



天津科技大学学报

Journal of Tianjin University of Science & Technology

ISSN 1672-6510, CN 12-1355/N

《天津科技大学学报》网络首发论文

题目： 燕窝双重防伪溯源：二维码与 DNA 溯源码结合
作者： 宋亚峰，邢冉冉，梁晓珂，张九凯，杜欣军，陈颖
DOI： 10.13364/j.issn.1672-6510.20250061
收稿日期： 2025-03-27
网络首发日期： 2025-07-28
引用格式： 宋亚峰，邢冉冉，梁晓珂，张九凯，杜欣军，陈颖. 燕窝双重防伪溯源：二维码与 DNA 溯源码结合[J/OL]. 天津科技大学学报. <https://doi.org/10.13364/j.issn.1672-6510.20250061>



网络首发：在编辑部工作流程中，稿件从录用到出版要经历录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿等阶段。录用定稿指内容已经确定，且通过同行评议、主编终审同意刊用的稿件。排版定稿指录用定稿按照期刊特定版式（包括网络呈现版式）排版后的稿件，可暂不确定出版年、卷、期和页码。整期汇编定稿指出版年、卷、期、页码均已确定的印刷或数字出版的整期汇编稿件。录用定稿网络首发稿件内容必须符合《出版管理条例》和《期刊出版管理规定》的有关规定；学术研究成果具有创新性、科学性和先进性，符合编辑部对刊文的录用要求，不存在学术不端行为及其他侵权行为；稿件内容应基本符合国家有关书刊编辑、出版的技术标准，正确使用和统一规范语言文字、符号、数字、外文字母、法定计量单位及地图标注等。为确保录用定稿网络首发的严肃性，录用定稿一经发布，不得修改论文题目、作者、机构名称和学术内容，只可基于编辑规范进行少量文字的修改。

出版确认：纸质期刊编辑部通过与《中国学术期刊（光盘版）》电子杂志社有限公司签约，在《中国学术期刊（网络版）》出版传播平台上创办与纸质期刊内容一致的网络版，以单篇或整期出版形式，在印刷出版之前刊发论文的录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿。因为《中国学术期刊（网络版）》是国家新闻出版广电总局批准的网络连续型出版物（ISSN 2096-4188，CN 11-6037/Z），所以签约期刊的网络版上网络首发论文视为正式出版。



DOI:10.13364/j.issn.1672-6510.20250061

燕窝双重防伪溯源：二维码与 DNA 溯源码结合

宋亚峰^{1,2}, 邢冉冉², 梁晓珂², 张九凯², 杜欣军¹, 陈颖²

(1. 天津科技大学食品科学与工程学院, 天津 300457; 2. 中国检验检疫科学研究院, 北京 100176)

摘要: 在燕窝产业中, 保障产品的真实性和品质是监管机构、制造商和消费者共同关注的焦点。研究构建创新的双重防伪追溯系统, 将二维码技术和新型 DNA 溯源码技术整合, 提升燕窝产品标签的真实性和可追溯性。采用 DNA 存储技术, 将燕窝产品的身份和产地信息编码为独特的 DNA 序列, 并通过基于质粒载体的生物保护和二氧化硅颗粒的化学保护对 DNA 封装, 实现其稳定性和长期保存。将该 DNA 序列与油墨混合, 印制为可扫描的二维码标签。消费者通过扫描二维码即可获取燕窝产品的基本信息; 同时, 二维码中的 DNA 溯源码可通过提取和测序验证其真实性, 从而确保产品标签的防伪效果和可靠性。本研究为燕窝产品真实性鉴别和产地溯源提供科学依据, 为燕窝行业健康发展及食品真实性与溯源研究应用提供新范式与思路。

关键词: 燕窝; 双重防伪溯源; 二维码标签; DNA 溯源码; 二氧化硅颗粒; 真实性鉴别

中图分类号: TS207.3

文献标志码: A

文章编号: 1672-6510 (0000) 00-0000-00

Bird's Nest Double Anti-Counterfeiting Traceability: QR Codes Are Combined with DNA Traceability Codes

SONG Yafeng^{1,2}, XING Ranran², LIANG Xiaoke², ZHANG Jiukai², DU Xinjun¹, CHEN Ying²

(1. College of Food Science and Engineering, Tianjin University of Science and Technology, Tianjin 300457, China;

2. Chinese Academy of Inspection and Quarantine, Beijing 100176, China)

Abstract: In the bird's nest industry, ensuring the authenticity and quality of products is a common concern for regulators, manufacturers and consumers. In this study, an innovative dual anti-counterfeiting traceability system was constructed, which integrated QR code technology and novel DNA traceability code technology to improve the authenticity and traceability of bird's nest product labels. In this study, DNA storage technology was used to encode the identity and origin information of bird's nest products into unique DNA sequences, and the DNA was encapsulated through plasmid vector-based bioprotection and chemical protection of silica particles to achieve its stability and long-term preservation. Subsequently, this DNA sequence is mixed with ink and printed as a scannable QR code label. Consumers can get the basic information of bird's nest products by scanning the QR code; At the same time, the DNA traceability code in the QR code can verify its authenticity through extraction and sequencing, so as to ensure the anti-counterfeiting effect and reliability of the product label. This study can provide a scientific basis for the authenticity identification and origin traceability of bird's nest products, and provide a new paradigm and ideas for the healthy development of the bird's nest industry and the research and application in the field of food authenticity and traceability.

