杜金, 郝薛宇, 于洪梅, 等. 基于副干酪乳杆菌细胞外囊泡的虾青素递送系统构建及其抗疲劳作用研究 [J]. 食品工业科技, 2026, 47(14): 451−460. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2025060291
DU Jin, HAO Xueyu, YU Hongmei, et al. Construction of an Astaxanthin Delivery System Based on *Lactobacillus paracasei* Extracellular Vesicles and Its Anti-fatigue Effect[J]. Science and Technology of Food Industry, 2026, 47(14): 451−460. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2025060291

·营养与保健·

基于副干酪乳杆菌细胞外囊泡的虾青素递送系统构建及其抗疲劳作用研究

杜　金*, 郝薛宇, 于洪梅, 赵　毅
（长春职业技术大学, 吉林长春 130033）

摘　要: 目的：利用副干酪乳杆菌来源的细胞外囊泡（EVs）作为递送载体，构建虾青素（AST）封装体系（AST@EVs），以改善其水溶性、稳定性及生物利用度。方法：采用差速离心与超速离心分离 EVs，并通过表征分析、体外模拟消化、自由基清除实验及 C2C12 细胞模型，系统评价 AST@EVs 的理化特性、消化稳定性、抗氧化活性与抗疲劳作用。结果：成功制备出典型球形结构且平均粒径为 85.97 nm 的 EVs，在优化封装比例（2∶1）后，AST@EVs 的封装率和蛋白载量分别达到 84.94% 和 12.74%，粒径增大至 109.37 nm，且红外与电镜结果证实 AST 被有效封装。体外消化中 AST@EVs 的 AST 保留率显著（P<0.05）高于游离 AST 及物理混合组；其 DPPH 和 $ABTS^+$自由基清除率分别达 83.92% 和 62.81%，抗氧化能力显著（P<0.01）提升。细胞实验表明，AST@EVs 可促进 C2C12 细胞对 AST 的摄取（5.27±0.21 μg/mL），缓解氧化应激，调节超氧化物歧化酶、过氧化氢酶活性并降低丙二醛水平，同时抑制乳酸脱氢酶和肌酸激酶升高，增强糖原储存并恢复线粒体功能相关酶活性。结论：基于 EVs 的封装策略可显著增强 AST 的稳定性、抗氧化能力及抗疲劳功效，为功能性食品与抗疲劳药物开发提供了新思路。

关键词: 虾青素, 副干酪乳杆菌, 细胞外囊泡, 抗氧化, 抗疲劳
中图分类号: TS201.3　　**文献标识码:** A　　**文章编号:** 1002−0306(2026)14−0451−10
DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2025060291
本文网刊:

Construction of an Astaxanthin Delivery System Based on *Lactobacillus paracasei* Extracellular Vesicles and Its Anti-fatigue Effect

DU Jin*, HAO Xueyu, YU Hongmei, ZHAO Yi
（Changchun Polytechnic University, Changchun 130033, China）

Abstract: Objective: To utilize extracellular vesicles (EVs) derived from *Lactobacillus paracasei* as delivery carriers to construct an astaxanthin (AST)-encapsulated system (AST@EVs), thereby improving the water solubility, stability, and bioavailability of AST. Methods: EVs were isolated via differential centrifugation and ultracentrifugation, and systematic evaluations of the physicochemical properties, digestive stability, antioxidant activity, and anti-fatigue effect of AST@EVs were conducted using characterization analysis, *in vitro* simulated digestion, free radical scavenging assays, and the C2C12 cell model. Results: EVs with a typical spherical structure and an average particle size of 85.97 nm were successfully prepared. After optimizing the encapsulation ratio (2∶1), the encapsulation efficiency and protein loading capacity of AST@EVs reached 84.94% and 12.74%, respectively, with the particle size increasing to 109.37 nm. Additionally, Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) and electron microscopy results confirmed the effective encapsulation of AST in EVs. *In vitro* digestion, the retention rate of AST in AST@EVs was significantly higher than that in the free AST group and the physical mixture group. The scavenging rates of AST@EVs against 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) and 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) cation radical ($ABTS^+$) were 83.92% and 62.81%, respectively, indicating a significant enhancement in antioxidant capacity. Cellular experiments showed that AST@EVs could promote the uptake of

收稿日期: 2026−04−28
作者简介/通信作者*: 杜金（1987−）, 女, 硕士, 讲师, 研究方向: 生物活性研究, E-mail: 364235861@qq.com。

AST by C2C12 cells (reaching 5.27±0.21 μg/mL), alleviate oxidative stress, regulate the activities of superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT), and reduce the level of malondialdehyde (MDA). Meanwhile, AST@EVs inhibited the increase in lactate dehydrogenase (LDH) and creatine kinase (CK) activities, enhanced glycogen storage, and restored the activities of enzymes related to mitochondrial function. Conclusion: The EV-based encapsulation strategy can significantly enhance the stability, antioxidant capacity, and anti-fatigue efficacy of AST. This study provides a new idea for the development of functional foods and anti-fatigue drugs.

Key words: astaxanthin; *Lactobacillus paracasei*; extracellular vesicles; antioxidant; anti-fatigue

疲劳是一种常见的生理现象，尤其在长时间体力或脑力活动后更为显著，但其病理机制与氧化应激密切相关。氧化应激会导致细胞内活性氧的积累，进而引发线粒体功能障碍、能量代谢异常以及关键生物分子（如蛋白质、脂质和 DNA）的损伤，最终加速细胞疲劳和机体功能衰退[1]。研究表明，抗氧化干预是缓解疲劳的有效策略之一，而天然抗氧化剂因其安全性和高效性备受关注[2]。

虾青素（AST）作为一种强效的天然类胡萝卜素，具有卓越的抗氧化能力，能够清除自由基、抑制脂质过氧化，并在抗疲劳方面显示出潜在的应用价值[3]。然而，AST 的疏水性、低生物利用度及易降解性严重限制了其实际应用效果[4]。

近年来，细胞外囊泡因其独特的生物相容性、低免疫原性和高效的细胞摄取能力，成为药物递送领域的研究热点[5]。研究表明，细胞外囊泡不仅可以作为天然载体递送疏水性药物，还能通过膜蛋白介导的内吞途径增强药物的细胞内递送效率[6]。与传统的包埋系统（如包埋粉）相比，EVs 具有天然的内源性靶向能力和优异的跨膜转运效率，可有效避免溶酶体降解，提高药物在细胞内的生物利用度；同时，其磷脂双分子层结构能够更好地保护疏水性活性物质，实现更稳定的负载与可控释放，从而显著改善包埋技术中常见的泄漏和稳定性差的问题[7]。此外，研究还表明 EVs 不仅可作为高效递送载体，其本身亦具备一定的生物活性，能够通过参与细胞间通信调节代谢和抗氧化应激通路，与所封装药物产生协同增强效应[8]。因此，利用细胞外囊泡封装 AST，有望克服其理化局限性，同时提升其抗氧化和抗疲劳效果。尽管细胞外囊泡在药物递送中展现出巨大潜力，但其在 AST 递送及抗疲劳应用中的研究仍处于起步阶段。

基于此，本研究以副干酪乳杆菌来源的细胞外囊泡（EVs）为载体，通过超声负载法制备 AST@EVs，并系统评价其形貌特征、封装效率、体外稳定性及抗氧化能力。进一步通过 C2C12 细胞模型，探究 AST@EVs 对氧化应激诱导的疲劳相关生物标志物和线粒体功能（SOD、CAT、MDA、乳酸脱氢酶、糖原、柠檬酸盐合成酶和细胞色素 c 氧化酶）的调节作用。本研究旨在开发一种基于 EVs 的高效 AST 递送系统，为天然功能因子或药物的临床应用提供新思路，同时为抗疲劳膳食补充剂或药物的研发奠定理论基础，为解决疲劳这一普遍健康问题提供了创新性解决方案。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

