

ICS 71.100.70
CCS Y 42

团 体 标 准

T/ZGKSL 023—2025

植物纳米囊泡生产技术指南

Technical guideline for production of plant-derived
nanovesicle

2025 - 08 - 20 发布

2025 - 08 - 20 实施

中国抗衰老促进会 发布

T/ZGKSL 023—2025

目 次

前言	II
1 范围	1
2 规范性引用文件	1
3 术语和定义	1
4 来源	1
5 提取	1
6 检测	2
7 储存	3
8 信息分类标识	3
附录 A (规范性) 植物纳米囊泡 (PDNV) 外观检测方法 (透射电镜观察法)	4
附录 B (规范性) 植物纳米囊泡 (PDNV) 粒径/浓度检测方法 (纳米流式检测法)	5
附录 C (规范性) 植物纳米囊泡 (PDNV) 纯度检测方法 (破膜法)	6
参考文献	7

T/ZGKSL 023—2025

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》和中国抗衰老促进会团体标准管理办法给出的规定起草。

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。

本文件由中原美谷（洛阳）科技产业有限公司提出。

本文件由中国抗衰老促进会化妆品产业分会归口管理。

本文件起草单位：中原美谷（洛阳）科技产业有限公司、米量科技（洛阳）有限公司、烟台市食品药品检验检测中心、上海交大技术转移中心有限公司、华东理工大学、上海纳米技术及应用国家工程研究中心有限公司、广东医科大学、珀莱雅化妆品股份有限公司、上海家化联合股份有限公司、上海百雀羚化妆品有限公司、哈尔滨敷尔佳科技股份有限公司、广东远思南药生物科技有限公司、河南尚研科技研究有限公司、广州蛋壳网络科技有限公司、深圳市羽素生物科技有限公司、玫莉蔻生物科技成都有限公司、广州佳然至美生物科技有限公司、捷青丽生物科技（上海）有限公司、广州鹿人文化传媒有限公司、广州予田科技有限公司、广东梵蜜琳生物科技有限公司、洛阳宝芳生物科技有限公司、广东科盈科技有限公司、广东诺米佳生物医药有限公司、中原美谷依莱恩（洛阳）生物科技有限公司、广东万禧生物科技有限公司、颐养同康（广州）药业有限公司、广州栋方生物科技股份有限公司、广东芭薇生物科技股份有限公司、外泌体生物医疗科技（辽宁）有限公司、王药师美妆研究所（中国）有限公司、广州白云美湾科技发展有限责任公司、上海伽誉生物科技有限公司、北京热景生物技术股份有限公司、杭州伸懿生物科技有限公司、杭州伸懿生物科技有限公司、河南科技大学、北京友谊医院、杭州原极品牌管理有限公司、福建艾泌体科技有限公司。

本文件主要起草人：范航、黄虎、项光刚、郝盛源、张泉泓、张阳、彭家伟、彭新生、李响、贾海东、蒋丽刚、张晔翔、凌远强、赵鹏翔、李维兴、陈剑晖、蔡丽、魏霜、周佳佳、熊婷婷、石新宇、蔡彬弟、曹进强、张子悟、马锋潮、石磊、张艺豪、孙亚涛、曾飒、李适炜、程冠中、王玮、赵国敏、陈建国、范毅、杨昌澎、徐超、苏丹辉、刘强、金星光、梁菊、张延萍、杨高云、王伟、吴峰、王永生。