Key words: bird's nest; dual anti-counterfeiting traceability; QR code label; DNA traceability code; silica nanoparticles; authenticity identification

收稿日期: 2025-03-27; 修回日期: 2025-05-26

基金项目: 北京市科技新星计划资助项目 (20240484632); 中国检验检疫科学研究院基本科研业务费项目 (2024JK030)

作者简介: 宋亚峰 (2000—) 女, 山西人, 硕士研究生; 通信作者: 杜欣军, 教授, xinjundu@163.com

燕窝是由雨燕科 (Apodidae) 金丝燕属 (*Aerodramus*) 鸟类分泌唾液筑成的巢窝^[1], 因其独特的营养成分和生物活性而备受消费者青睐。燕窝富含唾液酸、糖蛋白、表皮生长因子、牛磺酸^[2], 这些成分赋予其多种生物学功能, 如促进表皮细胞生长、增强免疫力及延缓衰老^[3]。随着燕窝产业的快速发展, 其高附加值和供需失衡的市场特性导致掺假造假现象频发, 已成为行业亟需解决的问题。燕窝的欺诈行为包括使用猪皮、银耳、鱼鳔等低价值食品冒充燕窝以获取经济利益^[1]。除了燕窝产品本身假冒问题, 市场上还出现了仿冒燕窝产品包装二维码标签的现象。

目前, 燕窝真伪鉴别方法主要包括生物学方法和理化分析方法。生物学方法包括实时荧光 PCR 法^[4]、酶联免疫吸附法^[5]及电泳分析法^[6]; 理化分析则采用电感耦合等离子质谱法^[3]。这些技术尽管在实验室条件下表现出色, 但在面对复杂样品的普适性方面仍存在较大限制。标签防伪技术的发展在一定程度上解决了燕窝产品标签造假的问题。当前主流的防伪手段包括利用 DNA 条形码技术为产品提供独特的生物标识^[7], 将数字水印技术嵌入产品包装^[8], 通过射频识别 (RFID) 和近场通信 (NFC) 技术与设备通信检索标签上的信息^[9], 利用区块链技术确保信息不可篡改^[10], 以及运用人工智能技术对大数据进行精确分析等^[11]。这些技术虽提升了产品的防伪能力, 但仍面临易损坏、可复制、易遭受网络攻击以及技术兼容性差和成本效益低等挑战^[12]。因此, 亟需开发防伪性、稳定性及准确性更优的新型防伪溯源标签技术, 以保障燕窝产品安全性, 维护消费者权益, 促进燕窝市场贸易的良性发展。

本研究旨在开发一种创新型双重防伪溯源系统, 结合 DNA 存储技术与二维码标签技术, 从而提升燕窝产品标签的真实性与可追溯性。研究中将燕窝产品的身份和产地信息编码为 DNA 序列, 并与油墨混合打印成二维码标签, 再通过回收和解码油墨中的 DNA 信息, 结合智能设备扫描二维码链接到燕窝溯源平台, 实现产品的双重真伪鉴别和溯源。

1 材料与方法

1.1 材料

快速 PCR 纯化试剂盒, 德国凯杰公司; 质粒大提试剂盒, 美国 OMEGA 公司; PCR 扩增试剂盒,

北京康润诚业生物科技有限公司; Qubit™ dsDNA 核酸试剂盒, 赛默飞世尔科技公司; DL5000 DNA marker, 北京博迈德基因技术有限公司; pUC19 载体、*E. coli* DH5 α 感受态细胞、氨苄青霉素, Ampicillin, AMP, 宝生物工程 (大连) 有限公司; LB 肉汤、LB 琼脂, 北京陆桥技术股份有限公司; 琼脂糖, 北京擎科新业生物技术有限公司; DNA 溯源码、PCR 扩增引物均合成于生工生物工程 (上海) 股份有限公司; 普通喷印油墨、UV 印刷油墨、水溶性柔性油墨、易碎纸, 三河陆桥质检印务有限公司。

Avanti JE 型高性能离心机, 美国贝克曼库尔特公司; 微量移液器、涡旋振荡器, 德国 Eppendorf 公司; PowerPac Basic 电泳仪、5200Tanon 化学发光凝胶成像系统, 美国尼高力仪器公司; 高压灭菌锅, 美国致微公司; 台式离心机、落地低温摇床、NanoDrop 超微量分光光度计、Qubit 3.0® 核酸荧光蛋白定量仪, 赛默飞世尔科技公司; 恒温恒湿培养箱, 德国 Binder 公司。

1.2 实验方法

1.2.1 DNA 溯源码的构建和封装过程

本研究所设计的 DNA 溯源码包括燕窝产品的身份信息 and 产地信息。首先, 选取在金丝燕属中保守而在其他物种中有差异的序列设计高特异性引物, 用来代表燕窝产品的身份信息。然后, 将生产企业号的数字信息通过 UTF-8 转换为二进制信息, 再通过 DNA Fountain 的编码方法并结合里德-所罗门 (Reed-Solomon, RS 码) 纠错机制开发出一套 Python 程序, 从而将二进制信息转换为 DNA 序列, 用来代表燕窝产品的身份信息。两者结合最终形成一段特定的 DNA 序列 (113 bp) 标识燕窝产品。编码序列的唯一性通过美国国家生物技术信息中心 (National Center for Biotechnology Information, NCBI) 网站 (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov>) BLAST 进行相似性搜索。序列交由生工生物工程 (上海) 股份有限公司合成, 并以干燥状态运输。

为高效扩增该 DNA 序列, 设计高特异性引物, 利用聚合酶链式反应 (PCR) 技术获得足够的 DNA 模板, 通过琼脂糖凝胶电泳 (agarose gel electrophoresis, AGE) 验证扩增片段的长度。扩增产物经纯化试剂盒处理, 以确保其纯度和质量。取 1 μ L 纯化 DNA, 依据 pUC19 质粒载体说明书定位 DNA 溯源码插入位点, 并通过转化 *E. coli* DH5 α 感受态细胞扩增质粒。在含有抗生素 (AMP) 的培养

