

文章编号: 1000-6931(2001)05-0416-06

可活化稳定同位素 ^{70}Zn 示踪 研究儿童膳食中锌的生物利用率

张养梅,倪邦发,王平生,田伟之,曹雷

(中国原子能科学研究院核物理研究所,北京 102413)

摘要:使用中子活化分析法,以国内仅有的低浓缩度 ^{70}Zn (18.3%)作为可活化稳定浓缩同位素示踪剂,对我国儿童膳食中锌的生物利用率进行了研究。建立了以阴离子树脂交换法对儿童便样中的锌元素进行富集,经反应堆中子辐照、测量和放射化学分离、测定锌的生物利用率方法。提出了普适于各种 ^{70}Zn 浓缩度锌作为示踪剂,以 ^{70}Zn 和 ^{68}Zn 或 ^{64}Zn 的质量丰度进行生物利用率的计算公式。克服了以 ^{68}Zn 作为唯一的天然锌指示而引入的计算误差。

关键词:生物利用率;稳定同位素示踪; ^{70}Zn ;中子活化分析

中图分类号: TL271.99 **文献标识码:** A

据调查,我国大部分地区儿童膳食中锌的日供给量为4.5~5.5 mg,仅为推荐量的50%左右^[1]。世界卫生组织(WHO)估计儿童体内锌的日正常需求量为2.8 mg^[2]。我国18个地区学龄前儿童的营养情况调查显示:严重缺锌者为24.3%,临界缺锌者达47.3%。由此推算,我国约有近一亿儿童缺锌。

目前,我国对有缺锌特征儿童采用单纯的口服硫酸锌糖浆,这在临床上缺乏理论根据,补锌的量与类型亦缺乏依据。因此,研究不同膳食条件下儿童锌的生物利用率对把握儿童缺锌的原因、程度和制定合理的治疗方案有着重要意义。

一些发达国家从70年代开始研究锌的生物利用率,采用的研究方法主要有代谢平衡法、循环锌反应法和放射性同位素示踪法^[3]。这些方法具有各自的优点和局限性。

近年来,新发展起来的可活化浓缩稳定同位素 ^{70}Zn 示踪——中子活化分析法^[4~7]发展较快。本工作应用可活化稳定同位素 ^{70}Zn 示踪——中子活化分析法研究儿童膳食中锌的生物利用率。

收稿日期:2001-01-02;修回日期:2001-03-15

基金项目:国家自然科学基金资助项目(19875082)

作者简介:张养梅(1971—),女,黑龙江双鸭山人,研究实习员,在读硕士研究生,核化学与环境化学专业

1 原理

天然锌有⁶⁴Zn、⁶⁶Zn、⁶⁷Zn、⁶⁸Zn、⁷⁰Zn 5种稳定同位素,其丰度分别为48.63%、27.90%、4.10%、18.75%和0.62%。其中,⁶⁴Zn、⁶⁸Zn和⁷⁰Zn可被反应堆中子活化生成放射性同位素⁶⁵Zn、⁶⁹Zn^m和⁷¹Zn^m。⁷⁰Zn的天然丰度低,采用同位素分离器对⁷⁰Zn进行浓集使其丰度达到足够高的程度,以便与天然⁷⁰Zn的丰度有较大差别,根据服用的浓缩⁷⁰Zn的量和排放⁷⁰Zn的量进行锌的生物利用率计算(收集便样,并以便样中的⁶⁸Zn作为天然锌,以扣除天然锌中⁷⁰Zn的影响)。锌的生物利用率计算公式为:

$$F = \frac{A_0(^{70}\text{Zn}) - (A_f(^{70}\text{Zn}) - RA_f(^{68}\text{Zn}))}{A_0(^{70}\text{Zn})} \quad (1)$$

式中: $A_0(^{70}\text{Zn})$ 为口服浓缩⁷⁰Zn的量; $A_f(^{70}\text{Zn})$ 为大便中⁷⁰Zn的总量; $A_f(^{68}\text{Zn})$ 为大便中⁶⁸Zn的总量; R 为天然锌中⁷⁰Zn与⁶⁸Zn的质量比($R=0.034$)。

式(1)中有两个假设:1) ⁷⁰Zn浓缩同位素的体内行为与天然锌相同,且充分混合;2) 身体其他部位(如汗水、尿液等)排放的锌忽略不计。这两个假设是合理的,并经实验证实。