副干酪乳杆菌（600 BCFU/g） 苏州善恩康生物科技有限公司；MRS 肉汤培养基（HB0384-1） 青岛海博生物技术有限公司；BCA 蛋白含量检测试剂盒（PC0020）、糖原含量检测试剂盒（BC0340）、柠檬酸合酶（CS）活性检测试剂盒（BC1060）、磷酸盐（PBS）缓冲溶液（P1036） 北京索莱宝科技有限公司；虾青素（AST，纯度 96%，A832359）、DPPH（D807297）、ABTS（D6132）粉末 上海麦克林生化科技股份有限公司；甲醇（分析纯）、30% 过氧化氢（BN01338）、二氯甲烷（分析纯） 天津市大茂化学试剂厂；人工唾液（R27906）、人工胃液（R30388）、人工肠液（R22156） 上海源叶生物科技有限公司；CCK8 细胞活力测定试剂盒（C0038） 碧云天生物技术有限公司；过氧化氢酶（CAT）检测试剂盒（A007-1-1）、总超氧化物歧化酶（SOD）测定试剂盒（A001-3-2）、丙二醛（MDA）测定试剂盒（A003-1-1）、乳酸脱氢酶（LDH）试剂盒（A020-1）、肌酸激酶（CK）测定试剂盒（A032-1-1） 南京建成生物工程研究所；细胞色素 c 氧化酶检测试剂盒（CYTOCOX1-1KT）、马血清（12449C） 西格玛奥德里奇（上海）贸易有限公司；C2C12 成肌细胞系 武汉普诺赛生命科技有限公司；DMEM 高糖培养基（11965092）、胎牛血清（C0234）、青霉素-链霉素双抗（C3420） 赛默飞世尔科技公司。

CP100NX 超速离心机 日本 Hitachi 公司；TD3 型离心机 湖南湘怡实验室仪器开发有限公司；HWS-250B 型恒温恒湿培养箱 泰斯仪器有限公司；JEM-2100 透射式电子显微镜 日本电子株式会社；Spectrum two 傅里叶红外光谱仪 铂金埃尔默仪器有限公司；一体式动静态同步激光光散射仪 瑞士光散射仪器公司；A51119500C 型酶标仪 赛默飞世尔（中国）科技有限公司；Agilent 1260 Infinity II 高效液相色谱仪 美国安捷伦有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 副干酪乳杆菌衍生细胞外囊泡（EVs）的提取

副干酪乳杆菌衍生胞外囊泡（EVs）的分离方法参照 Lee 等[9] 的方法并稍作修改。具体步骤如下：副干酪乳杆菌在含有 MRS 液体培养基的培养瓶中培养 36 h 后，培养温度 37 ℃，将悬浮液以 6000 r/min 离心 20 min，并收集上清液。随后，将收集的上清液过 0.22 μm 水系滤膜后，以 130000 r/min 离心 150 min，

收集沉淀物并重新悬浮在无菌 PBS 缓冲液中，将收集的样品通过 0.22 μm 过滤器以获得纯化的 EVs，使用 BCA 蛋白浓度检测试剂盒按试剂盒说明书对纯化的 EVs 进行定量，并将 EVs 储存在−80 ℃ 冰箱中。

1.2.2　EVs 的表征　取 10 μL 1 mg/mL 的 EVs 滴在透射式电子显微镜专用铜网上，静置 15 min 后，用滤纸吸去多余液体，等待铜网晾干（约 3 min）。在晾干的铜网表面滴加 10 μL 的 2% 磷钨酸负染色液，染色 15 min 后晾干，并在透射式电子显微镜（TEM）下观察 EVs 的形貌。

取 1 mL 1 mg/mL 的 EVs 液体稀释 10 倍后使用一体式动静态同步激光光散射仪（DLS）在散射角度为 90°，温度为 25 ℃ 时测试持续时长 20 s 获得其粒径大小及多分散指数（PDI）。

1.2.3　虾青素-副干酪乳杆菌衍生细胞外囊泡（AST@EVs）递送体系的制备　根据 Cui 等[10] 的方法并进行条件优化，将 1.2.1 中制备的 EVs 与 AST 溶液通过超声负载法进一步获得 AST@EVs。AST 溶液的制备方法：称取 3 mg 的 AST，溶解在 3 mL 二氯甲烷中，再加入 7 mL 甲醇，即得 0.3 mg/mL 的 AST 溶液。将 1 mg/mL 的 EVs 与 AST 溶液分别以体积比 1∶1、2∶1、4∶1 进行混合，负载整个过程在冰浴条件下进行，条件设置为 150 W，处理 10 min（工作 2 s/关闭 2 s）。超声负载后将混合溶液在冰上孵育 1 h。随后，将混合溶液置于 37 ℃ 条件下，旋转蒸发除去有机试剂，并将其在冰上孵育 30 min。将旋转蒸发后冰浴的样品 3000 r/min 离心 10 min，以除去游离 AST，上层液体即为 AST@EVs，将其在−80 ℃ 下储存。

为优化 EVs 对 AST 的封装效率与负载能力，实验通过改变 EVs 与 AST 的投料质量比（1∶1、2∶1、4∶1），系统评估了不同比例对封装率和蛋白载量的影响。将 AST 溶于二氯甲烷中，配制成浓度分别为 0.1、0.2、0.4、0.5、1、2、4、5 和 10 μg/mL 的标准溶液，在 480 nm 波长处测定各溶液的吸光度值，以 AST 浓度为横坐标（x）、吸光度为纵坐标（y）建立标准曲线，得到回归方程 y=0.31379x+0.0166（R^2=0.9996）。AST@EVs 的封装率与蛋白载量参考文献 [11] 方法进行测定。向 AST@EVs 样品中加入 5 mL 二氯甲烷，经超声处理（功率 150 W，总时间 2 min，工作/间歇周期为 2 s/2 s）后，取二氯甲烷相溶液于 480 nm 波长下测定吸光度值，并根据上述标准曲线计算 AST@EVs 中 AST 的实际含量，以此作为载运体系中 AST 的含量依据。并根据下列公式计算其封装率和蛋白载量。

$$\text{虾青素封装率}(\%)=\frac{\text{载运体系中虾青素含量}}{\text{初始添加虾青素含量}}\times 100$$

$$\text{蛋白载量}(\%)=\frac{\text{载运体系中虾青素含量}}{\text{载运体系中蛋白含量}}\times 100$$

1.2.4　AST@EVs 的表征　如 1.2.2 中所述方法，使用 TEM 对 AST@EVs 进行形貌表征，并通过 DLS 获得其粒径大小和 PDI。

1.2.5　傅里叶红外光谱（FTIR）检测　根据 Zhong 等[12] 方法所述，将 EVs 和 AST@EVs 从−80 ℃ 转移至真空度 30 Pa 以下的冷冻干燥系统干燥 48 h，获得 EVs 和 AST@EVs 冻干粉末。将 AST、EVs 和 AST@EVs 冻干粉末分别与溴化钾混合研磨成细腻粉末，制备压片，傅里叶红外光谱扫描波数范围为 4000~500 cm^{-1}。

1.2.6　体外模拟消化能力检测　设置物理混合组（AST+EVs），即将 1 mL 0.3 mg/mL AST 溶液和 2 mL 1 mg/mL EVs 分散在 PBS 缓冲液中在 150 r/min 条件下混合 12 h。根据 Zhang 等[13] 方法所述，分别取 1 mL 浓度为 100 μg/mL（AST 浓度）的游离 AST、AST@EVs 和 AST+EVs 与 1 mL 人工模拟唾液混合，在 37 ℃，100 r/min 条件下孵育 5 min。随后，向混合体系中加入等体积的人工模拟胃液并调 pH 至 2.0，在 37 ℃，100 r/min 条件下孵育 120 min。最后，向上述混合体系中加入等体积的人工模拟小肠液并调 pH 至 7.4，在 37 ℃，100 r/min 条件下孵育 120 min。整个模拟消化过程时间为 245 min，在 5、65、125、185、245 min 时取 200 μL 混合消化液，按 1.2.3 中方法检测消化液中虾青素含量并计算虾青素保留率。

$$\text{虾青素保留率}(\%)=\left(1-\frac{\text{消化液中虾青素释放量}}{\text{初始添加虾青素总量}}\right)\times 100$$