基中筛选出含有目标质粒的阳性克隆菌落, 进行质粒 DNA 的富集与提取, 从而获得 DNA 溯源标识物。利用 NanoDrop 超微量分光光度计测定 1 μL DNA 溯源码的质量浓度及其在 230、260、280 nm 处的吸光度 (A), 并根据 A_{260}/A_{280} 的比值判断质粒纯度, 再通过 PCR 和 AGE 判定质粒 DNA 的完整性。

PCR 反应总体系为 20 μL , 包括 2 \times Taq PCR Master Mix 10 μL , 10 $\mu\text{mol/L}$ 上游引物 (5'-CGAATGATGGGCGGGATATAA-3')、下游引物 (5'-GCGGATAACAATTTTCACACAGG-3') 各 0.2 μL , DNA 模板 1 μL , 加双蒸水补足体积至 20 μL 。PCR 扩增条件: 95 $^{\circ}\text{C}$ 2 min; 94 $^{\circ}\text{C}$ 30 s, 退火温度 62 $^{\circ}\text{C}$ 30 s, 72 $^{\circ}\text{C}$ 30 s, 35 个循环; 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 5 min, 4 $^{\circ}\text{C}$ 保存。采用 1% 琼脂糖凝胶电泳, 电压 110 V 持续 30 min, 通过凝胶成像仪分析 PCR 扩增产物, 并对照 marker 确定质粒 DNA 溯源标识物的片段完整性。最后, 将 PCR 产物进行 Sanger 测序, 确保 113 bp 的 DNA 序列成功接入质粒载体。

为了确保 DNA 溯源码质粒 DNA 的稳定性, 采用 Paunescu 等^[13]的方法, 即溶胶-凝胶法制备二氧化硅颗粒, 从而对质粒 DNA 进行封装。将碱性改性溶液 (18 mL 无水乙醇、0.8 mL 25% 氨溶液和 0.5 mL Milli-Q-H₂O) 与 0.8 mL 硅酸乙酯 (TEOS) 混合, 900 r/min 振荡 6 h, 得到 50 mg/mL 二氧化硅颗粒溶液。将 10 μL TMAPS 与 1 mL 二氧化硅颗粒溶液混合, 900 r/min 振荡 12 h, 形成铵功能化二氧化硅颗粒。将 50 $\mu\text{g/mL}$ 质粒 DNA 吸附在铵功能化二氧化硅颗粒表面, 加入 0.5 μL 50% TMAPS 溶液和 TEOS, 900 r/min 搅拌 4 h, 再向溶液中加入 4 μL TEOS, 900 r/min 搅拌 96 h, 悬浮于异丙醇溶液中。至此, 得到了铵功能化二氧化硅颗粒封装的 DNA (silica nanoparticles with encapsulated DNA, SPED)。

1.2.2 SPED 与油墨混合印制新型二维码标签

在二维码标签印制过程中, 选择合适的油墨至关重要。基于对燕窝二维码标签印刷工厂的实地调

研, 筛选出 3 种综合性能优异的标签印刷油墨, 分别为: 普通喷印油墨、UV 印刷油墨和水溶性柔印油墨, 其印刷能力 (包括附着力、耐磨性等关键指标) 也已在工厂实际生产中得到验证, 均符合应用标准。为了实现最佳印刷效果, 将这 3 种油墨与 SPED 按照 1:1 混合, 涡旋混匀后喷涂在二维码印章上, 并印制在易碎纸上, 印制过程中应确保二维码图案的清晰度和完整性。通过对 3 种油墨综合性能的表现, 确定最终用于燕窝产品二维码标签印制的油墨。

为了筛选出能够最大化 DNA 溯源码效果和功能的最佳混合比例, 进行了 SPED 与最适油墨添加比例分别为 1:1、1:2、1:4、1:6、1:8、1:10 的 6 组实验。利用 Qubit 核酸荧光蛋白定量仪测定每个样本中的 DNA 质量浓度, 每组 3 次平行实验, 并用 SPSS 软件进行单因素方差分析 (ANOVA) 确定不同样本数据的显著性差异。

同时, 还需确保筛选出的最适油墨与 DNA 溯源码在试管和二维码标签中的分布均匀性 (图 1), 使其具有良好的检出性。将 100 μL SPED 与 600 μL 油墨在试管中涡旋混匀, 用移液枪从试管的顶部、中部、底部分别吸取油墨 DNA 样本 60 μL ; 在二维码标签中, 将 10 μL SPED 与 60 μL 油墨混合均匀, 取 30 μL 涂抹在二维码印章并印制在易碎纸上, 等待风干后, 用蘸有无水乙醇的无菌棉签从二维码标签的上部、中部、下部收集油墨 DNA 样本。试管和二维码标签中收集到 6 组区域的油墨 DNA 分别做 3 组平行实验, 混合物 12000 r/min 离心 2 min, 将油墨沉淀分离, 收集含有 SPED 的上清液, 再通过蚀刻纯化步骤得到高质量 DNA。采用 Qubit 核酸荧光蛋白定量仪测定 DNA 质量浓度, 所得数据计算平均值和相对标准偏差 (RSD)。RSD 是衡量数据离散程度的重要指标, 它提供了一个量化的方式观察数据点相对于平均值的波动情况。当 RSD 低于 10% 时, 表明数据集具有较好的一致性, 数据变异程度较小, 实验结果的重复性和稳定性较高, 实验数据可靠。



图 1 验证标签中 DNA 溯源码分布均匀性示意图 (a) 试管中均匀性 (b) 二维码标签中均匀性

Fig. 1 Schematic diagram of the uniformity of the distribution of DNA traceability codes in the verification label (a) Uniformity in the test tube (b) Uniformity in the QR code label

