袋，贴好标签（注明样品编号、采样点位、日期、病害类型），常温下运输时限不超过4h，如需存放，需冷冻保存，时间不超过1月内，严禁反复冻融。

5.2 样品预处理

5.2.1 样品净化

去除样品表面泥沙、杂质，用无菌水冲洗2—3次，滤纸吸干表面水分；用无菌剪刀剪取病害特征部位，去除健康组织，保留病健交界处组织约2g。

5.2.2 研磨提取

将处理后的样品放入便携式研磨仪，加入对应提取液以及液氮（按试剂盒说明书比例），研磨2min—3min至样品冷冻粉末；将样品冷冻粉末经基因试剂提取盒处理后置于离心机中取上清液。最后按照试剂盒中的要求进行净化处理提取样品。

5.3 样品检测

5.3.1 检测预准备

检测预准备应按以下步骤进行：

- a) MBs-S3 的制备：为将探针 DNA 连接至磁珠 (MBs)，向 500 μL 浓度为 2 μM 的 S3 溶液中加入 200 μL 含有 EDC/NHS (1 mg/mL) 的混合液。反应在 37 $^{\circ}\text{C}$ 下进行 1 小时，以活化 DNA 上的羧基。随后，将活化后的 DNA 溶液加入至 100 μL 浓度为 5 mg/mL 的磁珠悬液中，于 37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 4 小时，促进酰胺键的形成。所得 MBs-S3 复合物经磁分离收集，并于 4 $^{\circ}\text{C}$ 保存备用。
- b) S1/S2-Au@Cu₂O 的制备。巯基化 DNA 与 Au@Cu₂O 纳米颗粒的缀合分三步进行。首先，使用 TCEP 缓冲液在 37 $^{\circ}\text{C}$ 下还原 DNA 探针 (S1 和 S2) 的二硫键，处理 1 小时。接着，将 200 μL 还原后的 DNA 溶液 (各 2 μM) 与 200 μL Au@Cu₂O 溶液 (3 mg/mL) 混合，在 37 $^{\circ}\text{C}$ 下孵育 3 小时。最后，混合物在 8000 rpm 下离心 5 min，所得沉淀经洗涤后重新分散于 200 μL 无酶水中。
- c) 将 50 μL 浓度为 2 μM 的 Au@Cu₂O-S1、2 μM 的 Au@Cu₂O-S2 与 MBs-S3 在 37 $^{\circ}\text{C}$ 下孵育 2 小时，形成三元复合物。通过磁分离收集所得产物，并重新分散于 150 μL 无酶水中。

5.3.2 反应检测

取 50 μL 三元复合物与提取样品混合，在 37 $^{\circ}\text{C}$ 下反应 2 小时以启动链置换反应，释放副产物 Au@Cu₂O-S1。接着，向体系中加入 50 μL 燃料链 F，继续在 37 $^{\circ}\text{C}$ 下反应 2 小时。此步骤生成 MBs-S3-F 复合物和副产物 Au@Cu₂O-S2。通过磁性分离，吸取上清液转移至含有 200 μL 5 mM TMB 和 400 μL 2 mM H₂O₂ 的体系中，随后放入便携式检测暗箱中，进行拍照比色分析。随后，用功率密度为 1 W/cm² 的 808 nm 红外激光照射该溶液 120 秒。通过蓝牙热成像仪与智能手机联用，实时监测并记录光热信号，从而实现双模式比色和光热检测。

5.3.3 信号读取

检测程序结束后，手机程序自动输出检测信号值，记录仪器显示的原始数据，不得擅自修改检测结果。

5.4 结果判定

5.4.1 判定依据

- 以仪器设定的阈值为标准，结合阳性对照和空白对照结果进行判定：
- 阳性对照出现特征信号、空白对照无特征信号时，检测结果有效；
 - 样品检测信号值高于阈值，判定为阳性（存在对应病害）；
 - 信号值低于阈值，判定为阴性（未检出对应病害）。

5.4.2 结果复核

当检测结果出现疑似阳性或信号值接近阈值时，需重新采集平行样品进行复检，复检结果仍为疑似阳性的，送实验室进一步确认。

6 仪器与试剂要求

6.1 合规性原则

6.1.1 技术参数

- 6.1.1.1 检测精度：阳性检出率 $\geq 80\%$ ，阴性符合率 $\geq 80\%$ 。
- 6.1.1.2 便携性：重量 $\leq 5\text{ kg}$ ，供电方式支持干电池提供。

6.1.2 维护与校准

维护保养：检测后及时清理仪器反应池和采样通道，避免样品残留。

6.2 检测试剂

6.2.1 试剂规格

选用与检测仪器配套的专用试剂，试剂需在有效期内使用，包装完好无破损、无泄漏。

6.2.2 保存条件

试剂保存需符合说明书要求，通常2℃—8℃冷藏保存（部分-20℃），避免阳光直射和高温环境。

7 质量控制

7.1 样品质量控制

同一批次采样平行样采集比例不少于15%，平行样检测结果相对偏差≤20%，超出偏差范围需重新采样检测。

7.2 全流程质控

每次检测需设置阳性对照、空白对照和全程序空白，阳性对照应准确检出，空白对照和全程序空白不得出现特征信号，否则检测结果无效，需重新检测。

7.3 数据审核

实行二级审核机制，检测人员自审、技术负责人复审，审核内容包括采样记录完整性、操作流程规范性、检测结果逻辑性，异常结果需溯源核查，明确处理方式并记录。

7.4 环境适配控制

田间检测时，若环境温度低于10℃或高于35℃，需采取保温或降温措施；雨天、大雾等湿气严重时期禁止检测。

8 结果记录与报告

8.1 数据记录

采用统一格式记录，核心内容包括：

- 样品信息：样品编号、采样点位、甘蔗品种、采样日期时间；
- 检测信息：仪器型号、试剂批次、检测参数、检测时间；
- 质控信息：阳性对照、空白对照检测结果；
- 结果信息：检测信号值、判定结论（阳性/阴性/疑似）；
- 记录人、审核人签字确认，确保信息可追溯。

8.2 报告编制

简易检测报告应包含检测概况、采样信息、检测结果、质控情况、判定结论及建议（如阳性结果需及时开展田间防控）；报告需在检测完成后24小时内出具，供相关单位参考使用。

9 注意事项

9.1 安全防护

检测人员需佩戴一次性手套、口罩，避免直接接触病害样品和试剂；操作结束后及时洗手，废液、废弃样品需密封处理，不得随意丢弃。

9.2 仪器防护

仪器运输过程中做好防震、防潮、防摔保护，避免剧烈碰撞；田间使用时远离水源和腐蚀性物质，避免仪器故障。

9.3 样品处理禁忌

不得使用非无菌工具处理样品，不得将不同病害类型的样品混合处理，避免交叉污染影响检测结果。

附 录 A
(规范性)
甘蔗病害便携式检测记录表

甘蔗病害便携式检测记录表见表A.1。

表 A.1 甘蔗病害便携式检测记录表

检测环节	核心记录项	填写要求	备注
采样信息	样品编号、采样点位坐标、甘蔗品种、病害类型	信息完整准确	附采样点位图
样品处理	预处理时间、提取液批次、研磨时间	实时记录	注明是否净化过滤
仪器检测	仪器型号、校准情况、检测参数、试剂批次	参数清晰可追溯	阳性/空白对照结果单独记录
结果判定	检测信号值、判定结论、复核情况	结论明确	异常结果注明原因
审核确认	记录人签字、审核人签字、检测日期	签字齐全	报告编号唯一标识