1.2.7　体外抗氧化性检测　按照 Liang 等[14] 的方法配制 DPPH 工作液和 ABTS 工作液。在 200 μL 20 μg/mL 的 AST、AST@EVs、AST+EVs（以 AST 浓度为准）以及与 AST@EVs 蛋白浓度相同的 EVs 样品中分别加入 0.2 mmol/L 的 200 μL 现用现配的 DPPH 工作液。避光反应 30 min 后，在 517 nm 处测定其吸光度值为 A_1。PBS 缓冲液替代样品与 DPPH 工作液反应测定的吸光度值为 A_0。PBS 缓冲液替代 DPPH 工作液与样品反应测定的吸光度值为 A_2。使用下列公式计算 DPPH 自由基清除活性，每组进行 3 次平行检测。

$$\text{DPPH自由基清除率}(\%)=\left(1-\frac{A_1-A_2}{A_0}\right)\times 100$$

在 20 μL 20 μg/mL 的 AST、AST@EVs、AST+EVs（以 AST 浓度为准）样品中分别加入 180 μL ABTS 工作液混合，孵育 30 min 后，在 734 nm 处测定其吸光度值为 A_1。PBS 缓冲液替代样品与 ABTS 工作液反应测得的吸光度值为 A_0。使用下列公式计算 $ABTS^+$ 自由基清除活性，每组进行 3 次平行检测。

$$ABTS^+\text{自由基清除率}(\%)=\left(1-\frac{A_1}{A_0}\right)\times 100$$

1.2.8 稳定性检测

1.2.8.1 热稳定性 配制 50 μg/mL AST 的 PBS 溶液，并准备 50 μg/mL AST+EVs 和 AST@EVs（以虾青素浓度计，且 AST+EVs 与 AST@EVs 各组分浓度均相同）。将其置于 100 ℃ 下水浴加热 2 h，在 0、1、2 h 时测定其吸光度，计算其保留率，公式如下：

$$虾青素保留率(\%)=\frac{加热后虾青素浓度}{初始虾青素浓度}\times 100$$

1.2.8.2 贮存稳定性 配制 50 μg/mL 的 AST 的 PBS 溶液，并准备 50 μg/mL AST+EVs 和 AST@EVs（以虾青素浓度计，且 AST+EVs 与 AST@EVs 各组分浓度均相同）。将其置于 25 ℃ 下储存 7 d，在 0、3、7 d 时测定其吸光度，计算其保留率，公式如下：

$$虾青素保留率(\%)=\frac{储存后虾青素浓度}{初始虾青素浓度}\times 100$$

1.2.8.3 光照稳定性 配制 50 μg/mL 的 AST 的 PBS 溶液，并准备 50 μg/mL AST+EVs 和 AST@EVs（以虾青素浓度计，且 AST+EVs 与 AST@EVs 各组分浓度均相同）。将其置于白炽灯下光照 24 h，在 0、12、24 h 时测定其吸光度，计算其保留率，公式如下：

$$虾青素保留率(\%)=\frac{光照后虾青素浓度}{初始虾青素浓度}\times 100$$

1.2.9 细胞活性检测 根据 Cai 等[15]的方法，将 C2C12 细胞在含有 10% 胎牛血清和 1% 青霉素/链霉素的 Dulbecco 改良的 Eagle 培养基（DMEM）中培养，培养箱参数为 37 ℃，5% CO_2。当 C2C12 细胞数量达到 T25 培养瓶面积约 80% 时，用 PBS 缓冲液冲洗，随后加入含有 2% 马血清的 DMEM 培养基以诱导 C2C12 细胞分化。4 d 后，用分别含有 0、5、10、20、40 μg/mL（AST 浓度）AST、AST@EVs、AST+EVs 的 DMEM 培养基孵育细胞 24 h，并使用 CCK8 细胞活力测定试剂盒检测不同浓度样品对细胞活力的影响。

1.2.10 细胞摄取能力检测 按 1.2.9 中方法培养细胞，将其培养在 12 孔板中并使细胞分化。4 d 后，分别用含有 10 μg/mL AST、AST@EVs、AST+EVs 的 DMEM 培养基孵育细胞 24 h。随后，使用无菌 PBS 缓冲液清洗细胞 2 次，收集细胞，将其重悬在 1 mL 无菌 PBS 缓冲液中，在超声细胞破碎仪下，150 W 冰浴处理 2 min（工作 2 s/关闭 2 s）粉碎成细胞匀浆。将细胞匀浆中加入 1 mL 的氯仿/甲醇混合溶液（2∶1，v∶v），旋涡 30 s，加入 100 μL 正己烷，在 4 ℃ 下，以 3500 r/min 离心 10 min，收集有机层液体 1 mL，并用氮气干燥有机层，获得样品粉末。用二氯甲烷（200 μL）重悬样品粉末，经 0.22 μm 微孔膜过滤后，采用高效液相色谱法（HPLC）测定细胞中 AST 含量，色谱条件参照 Zhang 等[16]的方法。具体如下：使用 C_{18} 色谱柱（250 mm×4.6 mm，5 μm），柱温 25 ℃，流速为 1.0 mL/min，检测波长 476 nm，进样量为 20 μL。流动相包括：（A）二氯甲烷-甲醇-乙腈-水（5.0∶85.0∶5.5∶4.5，v/v）和（B）二氯甲烷-甲醇-乙腈-水（22.0∶28.0∶45.0∶4.5，v/v）。洗脱程序采用线性梯度：0~8 min，0% A；8~20 min，100% A。

1.2.11 细胞抗疲劳和抗氧化应激生化指标检测 按 1.2.9 中方法培养细胞，将其培养在 12 孔板中并使细胞分化。分化后未进行处理的组为正常组，4 d 后，用含有 480 μmol/L 的 H_2O_2 的 DMEM 培养基孵育 6 h，以构建细胞疲劳模型[17]，此为模型组。随后，弃去含有 H_2O_2 的 DMEM 培养基，并使用无菌 PBS 缓冲液洗去残留培养基，在孔板中分别重新加入含有 10 μg/mL AST、AST@EVs、AST+EVs 的 DMEM 培养基孵育细胞 24 h，分别命名为 AST 组、AST@EVs组、AST+EVs 组。按 1.2.10 中方法制备细胞匀浆，并使用 BCA 蛋白浓度检测试剂盒测定细胞匀浆中蛋白浓度，按总超氧化物歧化酶（SOD）测定试剂盒、过氧化氢酶（CAT）检测试剂盒、丙二醛（MDA）测定试剂盒、乳酸脱氢酶（LDH）试剂盒、肌酸激酶（CK）测定试剂盒、糖原含量检测试剂盒、柠檬酸合酶（CS）活性检测试剂盒、细胞色素 c 氧化酶检测试剂盒说明书对细胞匀浆进行检测。

1.3 数据处理

实验数据图均使用 Origin 2022 软件制作，并采用不同字母表示统计学组间显著性差异（$P<0.05$）。本研究所有实验均重复 3 次，实验结果以均值±标准偏差表示，利用 IBM SPSS Statistics 20 软件中单因素方差分析检验对实验数据进行分析。

2 结果与分析

2.1 EVs 的形貌表征

通过一系列差速离心、超速离心收集副干酪乳杆菌培养基中的细胞外囊泡，以获得 EVs。TEM 结果表明，EVs 呈球形，具体表现为中间呈现黑色边缘为白色的“双层壳”结构（图 1a）。这一结构可为其提供更好的稳定性和承载能力[18]。DLS 结果表明，EVs 平均粒径为 85.97±11.02 nm（图 1b），且 PDI 值为 0.33±0.02，该粒径范围与 Wang 等[19]从副干酪乳杆菌中分离的 EVs 粒径尺寸基本一致，验证了本方法的可靠性。EVs 溶液如图 1c 所示，为澄清透明白色溶液。

2.2 AST@EVs 的封装能力

不同比例的 EVs 和 AST 制备的 AST@EVs 的封装能力结果如图 2 所示。随着 EVs 比例的增加，体系的封装率显著提高（$P<0.05$），从 41.82%±1.91% 上升至 89.57%±1.82%（图 2a）。在 EVs 与 AST 比例为 2∶1 时，蛋白载量已达到最高值，着 EVs 比例的进一步增加，虾青素封装率变化无显著性差异，然而由于固定量的 AST 被分散到更多的载体中，载体利用率下降，导致蛋白载量显著（$P<0.05$）降低至