1.2.3 新型二维码标签中 DNA 的回收及检测

新型二维码标签防伪溯源信息可以通过以下两种方式读取：通过智能设备扫描燕窝产品表面的二维码标签，快速链接到燕窝溯源平台，获取燕窝产品的详细信息；通过从二维码标签回收油墨中的 DNA，利用 Sanger 测序技术、Mega11 软件比对是否为原始插入序列，再利用 DNA Fountain 解析 DNA 序列携带的数据信息，从而实现双重防伪溯源的效果（图 2）。

扫描燕窝标签二维码后，显示产品信息（名称、产地、生产日期等）、流通信息（企业名称、地址等）和防伪信息（追溯码、查询次数）。用户需核对信息是否与产品一致，再通过官网输入燕窝码验证有效性。刮开“消费者查询码”涂层，输入数字验证真伪。信息正确则显示真品，显示错误或存在多次查询提醒则有伪劣风险。

确认过燕窝产品的基本信息正确后，进一步对二维码标签中油墨包含的 DNA 信息回收检测，验证该二维码的真实性。制备蚀刻缓冲液，用于溶解 SPED 中的铵功能化二氧化硅颗粒，释放 DNA 溯源码。将 0.23 g NH_4FHF 和 0.19 g NH_4F 分别溶解在 5 mL 超纯水中，然后将两种溶液混合均匀，pH 试纸测得混合液的 pH=4，得到酸碱度适合的蚀刻液。将 300 μL 蚀刻液与 100 μL SPED 溶液混合静置 5 min 释放 DNA。利用 PCR 纯化试剂盒对 DNA 分子进行纯化，50 μL 缓冲液 EB 用于 DNA 的洗脱。采用 Sanger 测序技术获取 DNA 溯源码的准确序列，与预先设计的序列进行一致性比对。通过解码技术将 DNA 序列转换为燕窝产品特定的身份和产地信息，与原始数据进行验证。



图 2 燕窝 DNA 防伪溯源标签的应用示意图

Fig. 2 Schematic diagram of the application of DNA anti-counterfeiting and traceability labelling for bird's nests

2 结果与讨论

2.1 合成 DNA 溯源码及封装体系 SPED

通过对燕窝产品的身份信息和产地信息进行标识，得到碱基序列长度为 113 bp 的 DNA 溯源码，序列信息为：
TCCACCCCTACTTCTCCACGAATGATGGGCGGG
ATATAAATATATAAATAGATAGATCAATAAATCAA
TAAATAGATAAATAAATACATACGTTGGCTGGGG
TGAAGTTTTTCG。通过 NCBI 网站的 BLAST 工具对该序列进行了全面比对，确保该序列的唯一性。结果显示，该 DNA 序列在当前已知数据库中未发现显著同源性序列，表明该序列可作为防伪标识具有潜在的唯一性，能够有效区分燕窝产品。

将该序列整合入质粒载体进行生物保护，以增强 DNA 溯源码的稳定性。采用 pUC19 载体上多克隆位点（MCS）的限制性内切酶位点（*EcoRI* 和 *BamHI*）将 DNA 序列接入到克隆载体中，并使用上下游引物（M13rev 和 M13fwd）验证 DNA 序列的方向，最后通过 DNA 连接酶将切割后的载体和插入的 DNA 序列进行连接。pUC19 载体大小为 2686 bp，接入 DNA 后质粒 DNA 的长度为 2799 bp（图 3）。

NanoDrop 超微量分光光度计测得纯化质粒 DNA 的 $A_{260}/A_{280}=1.89$ 、 $A_{260}/A_{230}=2.01$, 符合质粒 DNA 高纯度标准 ($A_{260}/A_{280}>1.8$ 且 $A_{260}/A_{230}>2.0$)。将构建并克隆筛选成功的质粒 DNA 进行 PCR 和 AGE 实验, 结果显示, 质粒 DNA 能够扩增出单一明亮且完整的条带 (图 4)。通过 Sanger 测序, 将测序得到的质粒 DNA 的 FASTA 序列 (S1) 与原始插入的 113 bp DNA 溯源码序列 (S2) 进行序列比对 (图 5), 结果表明, 质粒序列与目标插入序列比对一致性为 100%, 表明 DNA 溯源码已成功插入 pUC19 质粒载体中。

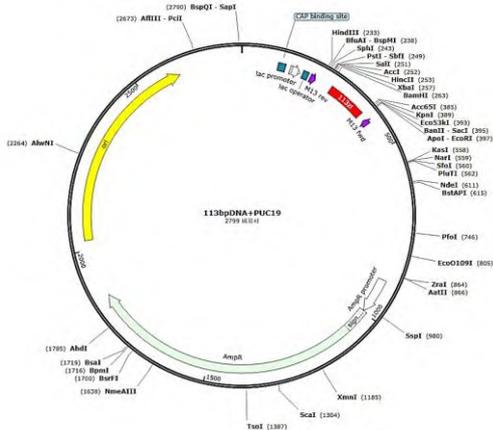


图 3 DNA 溯源码接入 pUC19 质粒载体全序列图谱

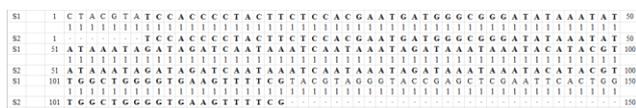
Fig. 3 The DNA traceability code was connected to the full sequence map of the pUC19 plasmid vector