2 实验

2.1 服锌及便样收集

在某中等经济水平全托制幼儿园进行服锌。服锌前,对全部5~7岁138名儿童进行体检、头发锌测量和膳食调查。结果显示,平均每人每日锌的摄入量为5.7 mg。以发锌水平判断,约54%的儿童缺锌。从缺锌儿童中筛选出27名无器质性疾病儿童,平均发锌水平为(73.5 ± 19.0) μg/g。将27名儿童随机分成3组,并对各组的食品进行控制,使3组儿童锌的日摄入量分别为10.0、6.1和38.1 mg。20 d后开始服用浓缩同位素锌的盐酸溶液,两天6次服完10 mg浓缩同位素锌。该浓缩锌的同位素质量丰度为:⁷⁰Zn,18.3%;⁶⁸Zn,50.8%;⁶⁵Zn为15.0%。从口服浓缩同位素锌之日起,连续收集5次排便,经均匀后,取一定量烘干,在灰化炉中550℃下灰化8 h。灰化后样品冷却后封装于瓶中待用。

2.2 样品处理

灰化后便样中含有较高浓度的Na、K、Mn、Cl等元素,这些元素经堆中子辐照后活化,严重影响⁷¹Zn^m(半衰期为3.8 h,射线能量为386 keV)的测量,因此,需采用阴离子树脂交换法对样品中的锌进行富集和对杂质元素分离纯化。

取灰化样品约200 mg,相继加入30 mL浓硝酸和3 mL浓高氯酸,电热板上加热至微沸,盖上玻璃皿,回流4 h;将清液转移至另一烧杯,用5 mL浓硝酸清洗残渣,然后,将溶液蒸至近干;用5 mL HCl溶解,转换为9 mol/L HCl介质,于φ9 mm × 80 mm阴离子交换树脂柱上吸附(树脂预经去离子水浸泡48 h,树脂柱经9 mol/L HCl预平衡),控制流速为每8~10 s一滴;将烧杯分别用1 mL 9 mol/L HCl洗涤3次,将洗涤液转入树脂柱;用3 mL 0.5 mol/L HCl将黄色吸附带(Fe³⁺)洗脱;用8 mL去离子水解吸Zn²⁺,收集锌溶液;将收集液蒸至近干,并转换为HNO₃介质,完全除去Cl⁻;最后,用0.5 mL 0.5 mol/L HNO₃将沉淀溶解,并将溶解液转至垫有聚乙烯膜的无灰滤纸片上,烘干。至此,制成辐照样品。

2.3 样品辐照及测量

样品采用气动装置送入中国原子能科学研究院重水反应堆水平孔道,辐照15 min。热中子注量率为 $1 \times 10^{13} \text{ s}^{-1} \text{ cm}^{-2}$ 。辐照后样品冷却0.5 h,用HPGe谱仪计算机测量系统进行

测量和数据处理。

3 结果及讨论

3.1 化学回收率

阴离子树脂交换法对灰化便样中的锌进行富集与纯化处理过程的回收率用 ^{65}Zn 示踪剂进行测定,即在处理前预将 ^{65}Zn 加入灰化便样中。取5个平行样品进行回收率测定。结果表明:锌的化学回收率为96.1%,相对标准偏差为1.8%。其化学回收率的平均值及标准偏差为 $(96.1 \pm 1.8)\%$ 。这说明约2%的锌存留在树脂上。其中,约1%的锌被吸附在树脂柱塑料泡沫衬底上。

图1、2和3分别为天然锌、浓缩锌和灰化便样经分离后得到的锌的谱图。从图3可看出:阴离子交换法富集和纯化锌是成功的,杂质除去率近乎100%。M.Janghorbani采用沉淀法和萃取法需经3次分离,回收率不高,且不稳定(52%~73%),本工作所建立的阴离子交换法富集与纯化锌的分离流程明显比他的优越。