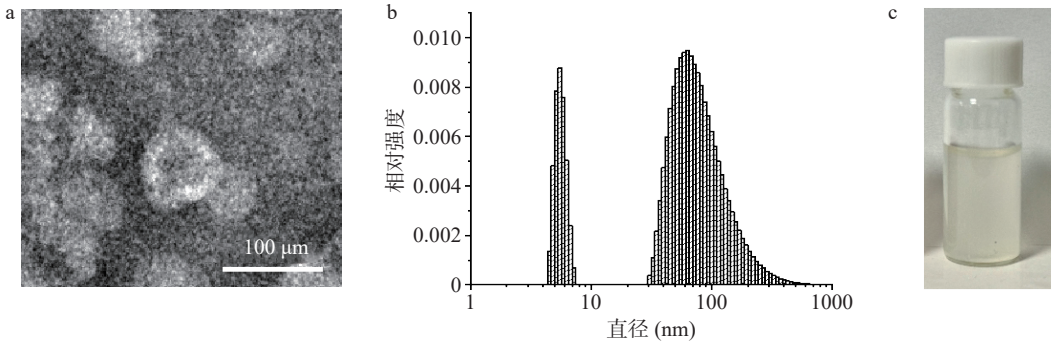


图 1　EVs 的表征

Fig.1　Characterization of EVs

注：a：TEM 图像（80000×）；b：DLS 粒径分布；c：EVs 实物图。

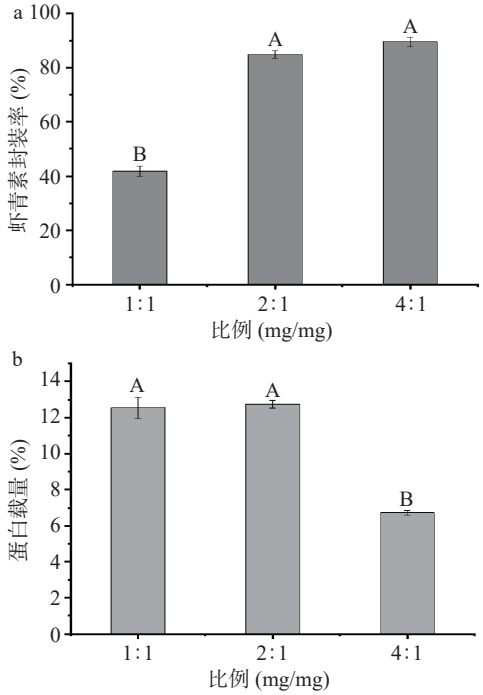


图 2　不同比例的 EVs 和 AST 制备的 AST@EVs 的封装能力

Fig.2　Encapsulation capacity of AST@EVs prepared with different ratios of EVs and AST

注：a：封装率，b：蛋白载量；不同的大写字母表示不同样本之间存在显著性差异（P<0.05）。

6.72%±0.14%（4∶1）（图 2b）。这一现象说明，尽管提高 EVs 的用量有助于提升 AST 的包封率，可能由于载体表面结合位点增多或包封过程更充分，但单位质量 EVs 所负载的 AST 量（即蛋白载量）随之下降，反映出载体利用率与包封效果之间存在平衡关系。综合考虑封装效率和蛋白负载能力，确定 EVs 与 AST 的投料质量比为 2∶1 时为最佳比例。在此比例下，体系不仅实现了高封装率（84.94%±1.47%），同时也达到了最高的蛋白载量（12.74%±0.22%），这表明在充分利用载体负载能力的前提下，获得了最优的包封效果，为后续实验提供了效率与成本兼顾的加载条件。

2.3　AST@EVs 的形貌表征

经超声负载法制备的 AST@EVs 的 TEM 图像如图 3a 所示，与 EVs 结果相似，仍呈球状，且有明显白色边缘的“双层壳”结构。以上结构特征表明，短时间超声处理在实现 AST 封装的同时，并未破坏 EVs 的原始膜结构完整性，说明该方法具有良好的载体相容性。值得注意的是，AST@EVs 表现出了更小的 PDI 值（0.25±0.03），表明其粒径分布更为均一，分散稳定性优于 EVs，这可能与超声过程中囊泡的重新分布和 AST 的包覆调控作用有关。此外，AST@EVs 的粒径经封装 AST 后增大至 109.37±9.64 nm（图 3b），这一变化进一步佐证了 AST 分子被成功封装入 EVs 的内部空腔或嵌入膜结构中，从而导致囊泡体积扩张[20]。ST@EVs 如图图 3c 所示，为红色澄清溶液。综合以上形貌与粒径分布结果，可知超声负载

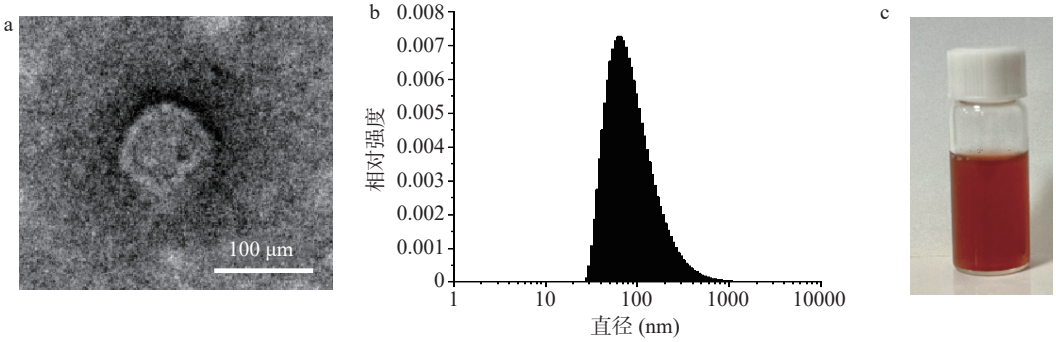


图 3　AST@EVs 的表征

Fig.3　Characterization of AST@EVs

注：a：TEM 图像（80000×）；b：DLS 粒径分布；c：AST@EVs 的实物图。

法在维持 EVs 结构稳定的同时，有效实现了 AST 的装载，并改善了纳米复合体系的均匀性。

2.4 FTIR 分析

采用 FTIR 对 AST、EVs 及 AST@EVs 的结构特征进行分析（图 4）。结果显示，游离 AST 在 3033 cm^{-1}（羟基 O-H 伸缩振动）、2964 cm^{-1}（反式烯烃 C-H 振动）、2862 cm^{-1}（亚甲基 C-H 不对称伸缩振动）及 1651 cm^{-1}（羰基 C=O 伸缩振动）处呈现典型特征吸收峰，这与 AST 分子结构中的官能团特征[21] 完全吻合。然而，在 AST@EVs 的红外光谱中，AST 的特征峰均未出现，仅保留了 EVs 本身的特征吸收带（如蛋白质酰胺 I 带 1650 cm^{-1} 和酰胺 II 带 1540 cm^{-1}）。该现象表明，AST 分子未被简单吸附于 EVs 表面，而是被有效封装至 EVs 的内部。这一结果与动态光散射显示的粒径增大现象相互印证，进一步支持 AST 被成功封装入 EVs 内部的结论，表明二者形成了较为完整的核壳型纳米结构，且包封过程未引起 AST 或 EVs 结构的明显化学变化。

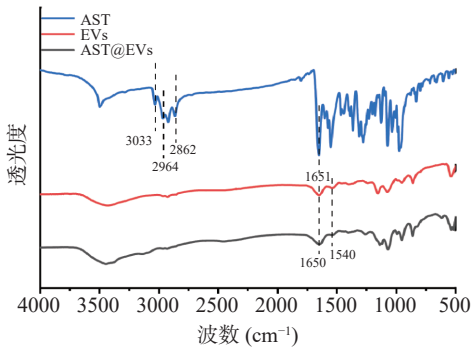


图 4 AST、EVs 和 AST@EVs 的 FTIR 图像

Fig.4 FTIR images of AST, EVs, and AST@EVs

2.5 体外模拟消化能力分析

AST 在消化过程中易受消化液中的强酸和酶环境影响而发生降解，从而影响其生物利用度。研究表明，囊泡递送体系能够有效减少其内部封装物质在胃肠消化过程中的降解，并促进机体对封装物质的吸收[22]。为此，本研究对游离 AST、AST@EVs 及 AST+EVs 进行了体外模拟消化实验。如图 5 所示，