本文件首次发布。

T/ZGKSL 023—2025

植物纳米囊泡生产技术指南

1 范围

本文件规定了植物纳米囊泡（PDNV）的原料来源、提取工艺、检测鉴定方法、存储条件、信息分类标识的要求。

本文件适用于植物纳米囊泡（PDNV）生产、鉴定、检测和储运的技术规范。

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。

GB/T 6682-2016 分析实验室用水规格和试验方法

GB/T 39665-2020 含植物提取物化妆品中55种禁用农药残留量的测定
《化妆品安全技术规范（2022年版）》

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

植物纳米囊泡 plant-derived nanovesicle, PDNV

植物细胞分泌的具有磷脂双分子层的纳米囊泡。

注：粒径尺寸约为30 nm~200 nm，内含核酸、蛋白质、脂质和其他小分子等化合物。

4 来源

PDNV主要来源于具有完整细胞结构的植物细胞，经物理破碎或酶解后制备获得。

5 提取

5.1 原料预处理

对于新鲜或者多汁的植物原料应采用物理粉碎，如破壁机、组织粉碎机、破碎机等仪器将组织粉碎，加入适量的缓冲液进行重悬；对于难以压榨的植物原料应采用如纤维素酶和果胶酶联合酶解的方法，获得组织酶解液后再行破碎。收集破碎后溶液离心或沉降去除杂质，随后收集上清液用于后续PDNV的提取。

5.2 提取工艺路线

PDNV提取宜采用超滤沉淀法或超速离心法等方法。提取工艺路线如图1所示。

T/ZGKSL 023—2025



图1 PDNV提取工艺路线图

5.2.1 推荐工艺路线一：

- 一级过滤除去上清液中碎料残渣；
- 切向流超滤，推荐膜包孔径为100 KD~500 KD；
- PEG沉淀，推荐使用PEG（6000~8000）；
- 沉淀回收。

5.2.2 推荐工艺路线二：

- 一级过滤除去上清液中碎料残渣；
- 梯度离心，推荐向心力为2000 g~10000 g；
- 超速离心，推荐向心力为100000 g以上。

6 检测

6.1 外观检测

按附录A的方法检测。PDNV外观形态为具有清晰双层膜结构的杯型或茶托型结构。

6.2 粒径检测

按附录B的方法检测。PDNV粒径尺寸应为30 nm~200 nm，在此区间内粒径分布呈现一种山峰形。

6.3 浓度检测

按附录B的方法检测。每毫升PDNV样品浓度不低于 1×10^7 particles/mL。

6.4 安全风险物质检测

囊泡制品应依据实际用途按照相应的法律、法规、技术标准和指南等进行安全风险物质检测，其中，用于化妆品时，应按《化妆品安全技术规范（2022年版）》要求，对PDNV制品进行包括重金属（参考《化妆品安全技术规范（2022年版）》第四章规定方法）、微生物（参考《化妆品安全技术规范（2022年版）》第五章规定方法）与农药残留（参考GB/T 39665-2020）在内的安全风险物质检测。

6.5 纯度检测

按附录C的方法检测。

T/ZGKSL 023—2025

7 储存

建议储存条件为 $\leq 25^{\circ}\text{C}$ 。

8 信息分类标识

信息分类标识记录了囊泡制品生产过程中的植物原料来源和规格质量参数等信息,应伴随囊泡制品的质量文件提供,以便对植物原料进行可溯源分析和供应管理。

8.1 植物原料基本条件信息

标准种属名称、遗传背景、来源地、种植环境、生长时期、使用部位(根、茎、叶、花、果实等)基本条件信息。

注:采用非自然生长条件下获取的植物材料,如愈伤组织、悬浮细胞、不定根等,需注明培养基厂家及批次、外源激素和抗生素,以及是否添加促进囊泡释放的调节剂。如采用工程化细胞,除上述外需另附件说明外源基因、改造过程并注明生物安全风险。

8.2 囊泡制品规格、质量参数及储存信息

规格、浓度、纯度、储存方法与期限。

T/ZGKSL 023—2025

附录 A
(规范性)
植物纳米囊泡 (PDNV) 外观检测方法 (透射电镜观察法)