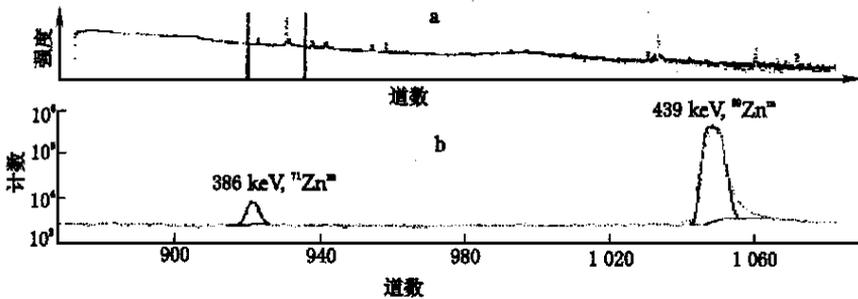


图1 天然锌辐射后的谱

Fig. 1 γ -spectrum of irradiated natural zinc
b是a的感兴趣区

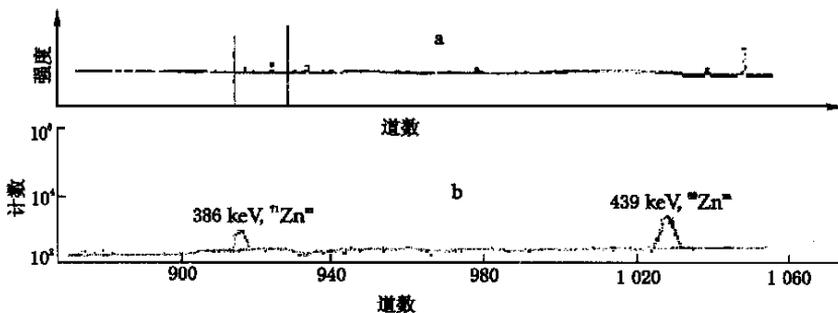


图2 ^{70}Zn 浓缩锌的谱

Fig. 2 γ -spectrum of ^{70}Zn enriched zinc
b是a的感兴趣区

为保证测定结果的准确性,减少随机误差,将经化学纯化的灰化便样和未经化学纯化的便

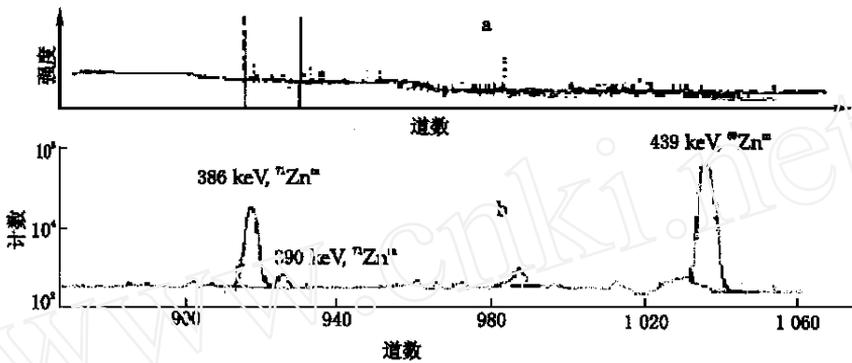


图3 大便样品中辐照前富集锌的谱

Fig. 3 γ -spectrum of zinc from fecal sample after pre-irradiation concentration
b是a的感兴趣区

样同时进行一次⁶⁴Zn的中子活化分析,以对化学纯化锌进行一次⁶⁴Zn的归一,从而从根本上消除了由富集纯化过程中锌的化学回收率波动引入的误差。采用这种方法实际上已无需对化学流程中的回收率进行测定,只需将锌的洗脱峰收集,并进行辐照及测量,从而避免了因进行化学回收率校正引入的误差。

3.2 锌的生物利用率

便样中的锌包括天然锌(体内代谢的和食物中未被吸收的锌)和浓缩同位素锌(试验添加而未被吸收的锌)两部分。在国外的同类工作中,大都使用浓缩度约为80%的⁷⁰Zn作为示踪剂,其中的⁶⁸Zn已被贫化,且口服量较少,因此,浓缩锌中的⁶⁸Zn在便样中的贡献可忽略,从而导出了生物利用率的计算公式(1)。在本工作中,因国内的浓缩锌中⁷⁰Zn的丰度仅为18.3%,其中的⁶⁸Zn也被浓缩至50.8%,且口服浓缩锌量达10mg之多,因此,浓缩锌中的⁶⁸Zn在便样中的贡献不能忽略,尤其是对锌的生物利用率较低的样品更是如此。