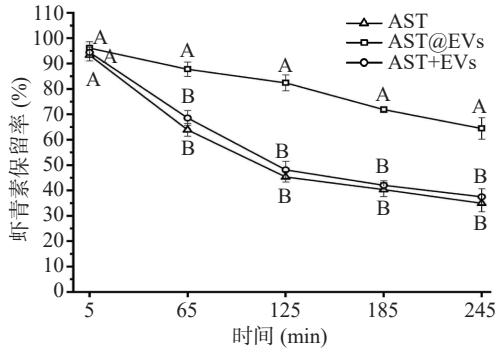


图 5 体外模拟消化过程中 AST 的保留率

Fig.5 Retention of AST during *in vitro* simulated digestion

注：不同的大写字母表示不同样本之间存在显著性差异（P<0.05）。

AST@EVs 能显著提高 AST 在模拟消化液中的保留率（P<0.05）。在模拟胃液消化阶段结束后，游离 AST 和 AST+EVs 组的 AST 保留率分别仅为 45.33%±2.08% 和 48.12%±3.27%，而 AST@EVs 组的 AST 保留率高达 82.38%±3.14%。表明 EVs 的封装可有效阻隔胃酸和胃酶对 AST 的破坏，增强其在胃部环境中的稳定性。值得注意的是，在整个模拟消化过程结束后，AST@EVs 组的 AST 保留率仍维持在 64.40%±4.22% 的较高水平。说明该递送系统不仅可在胃部环境中提供保护，还能在一定程度上减缓肠液环境对 AST 的降解，从而有助于提升其整体生物可及性。这一结果与前期研究报道一致，即小豆蔻衍生的细胞外囊泡可有效保护其内部封装的活性肽在模拟消化过程中的稳定性[23]。

2.6 体外抗氧化能力分析

为了评估 AST、AST@EVs 和 AST+EVs 的抗氧化能力，本研究进行了 DPPH 和 $ABTS^+$ 自由基清除实验。如图 6 所示，AST@EVs 表现出显著的抗氧化活性（P<0.01）。在 DPPH 自由基清除实验中，游离 AST 的清除率为 33.56%±1.14%，而 EVs 的抗氧化活性相对较低，仅为 18.98%±1.59%。值得注意的是，AST@EVs 的 DPPH 清除率高达 83.92%±1.39%，较游离 AST 提高了约 2.5 倍。在 $ABTS^+$ 自由基清除实验中，观察到类似的趋势，各组清除能力排序如下：AST@EVs(62.81%±2.52%)>AST+EVs(41.45%±1.78%)>AST(26.62%±1.73%)>EVs(14.22%±1.76%)。这些结果表明，EVs 封装能显著增强 AST的抗氧化能力（P<0.01），这可能归因于封装后 AST的分散性和稳定性得到改善[24]。此外，AST+EVs组的抗氧化活性虽高于游离 AST，但仍显著低于 AST@EVs 组（P<0.05），说明单纯物理共存并不能实现等效的保护与增效作用，进一步证实 EVs 的包封处理对 AST 抗氧化性能的提升具有关键意义。综上所述，EVs 作为一种高效的递送系统，不仅可增强 AST 的稳定性，还能改善其体外抗氧化表现，这为 AST 在功能性食品或抗氧化制剂中的进一步应用提供了实验依据。

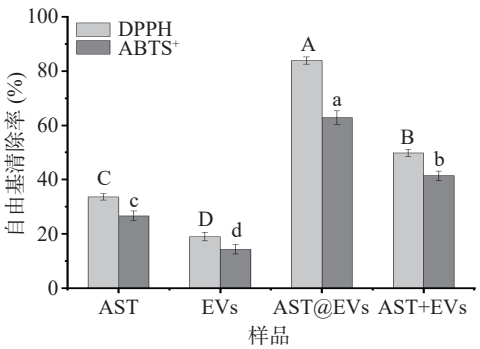


图 6 体外抗氧化能力

Fig.6 *In vitro* antioxidant capacity

注：同组指标下，不同字母表示存在显著性差异（P<0.05）。

2.7　稳定性分析

AST 在所处环境中稳定性较差，在加热、储藏或长期光照条件下易发生非自发降解。为评估该递送体系对 AST 的保护效果，比较了游离 AST、AST+EVs 和 AST@EVs 在热、储藏和光照条件下的稳定性变化。热稳定性实验结果表明（图 7a），在 100 ℃加热 2 h 后，游离 AST 的相对含量下降至 43.47%±3.81%，AST+EVs 组中 AST 保留率为 53.25%±2.99%，而 AST@EVs 组中 AST 的相对含量仍保持在 86.30%±4.16%，说明 EVs 封装可显著抑制 AST 在高温条件下的降解（P<0.05）。在储藏稳定性方面（图 7b），处理 7 d 后，AST@EVs 组中 AST 的保留率为 85.29%±9.27%，显著高于游离 AST 组及 AST+EVs 组（P<0.05）。同样，在光照稳定性实验中（图 7c），经 24 h 光照后，AST@EVs 中 AST 的相对保留率达到 86.76%±5.41%，明显优于其余两组。上述结果一致表明，EVs 通过将 AST 封装于其内部结构，可有效减缓 AST 在加热、储藏及光照过程中的降解，显著提升其稳定性（P<0.05）。Lu 等[25] 提取的一种蜂王浆外泌体在封装岩藻黄质时也表现出同样的现象，可提高岩藻黄质在紫外光环境和热环境的稳定性。该递送策略在 AST 应用于食品加工与生产过程中具有潜在的应用价值，有助于维持其活性与功能。

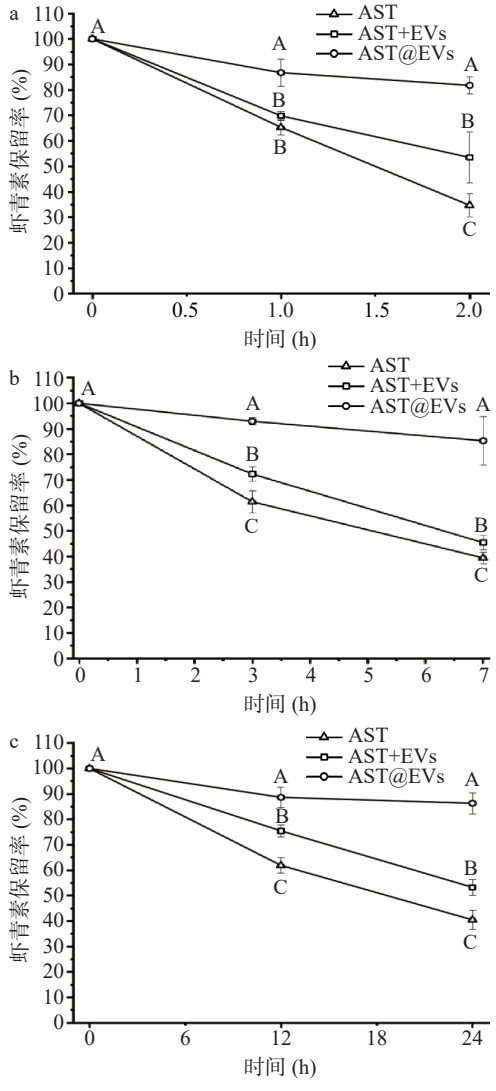


图 7　AST、AST+EVs、AST@EVs 的稳定性

Fig.7　Stability of AST, AST+EVs, and AST@EVs

注：a：热稳定性；b：储藏稳定性；c：光照稳定性；不同的大写字母表示组间存在显著性差异（P<0.05）。

2.8　细胞活力和细胞摄取能力分析

细胞活性是评估化合物生物相容性和促增殖作用的重要指标[26]。为评估不同处理组对细胞活性的影响，本研究采用不同浓度（0~40 μg/mL）的 AST、AST@EVs 及 AST+EVs 处理 C2C12 细胞。如图 8 所示，在测试浓度范围内，所有处理组均未表现出细胞毒性，且细胞活力呈现先升高后降低的趋势。值得注意的是，随着培养基中样品浓度的增加，C2C12 细胞的细胞活力增加，可能是由于 AST 及 EVs 可能通过提供生物活性物质和营养支持，在一定程度上促进了细胞代谢和增殖过程。在 10 μg/mL 处理浓度下，AST@EVs 组表现出最优的细胞活力，使细胞活性从对照组的 100% 显著提升至 110.67%（P<0.05）。此外，该浓度下其他处理组（AST 和 AST+EVs）也显示出最佳的细胞活力促进作用。基于上述结果，本研究选择 10 μg/mL 的 AST 浓度用于后续实验。该浓度在实现显著提高细胞活力的同时未引起毒性反应，兼具生物安全性与有效性，适用于进一步研究。