M. 5000 bp marker; 1-3. 质粒 DNA 的 3 组平行样品; K. 空白对照 (无菌水)

图 4 质粒 DNA 的琼脂糖凝胶电泳图

Fig. 4 Agarose gel electrophoresis image of plasmid DNA



S1. 质粒 DNA 测序得到的 FASTA 序列; S2. 原始插入 DNA 溯源码序列

图 5 序列比对结果

Fig. 5 Sequence alignment results

为了进一步增强质粒 DNA 的生物稳定性, 采用带正电荷的烷基硅烷作为偶联剂, 与质粒 DNA 分子中带负电荷的磷酸键发生静电相互作用, 实现铵功能化二氧化硅颗粒和质粒 DNA 的结合, 成功构建 SPED 颗粒。此前研究确定, 最佳配比为 250 μL 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ DNA 溶液和 70 μL 铵功能化二氧化硅颗粒,

此配比下制备的 SPED 回收效果及成本效益最高。扫描电子显微镜成像表明颗粒粒径均匀、未观察到明显的团聚现象, 说明颗粒体系具有良好的分散性; 透射电子显微镜成像表明包覆后纳米颗粒厚度增加约 9 nm, 二氧化硅层致密, 保护效果优异 (图 6)。此外, 利用 Nano Measurer 软件对 SEM 图像进行颗粒尺寸分析 (随机选取 20 个颗粒), 结果表明: 铵功能化后二氧化硅颗粒的平均粒径为 94 nm, SPED 颗粒的平均粒径为 103 nm, 该结果说明颗粒表面形成了约 9 nm 的薄层, 该结果与 TEM 观测数据相一致 (图 7)。

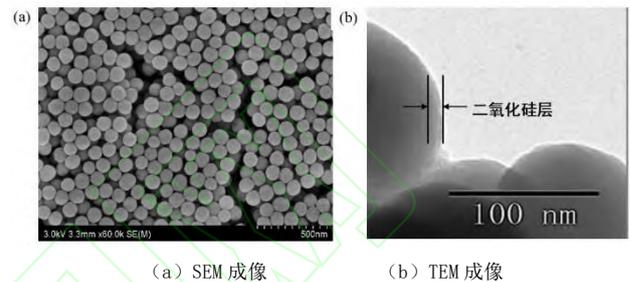


图 6 最优封装体系铵功能化二氧化硅颗粒成像

Fig. 6 Imaging of ammonium functionalized silica particles in the optimal encapsulation system

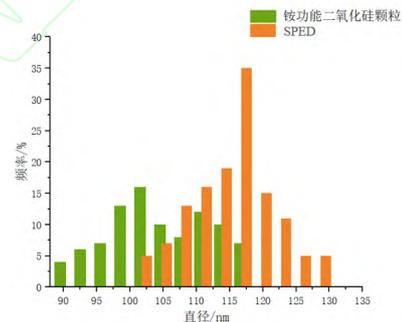


图 7 铵功能化二氧化硅与 SPED 颗粒粒径对比结果

Fig. 7 Comparison of particle sizes between ammonium-functionalized silica and SPED particles

此外, 也有学者研究了 DNA 所存储的信息能够实现牛奶^[14]、火腿^[15]、白酒^[16]等食品领域的真实性鉴别和产地追溯。同时, 对于 SPED 颗粒抵御外界不良因素的稳定性进行研究。研究发现, SPED 在 120 $^{\circ}\text{C}$ 的高温条件下可以至少稳定存在 20 min; 在活性氧自由基 (ROS) 条件 (含 2.5 μL 20 mmol/L 抗坏血酸、12.5 μL 20 mmol/L 过氧化氢和 17.5 μL 500 mmol/L 二氯化铜的混合氧化体系) 下可以至少稳定存在 20 min; 在高温高湿度的加速老化条件下 (65 $^{\circ}\text{C}$ 、相对湿度 50%) 至少可以稳定存在 100 h, 根据衰减速率与温度的依赖关系和一级动力学活化能 (约 155 $\text{kJ}/\text{mol}^{-1}$), 通过阿伦尼乌斯公式换算得出, 老化条件下储存 100 h 相当于室温条件下储存 3 年, 该期限与

燕窝产品的一般保质期相当。因此，极端条件下的 SPED 对 DNA 溯源码具有较好的封装稳定性，能够确保 DNA 存储数据的完整性。因此，基于二氧化硅颗粒的封装保护方法在 DNA 封装领域得到了广泛应用^[17-20]。

DNA 作为一种新型的防伪溯源手段，因其高存储密度^[21]、纳米级尺寸难伪造^[22]、良好的生物相容性^[23]等特点，具有广泛的应用前景。近年来，人工合成的外源 DNA 作为示踪粒子在商业化领域的应用趋势日益增长，其广泛的应用前景涵盖食品安全追踪与认证^[15-16,24]、药品监管中的真实性保障^[25-26]、环境监测中的污染物追踪^[27-28]以及供应链管理中的透明度和效率提升^[29]。将新兴 DNA 溯源码技术与传统 DNA 条形码防伪技术进行综合比较（表 1）。两者在原理、应用及性能上存在显著差异。DNA 溯源码技术通过人工合成加密的短序列并将其嵌入产品中，形成一种特殊的外源 DNA 标签，用于标识商品来源。在鉴定商品真伪时，检测该外源 DNA 标签的存在与否即可判断商品是否符合正品要求。这种技术具有高信息存储密度、高防伪强度、良好的稳定性和隐蔽性，但由于人工合成 DNA 的成本较高，目前主要应用于高价值商品的真伪鉴定。相比之下，DNA 条形码技术^[30]依赖于物种的标准基因片段（如 *Cytb* 基因等），属于内源 DNA 标签，通过选择具有高度保守性的基因序列实现物种的快速识别。虽然片段获取成本较低，但是检测过程需要依赖 PCR 扩增和测序，且基因长片段容易降解，稳定性相对较差，更适合用于非实时的物种鉴定或农产品溯源场景。总体而言，DNA 溯源码在防伪强度和准确性上优势明显，而 DNA 条形码技术则胜在成本低廉和成熟度较高。