A.1 仪器与设备

A.1.1 透射电子显微镜 (TEM) Hitachi HT-7700。

A.1.2 超薄碳涂层铜网 (200目)。

A.1.3 0.22 μm 滤膜。

A.2 试剂

本方法所用试剂为分析纯, 除特别说明外, 实验用水均为GB/T 66822016规定的一级水。

A.2.1 醋酸铀酰染色剂 (1% 浓度)。

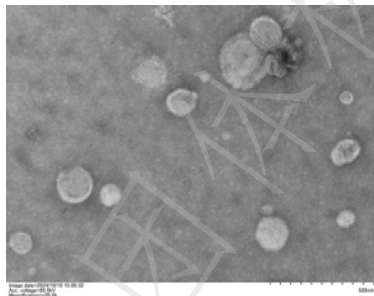
A.3 检测步骤

A.3.1 取10 μL PDNV样品滴至200目的超薄碳涂层铜网格, 吸附2 min。

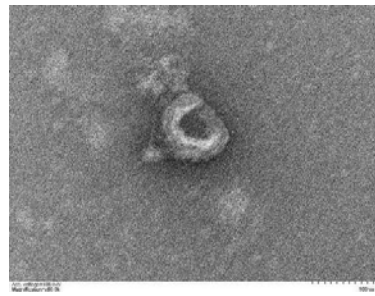
A.3.2 在滤纸上快速吸干网格。

A.3.3 滴加1%醋酸铀酰 (经0.22 μm 滤膜过滤2次) 对网格进行负染色。

A.3.4 当完全干燥1-3 min后, 使用TEM在100 kV电压下观测成像, 结果如图A.1所示, PDNV外观形态为具有清晰双层膜结构的杯型或茶托型结构。



a) 透射电镜示意图 1



b) 透射电镜示意图 2

注: 图中以牡丹囊泡为例, 其中: a) 透射电镜示意图 1 (比例尺=500 nm); b) 透射电镜示意图 2 (比例尺=100 nm)

图 A.1 PDNV 透射电镜示意图

T/ZGKSL 023—2025

附录 B

(规范性)

植物纳米囊泡 (PDNV) 粒径/浓度检测方法 (纳米流式检测法)

B.1 仪器与设备

B.1.1 纳米流式分析仪 (NanoFCM)。

B.2 试剂

本方法所用试剂为分析纯, 除特别说明外, 实验用水均为GB/T 6682-2016规定的一级水。

B.2.1 磷酸缓冲盐溶液 (PBS), pH为7.4。

B.3 仪器校准

B.3.1 开机后进行光学系统调整、激光强度标准化及检测器灵敏度设置。通过200 nm聚苯乙烯微球校准颗粒计数系统, 四种不同尺寸 (68 nm、91 nm、113 nm和155 nm) 的单分散二氧化硅珠被用作参考标准, 以校准PDNV的观测尺寸。

B.4 样品前处理阶段

B.4.1 需将PDNV样本用4℃预冷过滤PBS稀释, 超声处理5 s, 稀释, 最终颗粒计数控制在信号强度250 0 - 12, 000最佳检测区间, 同步以过滤PBS测定背景信号。

B.5 上机检测阶段

检测设置参数为: 样品压力1.0 kPa±0.05 kPa、采集时间60 s。

B.6 数据分析

B.6.1 使用NanoFCM软件NF professional v1.08统计颗粒浓度和粒径分布, 使用R软件v4.1.0计算中位数和四分位差 (IQR)。统计结果如图B.1所示, PDNV粒径尺寸应为30 nm - 200 nm, 在此区间内粒径分布呈现山峰形。

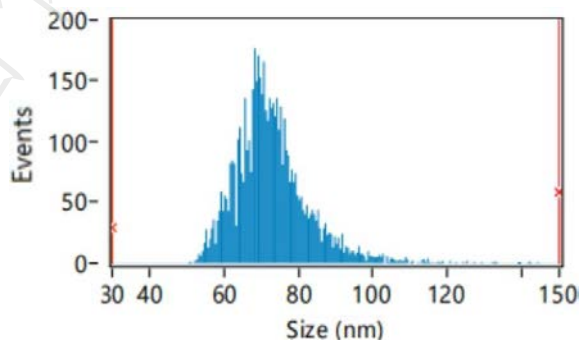


图 B.1 PDNV 粒径分布图

B.6.2 每毫升 PDNV 样品颗粒数不低于 1×10^7 particles/mL。

T/ZGKSL 023—2025

附录 C
(规范性)

植物纳米囊泡 (PDNV) 纯度检测方法 (破膜法)