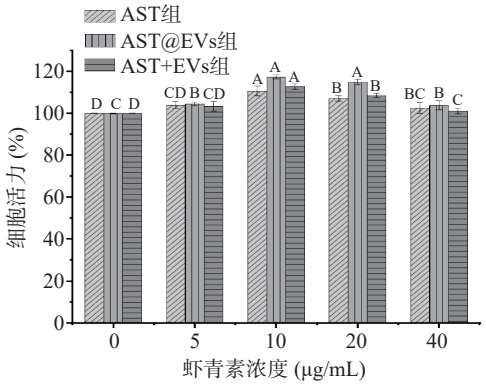


图 8　不同 AST 浓度的游离 AST、AST@EVs 和 AST+EVs 对细胞活力的影响

Fig.8　Effects of different AST concentrations of free AST, AST@EVs and AST+EVs on cell viability

注：不同的大写字母表示组内存在显著性差异（P<0.05）。

基于 HPLC 法可灵敏检测细胞内微量虾青素的优势[27]，本研究系统评估了 C2C12 细胞对游离 AST、AST@EVs 及 AST+EVs 的摄取能力。如图 9 所示，AST@EVs 组表现出显著的细胞摄取优势，其细胞内 AST 含量达到 5.27±0.21 μg/mL，分别是游离 AST 组（1.43±0.16 μg/mL）和 AST+EVs 组（2.68±0.30 μg/mL）的 3.69 倍和 1.97 倍（P<0.05）。值得注意的是，AST+EVs 组虽较游离 AST 组摄取量有所提升，但显著低于 AST@EVs 组（P<0.05）。上述差异表明，仅通过 AST 与 EVs 的物理混合并不能实现高效的细胞递送，而封装处理（AST@EVs）可提升细胞对

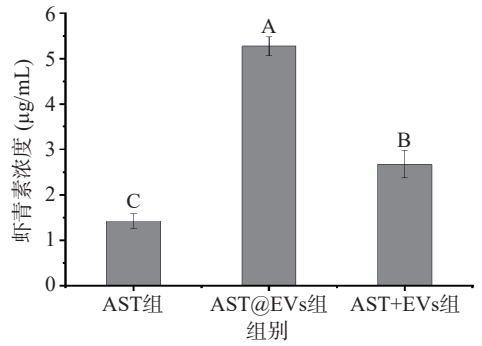


图 9 不同处理组 C2C12 细胞中 AST 的浓度

Fig.9 AST concentrations in C2C12 cells from different treatment groups

注: 不同的大写字母表示不同样本之间存在显著性差异(P<0.05)。

AST 的摄取效率, 其机制可能与 EVs 膜蛋白介导的内吞途径有关[28]。综上, AST@EVs 可凭借其纳米级尺寸、良好生物相容性及天然靶向特性, 提高 AST 的细胞摄取效率, 为进一步开发高效虾青素递送系统提供了实验依据。

2.9 细胞抗疲劳生化指标分析

氧化应激是诱发细胞疲劳的关键病理因素[29]。其中, SOD 和 CAT 是机体清除活性氧的关键防御酶[30−31], 其活性反映细胞抗氧化能力; MDA 作为脂质过氧化的终产物, 用于评估氧化损伤程度[32]。因此, 探究了游离 AST、AST@EVs 和 AST+EVs 对 H_2O_2 诱导的 C2C12 细胞氧化应激模型 SOD 和 CAT 活性以及 MDA 水平的影响。研究结果显示(图 10a), H_2O_2 刺激导致模型组 SOD 和 CAT 活性显著降低(P<0.05), 而经游离 AST、AST+EVs 和 AST@EVs 干预后, 这两种关键抗氧化酶的活性均得到明显恢复。值得注意的是, AST@EVs 组表现出最优的保护效果, 其 SOD 和 CAT 酶活性仅比空白组下降了约 0.53 和 0.34 mU/mL。如图 10b 所示, H_2O_2 刺激使 MDA 水平显著升高(P<0.05), 而各处理组均能有效抑制这种升高趋势, 其抑制效能呈现明显的组间差异: AST@EVs>AST+EVs>AST。以上结果表明, AST@EVs 在缓解氧化应激损伤方面显著优于游离 AST 及物理混合组(P<0.05), 其作用机制可能与以下因素有关: 一方面, EVs 封装提高了 AST 的细胞摄取效率, 使更多活性分子进入细胞内发挥抗氧化作用[33]; 另一方面, EVs 的磷脂双分子层结构可改善 AST 的分散性, 减少其疏水性导致的聚集或失活, 从而提高其生物可利用性[34]。

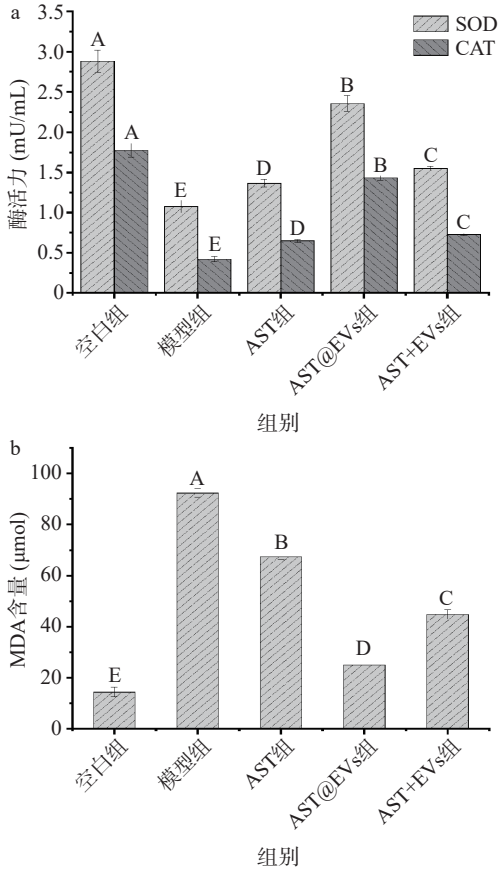


图 10 不同处理组对氧化应激相关生物标志物的影响

Fig.10 Effects of oxidative stress-related biomarkers in different treatment groups

注: a: SOD 和 CAT 的酶活力; b: MDA 含量; 同一指标下, 不同的大写字母表示组间结果存在显著性差异(P<0.05)。

本研究进一步评估了不同处理组对氧化应激相关疲劳生物标志物的调节作用。乳酸脱氢酶和肌酸激酶作为反映肌肉损伤的关键指标, 其水平升高与氧化应激密切相关[35]。同时, 糖原作为细胞能量储备的重要形式, 其含量变化可直接反映细胞的抗疲劳能力[36]。H_2O_2 刺激显著增加了 C2C12 的乳酸脱氢酶和肌酸激酶水平, 而游离 AST、AST@EVs 和 AST+EVs 显著下调 H_2O_2 刺激产生的乳酸脱氢酶和肌酸激酶水平的升高(图 11a 和图 11b, P<0.05)。其中, AST@EVs 组表现出最强的抑制作用, 分别将乳酸脱氢酶和肌酸激酶水平降低至 118.17±2.88 U/L 和 0.56±0.04 mg/dL。如图 11c 所示, 与模型组相比, 游离 AST、AST@EVs 和 AST+EVs 组的糖原含量分别增加了约 2.10 倍、4.31 和 3.16 倍。综上所述, AST@EVs 可有效调节由氧化应激导致的疲劳相关生物标志物的异常化, 即降低乳酸脱氢酶和肌酸激酶活性, 并增加糖原的储存。