表 1 DNA 防伪技术比较

Tab. 1 Comparison of DNA anti-counterfeiting technologies

对比维度	DNA 溯源码	DNA 条形码
片段来源	人工合成加密序列	提取自然基因片段
技术原理	外源 DNA	内源 DNA
存储密度	极高	中等
检测速度	快	中
成本	中高	低
稳定性	强	弱

2.2 SPED 与油墨混合印制二维码标签

2.2.1 SPED 与油墨混合比例优化

在对燕窝产品二维码标签用墨的筛选实验中，对 3 种油墨的特性及其混合 SPED 后的 DNA 质量浓

度及其他关键性能指标进行对比分析。

普通喷印油墨：与数码印刷机配合使用，干燥时间短（40 s），操作方便，但耐久性差，易褪色磨损。Qubit 核酸荧光蛋白定量仪测定其混合 SPED 后的 DNA 质量浓度为 0.94 ng/μL。

UV 印刷油墨：耐磨性优异，但固化依赖 UV 光源。无 UV 灯照射时，干燥时间延长至 1 min 50 s，且有刺激性气味。SPED 混合后 DNA 质量浓度为 0.53 ng/μL，显著低于其他两种油墨。

水溶性柔印油墨：通过热风干燥机 80 °C 烘干，环保且成本低，适合大批量生产。黏度较高，干燥时间适中（1 min）。加入 SPED 后，DNA 质量浓度达到 1.89 ng/μL，与其他两种油墨相比具有显著性差异（ $P < 0.05$ ），在 DNA 溯源码检出性方面具有显著优势。

综合比较上述 3 种油墨，水溶性柔印油墨因其环保、成本效益、适宜的干燥速度、优异的 DNA 溯源码检出性，被选为燕窝产品二维码标签的最佳油墨。该选择满足了燕窝产品对高质量标签的需求，兼顾了环境保护和成本控制。

2.2.2 SPED 与水溶性油墨最优混合比例的确定

为提升水溶性油墨印刷标签品质，确保二维码清晰可扫描且 DNA 溯源码检出浓度高，通过 Qubit 核酸荧光蛋白定量仪测量不同混合比例下 DNA 浓度，进行统计分析，确定 SPED 与水溶性油墨的最佳混合比例（表 2）。

实验结果表明，油墨的添加比例对 DNA 回收浓度有显著影响，呈现先增加后减少的趋势。当 SPED 与水溶性油墨以 1 : 6 的比例混合时，印刷质量和 DNA 溯源码检出效率达到最佳平衡，此时 DNA 检出质量浓度达到最高，为 8.57 ng/μL，显著高于其他组（ $P < 0.05$ ）。该比例同时兼顾了二维码标签的清晰度和检测效率，表明此混合比例下油墨对 DNA 的保护作用最为显著。油墨的稀释与保护作用共同影响了 DNA 的释放和检出效率：在较低混合比例下，SPED 与油墨混合充分，从而提高了释放效率；在中等比例下，油墨对 SPED 的保护作用最为显著，减少了 DNA 的损失。通过最佳比例的确定，提高了标签中 DNA 与油墨混合的检出率，这对燕窝产品标签的防伪溯源检测至关重要。

表 2 Qubit 核酸荧光蛋白定量仪测定 SPED 与油墨以不同添加比例混合后提取到的 DNA 质量浓度

Tab. 2 Qubit nucleic acid fluorescence protein quantifier measures the concentration of DNA extracted after mixing SPED with ink in different addition ratios

SPED 与油墨的比例	回收后质量浓度/ (ng/ μ L)
1 : 1	3.02 \pm 0.64 ^{bc}
1 : 2	3.26 \pm 0.31 ^{bc}
1 : 4	3.63 \pm 0.43 ^c
1 : 6	8.57 \pm 0.32 ^a
1 : 8	2.67 \pm 0.26 ^c
1 : 10	1.23 \pm 0.45 ^d

注: 不同字母代表差异显著 ($P < 0.05$)

2.2.3 SPED 与水溶性油墨混合均匀性验证

为验证 SPED 与水溶性油墨混合的均匀性, 分别

表 3 SPED 油墨混合均匀性利用 Qubit 核酸荧光蛋白定量仪测定不同区域的 DNA 质量浓度

Tab. 3 SPED ink mixing homogeneity uses the Qubit nucleic acid fluorescence protein quantifier to determine the DNA concentration in different regions

试管	顶部/ (ng/ μ L)	中部/ (ng/ μ L)	底部/ (ng/ μ L)	二维码标签	上部/ (ng/ μ L)	中部/ (ng/ μ L)	下部/ (ng/ μ L)
试管-1	12.92	12.84	12.94	标签-1	10.94	10.90	10.93
试管-2	12.92	12.82	12.93	标签-2	10.93	10.89	10.93
试管-3	12.93	12.83	12.94	标签-3	10.94	10.91	10.92
$\bar{X} \pm RSD$	12.92 \pm 0.06	12.93 \pm 0.10	12.94 \pm 0.06	$\bar{X} \pm RSD$	10.93 \pm 0.006	10.90 \pm 0.10	10.93 \pm 0.007
测序比对	100%	100%	100%	测序比对	100%	100%	100%