C.1 试剂

本方法所用试剂为分析纯, 除特别说明外, 实验用水均为GB/T 6682-2016规定的一级水。

C.1.1 聚乙二醇辛基苯基醚 (Triton X-100)。

C.2 植物纳米囊泡的纯度检测

采用破膜统计示差法对PDNV进行纯度检测。

按照附录B的方法检测, 1mL PDNV样品溶液颗粒数计为 A_1 。随后加入10 μ L 质量浓度为0.3%的Triton X-100水溶液37 $^{\circ}$ C 孵育破膜1 h后, 检测颗粒数计为 A_2 。纯度按下式计算:

$$P = \left(1 - \frac{A_2}{A_1}\right) * 100\%$$

式中:

P—PDNV 纯度, 单位为%;

A_1 —破膜前颗粒数, 单位为个/每毫升(particles/ mL)

A_2 —破膜后颗粒数, 单位为个/每毫升(particles/ mL)

T/ZGKSL 023—2025

参 考 文 献

- [1] Cao, Y. et al. Morinda officinalis-derived extracellular vesicle-like particles: Anti-osteoporosis effect by regulating MAPK signaling pathway. *Phytomedicine* 129, 155628 (2024)
- [2] Chen, J. et al. Mesenchymal stem cell-derived exosomes protect beta cells against hypoxia-induced apoptosis via miR-21 by alleviating ER stress and inhibiting p38 MAPK phosphorylation. *Stem Cell Res Ther.* 11, 97 (2020)
- [3] Chen, X. et al. Plant-derived nanovesicles: harnessing nature's power for tissue protection and repair. *J Nanobiotechnology.* 21, 445 (2023)
- [4] Gao, C. et al. Turmeric-derived nanovesicles as novel nanobiologics for targeted therapy of ulcerative colitis. *Theranostics.* 12, 5596 (2022)
- [5] He, J. et al. Polygonum multiflorum Extracellular Vesicle-Like Nanovesicle for Skin Photoaging Therapy. *Biomater Res.* 28, 0098 (2024)
- [6] Li, A. et al. Plant-derived nanovesicles: Further exploration of biomedical function and application potential. *Acta Pharm Sin B.* 13, 3300 (2024)
- [7] Liu, B. et al. Therapeutic potential of garlic chive-derived vesicle-like nanoparticles in NLRP3 inflammasome-mediated inflammatory diseases. *Theranostics* 11, 9311 (2021)
- [8] Liu, Y. et al. Perilla frutescens Leaf-Derived Extracellular Vesicle-Like Particles Carry Pab-miR-396a-5p to Alleviate Psoriasis by Modulating IL-17 Signaling. *Research.* 8, 0675 (2025)
- [9] Perut, F. et al. Strawberry-Derived Exosome-Like Nanoparticles Prevent Oxidative Stress in Human Mesenchymal Stromal Cells. *Biomolecules.* 11, 87 (2021)
- [10] Tan, X. et al. Atractylodes macrocephala-derived extracellular vesicles-like particles enhance the recovery of ulcerative colitis by remodeling intestinal microecological balance. *J Nanobiotechnol* 23, 433 (2025)
- [11] Tian, Y. et al. Quality and efficiency assessment of six extracellular vesicle isolation methods by nano-flow cytometry. *J Extracell Vesicles.* 9, 1697028 (2019)
- [12] Teng, Y. et al. Plant-nanoparticles enhance anti-PD-L1 efficacy by shaping human commensal microbiota metabolites. *Nat Commun* 16, 1295 (2025)
- [13] Yang, Y. et al. Coptis chinensis-derived extracellular vesicle-like nanoparticles delivered miRNA-5106 suppresses NETs by restoring zinc homeostasis to alleviate colitis. *J Nanobiotechnol*, 23, 444 (2025)
- [14] Zhang, Y. et al. Small extracellular vesicles ameliorate peripheral neuropathy and enhance chemotherapy of oxaliplatin on ovarian cancer. *J. Extracell. Vesicles* 10, e12073 (2021)
- [15] Zhao, Q. et al. An enzyme-based system for extraction of small extracellular vesicles from plants. *Sci Rep* 13, 13931 (2023)