线粒体作为细胞的能量工厂, 其功能障碍已被证实是导致肌肉无力和疲劳的重要原因[37]。本研究重点考察了线粒体功能关键标志物——柠檬酸盐合成酶和细胞色素 c 氧化酶的活性变化[38], 以阐明不同处理组对线粒体功能的保护作用。

如图 12 所示, 经游离 AST、AST+EVs 和 AST@EVs 干预后, 由 H_2O_2 损伤后 C2C12 细胞中柠檬酸盐合酶活性和细胞色素 c 氧化酶的活性均得到显著恢复(P<0.05)。值得注意的是, AST@EVs 组表现出最优的恢复效果, 其柠檬酸盐合成酶活性(0.59±0.04 U/mg prot)和细胞色素 c 氧化酶活性(2.06±0.23 mU/mg prot)最接近正常组水平。这一结

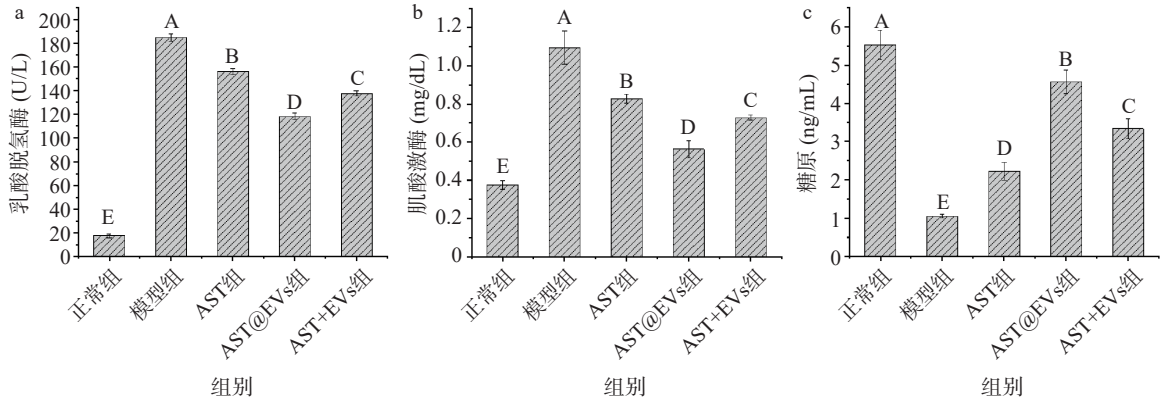


图 11　不同处理组对氧化应激相关的疲劳生物标志物的影响

Fig.11　Effects of oxidative stress-related fatigue biomarkers across different treatment groups

注：a：乳酸脱氢酶；b：肌酸激酶的酶活力；c：糖原含量；不同的大写字母表示不同样本之间存在显著性差异（P<0.05）。

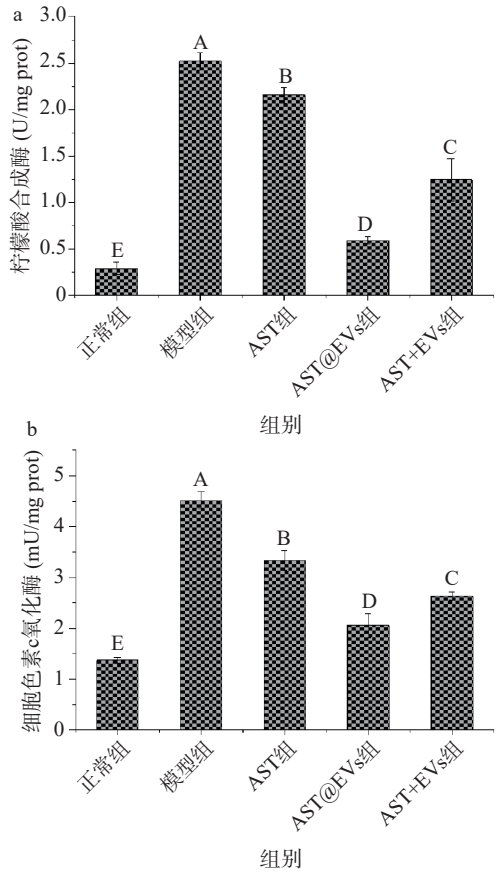


图 12　不同处理组中线粒体功能关键标志物活力

Fig.12　Activity of key mitochondrial function markers in different treatment groups

注：a：柠檬酸合成酶活力；b：细胞色素 c 氧化酶活力；不同的大写字母表示不同样本之间存在显著性差异（P<0.05）。

果充分证明，AST@EVs 可有效改善氧化应激导致的线粒体功能障碍，从而发挥抗疲劳作用。

3　结论

本研究成功构建了基于副干酪乳杆菌衍生细胞外囊泡的虾青素递送系统（AST@EVs），并系统评价了其理化特性、生物活性及抗疲劳效果。实验结果表明，该体系能够高效封装 AST 并维持其结构完整性，同时在模拟消化环境中显著提高 AST 的保留率与稳定性（P<0.05）。与游离 AST 相比，AST@EVs 表现出优异的抗氧化性能，其 DPPH 和 $ABTS^+$自由基清除效率提升了约 2.5 倍。在细胞模型中，AST@EVs 通过增强内吞作用显著提高了 C2C12 细胞对 AST 的摄取（P<0.01），并有效调控 SOD、CAT 活性及 MDA 水平，显著缓解 H_2O_2 诱导的氧化损伤（P<0.05）。与现有脂质体、聚合物纳米粒或包埋粉等递送系统相比，AST@EVs 在生物相容性、细胞摄取效率及体内安全性方面表现出明显优势。尤其相较于传统包埋技术，EVs 来源于天然益生菌，具备优异的肠道亲和性与低免疫原性，可有效避免化学载体可能引起的毒副作用，并实现更高效的胞内递送。此外，AST@EVs 还在抗疲劳机制方面展现出多途径调控能力，如下调乳酸脱氢酶（LDH）与肌酸激酶（CK）活性、提升糖原储备以及增强线粒体功能关键酶（如柠檬酸盐合成酶和细胞色素 c 氧化酶）的活性。本研究结果突显了基于 EVs 的递送策略在改善疏性生物活性成分生物利用度和功能效应方面的显著优势，不仅为 AST 的高效利用提供了新方案，也为开发下一代抗疲劳膳食补充剂或功能性食品提供了可靠的理论基础与技术路径。AST@EVs 系统在安全性、稳定性和生物活性方面的综合性能，显示出其优于现有合成载体技术的应用潜力。

© The Author(s) 2026. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

参考文献

[1] SYED A M, KARIUS A K, MA J, et al. Mitochondrial dysfunction in myalgic encephalomyelitis/chronic fatigue syndrome[J]. Physiology, 2025, 40(4): 319−328.

[2] KANG H G, LIM J H, KIM H Y, et al. Anti-fatigue effect of tormentic acid through alleviating oxidative stress and energy metabolism-modulating property in C2C12 cells and animal models [J]. Nutrition Research Practice, 2023, 17(4): 670−681.