二维码通过特定几何图形在平面上分布的黑白相间图形记录数据信息, 因其信息存储量大、便捷性强, 在电商支付、产品溯源等领域应用广泛^[31-32]。随着二维码标签的非法复制和篡改现象日益增多, 针对二维码的防伪技术也在不断进步, 例如温变油墨隐形二维码技术^[33]、水溶性纳米复合墨水矩阵式二维码技术^[34]、纳米激光二维码隐藏技术^[35]等。还有研究人员开发了一种基于喷墨打印技术和三维 (3D) 快速响应二维码的防伪溯源方法, 用于药品的追踪和防伪^[36]。日本学者开发了一种生物特征的 DNA 墨水^[37], 该 DNA 墨水印制在标签纸上的标记能够抵抗 40 h 的紫外线照射, 性能与照相凹版油墨相当, 可作为印刷油墨进行实际应用, 展示了 DNA 墨水在防伪安全领域的应用潜力。Berk 等^[38]通过视觉或智能手机读取 DNA 防伪溯源标签的方法, 将 DNA 序列嵌入纸张, 形成具有检测阵列类似二维码的特定图案, 可以在几分钟内完成对 DNA 分子的检测, 并且此标签在高温和紫外线照射下仍能保持活性。因此, 将可编程的 DNA 分子与成本相对较低、防伪性能单一的二维码标签相结合, 可以开发出实用性强且鉴别高效准确的 DNA 溯源码标签。

3 结论

在试管和二维码标签中开展实验。结果显示, 试管和二维码标签中的 DNA 质量浓度的相对标准偏差 (RSD) 均低于 10%, 表明油墨 DNA 在试管和标签中分布均匀, 油墨中 DNA 序列具有可检出性和完整性 (表 3)。试管和二维码标签各区域 DNA 质量浓度相近, 表明印刷过程可确保 DNA 溯源码在标签制备中均匀分布, 从而保证二维码标签的可靠性和高效性, 提升防伪与追溯系统的可靠性。

本研究构建了一种结合 DNA 溯源码油墨与二维码标签的商品认证标识方案, 融合 DNA 溯源码的唯一性和二维码的便捷性, 为商品认证提供高效、强防伪且检测快速准确的新方法。通过人工编码 DNA 构建独特“指纹”, 并优化 SPED 与水溶性柔印油墨的混合比例 (1 : 6), 确保 DNA 溯源码油墨-二维码标签的稳定性和防伪性。实验表明, 该方案的 DNA 溯源码检出性良好、分布均匀, 具有高隐蔽性和抗伪造性, 适用于燕窝产品标签印刷与防伪溯源检测。

本研究的双重防伪溯源系统具有数据隐蔽性强、难以仿造和信息存储容量大的显著优势, 为食品安全监管和追溯提供了一种全新的技术框架和解决方案, 为燕窝产业的可持续发展奠定了技术基础, 同时也为其他高价值食品的防伪与溯源研究提供了借鉴。这不仅提升了产品验证的精准度, 还对食品安全监管和消费者信任建设具有重要意义。尽管存在检测流程复杂和依赖实验室设备的挑战, 但随着检测方法的精简和便携式现场检测设备的研发, DNA 标签技术的可访问性和实用性将大幅提升。这预示着 DNA 溯源码在食品安全和防伪溯源领域具有广阔的应用前景, 有助于加强整个食品行业的安全监管。

参考文献:

- [1] 马雪婷, 张九凯, 陈颖, 等. 燕窝真伪鉴别研究发展趋势剖析与展望[J]. 食品科学, 2019, 40(7): 8–17.
- [2] 张北山. 燕窝中3种含硫活性成分的提取和检测[D]. 济南: 山东师范大学, 2013.
- [3] 马雪婷, 张九凯, 陈颖, 等. 燕窝多元素的分布及溯源信息研究[J]. 食品与机械, 2019, 35(2): 66–71.
- [4] WU Y, CHEN Y, WANG B, et al. Application of SYBRgreen PCR and 2DGE methods to authenticate edible bird's nest food[J]. Food research international, 2010, 43(8): 2020–2026.
- [5] 邱爽, 张新科, 孔文茹, 等. 燕窝真伪鉴别研究进展综述[J]. 食品工业, 2023, 44(7): 262–267.
- [6] 林洁茹, 董燕, 周华, 等. 燕窝鉴别中的蛋白质电泳研究[J]. 世界科学技术, 2006(3): 30–32.
- [7] FERREIRA M M, MARINS-GONALVES L, SOUZA D D. An integrative review of analytical techniques used in food authentication: a detailed description for milk and dairy products[J]. Food chemistry, 2024, 457: 140206.
- [8] ARSYAD A A, DADKHAH S, KÖPPEN M. Correction to: two-factor blockchain for traceability cacao supply chain[C]//Advances in Intelligent Networking and Collaborative Systems: The 10th International Conference on Intelligent Networking and Collaborative Systems (INCoS-2018). Berlin: Springer International Publishing, 2019: E1.
- [9] EL MATBOULY H, NIKBAKHTNASRABADI F, DAHIYA R. RFID near-field communication (NFC)-based sensing technology in food quality control[M]//Biosensing and micro-nano devices: design aspects and implementation in food industries. Singapore: Springer Nature Singapore, 2022: 219–241.
- [10] BOSONA T, GEBRESENBET G. The role of blockchain technology in promoting traceability systems in agri-food production and supply chains[J]. Sensors, 2023, 23(11): 5342.
- [11] YANG Y, DU Y, GUPTA V K, et al. Exploring blockchain and artificial intelligence in intelligent packaging to combat food fraud: a comprehensive review[J]. Food packaging and shelf life, 2024, 43: 101287.
- [12] SHAIK C. Preventing counterfeit products using cryptography, QR code and webservice[J]. Computer science & engineering: an international journal, 2021, 11(1):11101–11112.
- [13] PAUNESCU D, PUDDU M, SOELLNER J, et al. Reversible DNA encapsulation in silica to produce ROS-resistant and heat-resistant synthetic DNA ‘fossils’ [J]. Nature protocols, 2013, 8(12): 2440–2448.
- [14] BLOCH M S, PAUNESCU D, STOESSEL P R, et al. Labeling milk along its production chain with DNA encapsulated in silica[J]. Journal of agricultural and food chemistry, 2014, 62(43): 10615–10620.
- [15] FONTANESI L, RIBANI A, BERTOLINI F, et al. Authentication of a food product based on DNA analysis of an added natural biological tracer: testing the application to dry cured hams[J]. Food control, 2024, 163: 110547.
- [16] WANG L, WANG G, SHI Y, et al. Accelerated non-crosslinking assembly of DNA-functionalized nanoparticles in alcoholic solvents: for application in the identification of clear liquors[J]. Analyst, 2020, 145(9): 3229–3235.
- [17] PAUNESCU D, MORA C A, PUDDU M, et al. DNA protection against ultraviolet irradiation by encapsulation in a multilayered SiO₂/TiO₂ assembly[J]. Journal of materials chemistry B, 2014, 2(48):8504–8509.
- [18] GRASS R N, HECKEL R, PUDDU M, et al. Robust chemical preservation of digital information on DNA in silica with error-correcting codes[J]. Angewandte chemie international edition, 2015, 54(8): 2552–2555.
- [19] BANAL J L, SHEPHERD T R, BERLEANT J, et al. Random access DNA memory using Boolean search in an archival file storage system[J]. Nature materials, 2021, 20(9): 1272–1280.
- [20] NGUYEN H H, PARK J, PARK S J, et al. Long-term stability and integrity of plasmid-based DNA data storage[J]. Polymers, 2018, 10(1): 28.
- [21] SHARIEF S A, CHAHAL P, ALOCILJA E. Application of DNA sequences in anti-counterfeiting: current progress and challenges[J]. International journal of pharmaceutics, 2021, 602: 120580.
- [22] 王常茜, 仰大勇, 罗丹, 等. DNA 纳米技术应用于水环境污染示踪[J]. 科学通报, 2024, 69(1): 112–126.
- [23] MADSEN M, GOTHELF K V. Chemistries for DNA nanotechnology[J]. Chemical reviews, 2019, 119(10): 6384–6458.
- [24] PUDDU M, PAUNESCU D, STARK W J, et al. Magnetically recoverable, thermostable, hydrophobic DNA/silica encapsulates and their application as invisible

- oil tags[J]. *ACS Nano*, 2014, 8(3): 2677–2685.
- [25] ALTAMIMI M J, GREENWOOD J C, WOLFF K, et al. Anti-counterfeiting DNA molecular tagging of pharmaceutical excipients: an evaluation of lactose containing tablets[J]. *International journal of pharmaceutics*, 2019, 571(25):118256–118267.
- [26] JUNG L, HOGAN M E, SUN Y, et al. Rapid authentication of pharmaceuticals via DNA tagging and field detection[J]. *PLOS ONE*, 2019, 14(6): e0218314.
- [27] LIAO R, YANG P, WU W, et al. A DNA tracer system for hydrological environment investigations[J]. *Environmental science & technology*, 2018, 52(4): 1695–1703.
- [28] LUESCHER A M, KOCH J, STARK W J, et al. Silica-encapsulated DNA tracers for measuring aerosol distribution dynamics in real-world settings[J]. *Indoor air*, 2022, 32(1): e12945.
- [29] SMITH A F, SKRABALAK S E. Metal nanomaterials for optical anti-counterfeit labels[J]. *Journal of materials chemistry C*, 2017, 5(13): 3207-3215.
- [30] TANITA I, NISHIHAMA S, HAYASHIBARA T. Identification of species of teatfish (Holothuroidea: Holothuriida) in Japan based on mitochondrial cytochrome oxidase subunit I (COI) sequences, morphology, and ossicles[J]. *Plankton and benthos research*, 2021, 16(3): 200-209.
- [31] 施连敏, 郭翠珍, 盖之华, 等. 基于二维码的绿色食品溯源系统的设计与实现[J]. *制造业自动化*, 2013, 35(8): 144-146.
- [32] 武军, 沈荣波, 陈俊忠, 等. 基于水性油墨的双重防伪二维码的设计与实现[J]. *包装工程*, 2022, 43(9): 257–263.
- [33] 赵东柏, 唐少炎, 孔繁辉, 等. 热敏(温变)油墨的变色原理及其在包装领域的应用[J]. *包装学报*, 2013, 5 (1): 22–25.
- [34] KIM J, KIM H, KANG H, et al. A water-soluble label for food products prevents packaging waste and counterfeiting[J]. *Nature food*, 2024, 5(4): 293-300.
- [35] RITACCO T, ACETI D M, DE DOMENICO G, et al. Tuning cholesteric selective reflection in situ upon two-photon polymerization enables structural multicolor 4D microfabrication[J]. *Advanced optical materials*, 2022, 10(2): 2101526.
- [36] YOU M, LIN M, WANG S, et al. Three-dimensional quick response code based on inkjet printing of upconversion fluorescent nanoparticles for drug anti-counterfeiting[J]. *Nanoscale*, 2016, 8(19): 10096–10104.
- [37] HASHIYADA M. Development of biometric DNA ink for authentication security[J]. *The Tohoku journal of experimental medicine*, 2004, 204(2): 109-117.
- [38] BERK K L, BLUM S M, FUNK V L, et al. Rapid visual authentication based on DNA strand displacement[J]. *ACS Applied materials & interfaces*, 2021, 13(16): 19476–19486.