[3] LIU C J, DONG X L, JIA J, et al. Effects of astaxanthin supplementation on fatigue, motor function and cognition: A meta-analysis of randomized controlled trials[J]. Biological Research For

Nursing, 2024, 26(3): 469−480.
[4] JIA L, WANG W, ZHAO H Y, et al. Innovative nano delivery systems for astaxanthin: Enhancing stability, bioavailability, and targeted therapeutic applications[J]. Journal of Agricultural Food Chemistry, 2025, 73(6): 3268−3304.
[5] WITWER K W, WOLFRAM J. Extracellular vesicles versus synthetic nanoparticles for drug delivery[J]. Nature Reviews Materials, 2021, 6(2): 103−106.
[6] MELDOLESI J. Unconventional protein secretion dependent on two extracellular vesicles: Exosomes and ectosomes[J]. Frontiers in Cell Developmental Biology, 2022, 10: 877344.
[7] YANG L Y, LIANG G W, CAI B J, et al. Enhanced tumor self-targeting of lemon-derived extracellular vesicles by embedding homotypic cancer cell membranes for efficient drug delivery[J]. Journal of Nanobiotechnology, 2025, 23(1): 74.
[8] JIANG X D, LIU Z J, YOU H J, et al. Quercetin-primed BMSC-derived extracellular vesicles ameliorate chronic liver damage through mir-136-5p and GNAS/STAT3 signaling pathways[J]. International Immunopharmacology, 2024, 142: 113162.
[9] LEE B H, WU S C, SHEN T L, et al. The applications of *Lactobacillus* plantarum-derived extracellular vesicles as a novel natural antibacterial agent for improving quality and safety in tuna fish[J]. Food Chemistry, 2021, 340: 128104.
[10] CUI W N, TIE S S, GUO M, et al. Engineering milk-derived exosome for enhancing cellular astaxanthin delivery[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2022, 70(35): 10794−10806.
[11] AGRAWAL A K, AQIL F, JEYABALAN J, et al. Milk-derived exosomes for oral delivery of paclitaxel[J]. Nanomedicine, 2017, 13(5): 1627−1636.
[12] ZHONG X, WANG K Y, CHEN Z J, et al. Incorporation of fucoxanthin into 3D printed Pickering emulsion gels stabilized by salmon by-product protein/pectin complexes[J]. Food & Function, 2024, 15: 1323−1339.
[13] ZHANG L J, A Z A, ZHOU C, et al. High internal phase Pickering emulsion stabilized by sea bass protein microgel particles: F ood 3D printing application[J]. Food Hydrocolloids, 2022, 131: 107744.
[14] LIANG D, LIU C Y, LI Y, et al. Engineering fucoxanthin-loaded probiotics' membrane vesicles for the dietary intervention of colitis[J]. Biomaterials, 2023, 297: 122107.
[15] CAI J, XING L, ZHANG W, et al. Effect of yeast-derived peptides on skeletal muscle function and exercise-induced fatigue in c2c12 myotube cells and icr mice[J]. Journal of Agricultural Food Chemistry, 2023, 71(42): 15522−15537.
[16] ZHANG X M, SHAUKAT M, LIU R G, et al. Orally administered dual-targeted astaxanthin nanoparticles as novel dietary supplements for alleviating hepatocyte oxidative stress[J]. Food & Function, 2024, 15(4): 2131−2143.
[17] ZHU H, XU W, WANG N, et al. Anti-fatigue effect of *Lepidium meyenii* Walp. (Maca) on preventing mitochondria-mediated muscle damage and oxidative stress *in vivo* and *vitro*[J]. Food & Function, 2021, 12(7): 3132−3141.
[18] ZHAO X, YIN F, HUANG Y, et al. Oral administration of grape-derived nanovesicles for protection against LPS/D-GalN-induced acute liver failure[J]. International Journal of Pharmaceutics, 2024, 652: 123812.
[19] WANG S, HU Y, SONG P, et al. Harnessing extracellular vesicles from *Lactobacillus reuteri* and *Lactobacillus paracasei* for synergistic osteoporosis therapy[J]. Composites Part B: Engineering, 2025, 297: 112255.
[20] WEI X, WANG M, DONG X, et al. Internal-external homologous drug-loaded exosome-like nanovesicles released from semi-IPN hydrogel enhancing wound healing of chemoradiotherapy-induced oral mucositis[J]. International Journal of Nanomedicine, 2025: 4105-4121.
[21] JIANG G L, ZHU M J. Preparation of astaxanthin-encapsulated complex with zein and oligochitosan and its application in food processing[J]. LWT-Food Science and Technology, 2019, 106: 179−185.
[22] SINGH A, SRIVASTAVA N, YADAV K S, et al. Preparation, optimization, characterization and bioevaluation of rosmarinic acid loaded phytovesicles for anti-inflammatory activity[J]. Journal of Drug Delivery Science Technology, 2020, 59: 101888.
[23] RAJENDRAN S, JAYARAM Y, NARAYANAN J, et al. Nanocarrier potential of small cardamom-derived exosome-like nanovesicles for the delivery of appetite-enhancing peptide, Ghrelin[J]. Food Bioscience, 2025: 106830.
[24] GUAN L, LIU J L, YU H J Y, et al. Water-dispersible astaxanthin-rich nanopowder: preparation, oral safety and antioxidant activity *in vivo*[J]. Food & Function, 2019, 10(3): 1386−1397.
[25] LU Y, JIN J, YANG Y, et al. Royal jelly exosomes as a stable and bioavailable carrier for fucoxanthin: A novel approach for antimelanoma therapy[J]. Food Bioscience, 2025, 71: 107118.
[26] WANG S, BARTHES N P, URBAN S, et al. Structure-guided design of a KMT9 inhibitor prodrug with cellular activity[J]. Journal of Medicinal Chemistry, 2025, 68(13): 13395−13320.
[27] BRIVIBA K, BORNEMANN R, LEMMER U. Visualization of astaxanthin localization in HT29 human colon adenocarcinoma cells by combined confocal resonance Raman and fluorescence microspectroscopy[J]. Molecular Nutrition Food research, 2006, 50(11): 991−995.
[28] HE B, WANG H, LIU G, et al. Fungal small RNAs ride in extracellular vesicles to enter plant cells through clathrin-mediated endocytosis[J]. Nature Communications, 2023, 14(1): 4383.
[29] HUANG W C, CHIU W C, CHUANG H L, et al. Effect of curcumin supplementation on physiological fatigue and physical performance in mice[J]. Nutrients, 2015, 7(2): 905−921.
[30] CULOTTA V C, YANG M, O'HALLORAN T V. Activation of superoxide dismutases: Putting the metal to the pedal[J]. Biochimica et Biophysica Acta -Molecular Cell Research, 2006, 1763(7): 747−758.
[31] HO Y S, XIONG Y, MA W C, et al. Mice lacking catalase develop normally but show differential sensitivity to oxidant tissue injury[J]. Journal of Biological Chemistry, 2004, 279(31): 32804−32812.
[32] ABDELHALIM M A K, MOUSSA S A A, QAID H A Y. The protective role of quercetin and arginine on gold nanoparticles induced hepatotoxicity in rats[J]. International Journal of Nanomedicine, 2018: 2821-2825.
[33] JIANG Q, SUN Y, SI X, et al. Anthocyanin-loaded milk-derived extracellular vesicles nano-delivery system: Stability, mucus layer penetration, and pro-oxidant effect on HepG2 cells[J]. Food Chemistry, 2024, 458: 140152.
[34] HE R, JIANG Y, SHI Y, et al. Curcumin-laden exosomes target ischemic brain tissue and alleviate cerebral ischemia-reperfusion injury by inhibiting ROS-mediated mitochondrial apoptosis[J]. Materials Science and Engineering: C, 2020, 117: 111314.
[35] JEON H, LEE K, KIM Y T, et al. Effect of HY7602 Fermented deer antler on physical fatigue and antioxidant activity in mice [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2024, 25(6): 3318.
[36] SINGHAROY A, MAFFEO C, DELGADO MAGNERO K H, et al. Atoms to phenotypes: molecular design principles of cellular energy metabolism[J]. Cell, 2019, 179(5): 1098−1111.
[37] FUSAGAWA H, SATO T, YAMADA T, et al. High-intensity interval training using electrical stimulation ameliorates muscle fatigue in chronic kidney disease-related cachexia by restoring mitochondrial respiratory dysfunction[J]. Frontiers in Physiology, 2024, 15: 1423504.
[38] MENG L B, HU G F, SHAN M J, et al. Citrate synthase and OGDH as potential biomarkers of atherosclerosis under chronic stress[J]. Oxidative Medicine Cellular Longevity, 2021(1): 9957908.