设X为便样中天然锌的量,Y为大便样品中浓缩同位素锌的量,则有如下关系式:

$$0.0062X + 0.183Y = a \tag{2}$$

$$0.1875X + 0.508Y = b \tag{3}$$

$$0.486X + 0.150Y = c \tag{4}$$

式中:a、b、c分别代表便样中⁷⁰Zn、⁶⁸Zn和⁶⁴Zn的总量。

对式(2)和(3)或式(2)和(4)求解,即可得到便样中浓缩锌的量。由于样品中⁷⁰Zn和⁶⁸Zn的中子活化产物的半衰期分别为4h和14h,因此,只需短时间辐照。通常求解式(2)、(3),其便样中的浓缩锌量为:

$$Y = (a - Rb) / (0.183 - 0.508R) \tag{5}$$

将式(5)改写成一般形式:

$$Y = (a - Rb) / (E(^{70}\text{Zn}) - E(^{68}\text{Zn})R) \tag{6}$$

式中: $E(^{70}\text{Zn})$ 和 $E(^{68}\text{Zn})$ 分别表示浓缩锌中⁷⁰Zn和⁶⁸Zn的浓缩度。

若改写式(6)为与式(1)相同的形式,则有:

$$F = \frac{A_0(^{70}\text{Zn}) - (A_f(^{70}\text{Zn}) - RA_f(^{68}\text{Zn})) / (1 - RE(^{68}\text{Zn})/E(^{70}\text{Zn}))}{A_0(^{70}\text{Zn})} \tag{7}$$

从式(7)可看出:当 ^{68}Zn 的浓缩度很低,即 $RE(^{68}\text{Zn})/E(^{70}\text{Zn})$ 可忽略时,式(7)变为式(1)。因此,式(1)是式(7)的一种特殊情况,式(7)更具普遍意义。

为此,本工作采用式(6)对3组缺锌儿童膳食锌的生物利用率进行计算。结果列于表1。

表1 缺锌儿童补锌的利用率
Table 1 Fractional absorption of zinc for children diet

组别	锌摄入量/ $\text{mg}\cdot\text{d}^{-1}$	F/ %
低锌摄入组	6.1	29.6 \pm 16.7
平衡锌摄入组	10	33.9 \pm 6.3
强化锌摄入组	38.1	23.1 \pm 2.5

从表1可以看出:对缺锌儿童补锌以平衡锌摄入量的方式较好,高锌摄入虽具有较高的锌补充,但可能破坏其它元素的平衡。

3.3 浓缩锌示踪丰度选择

采用可活化稳定同位素 ^{70}Zn 示踪研究人体中锌的生物利用率时,其丰度越高越好。但 ^{70}Zn 丰度越高,价格越昂贵。国外通常使用丰度为65%~84%的 ^{70}Zn 。在 ^{70}Zn 丰度仅为18.3%的样品中, $^{71}\text{Zn}^m$ 与 $^{69}\text{Zn}^m$ 峰之比远高于天然锌的峰之比。这说明对 ^{70}Zn 丰度为18.3%的样品进行中子活化分析可获得准确的测量结果,采用式(7)计算利用率也是准确的。因此,使用浓缩度为18.3%的 ^{70}Zn 示踪研究锌的生物利用率是可行的。但当 ^{70}Zn 丰度过低时,口服浓缩锌的量必然增大,服锌量的过多增加导致吸收率变化。因此,在服用浓缩锌的日子里,应控制食物中锌的量,使之与通常情况下摄入锌的总量相近,以避免吸收率发生变化。

参考文献:

- [1] 隋英祝,张传云,高玉杰,等.人发锌、铜比与动脉硬化的关系[J].营养学报,1989,11(1):42~46.
- [2] 沈铁夫.膳食中锌的生物利用率[J].生理科学进展,1986,17(2):150~153.
- [3] Sotomon NW. Biological Availability of Zinc in Humans[J]. Am J Clin Nutr, 1982, 35(3):1 048~1 075.
- [4] Janghorbani M, Ting BTG, Yong VR, et al. Accurate Analysis of Stable Isotopes ^{68}Zn , ^{70}Zn , and ^{58}Fe in Human Feces With Neutron Activation Analysis[J]. Clin Chim Acta, 1980, 108(1):9~24.
- [5] Lo GS, Steinke FH, Ting BTG, et al. Comparative Measurement of Zinc Absorption in Rats With Stable Isotope ^{70}Zn and Radioisotope ^{65}Zn [J]. J Nutr, 1981, 111(4):2 236~2 239.
- [6] Istfan NW, Janghorani M, Yong VR. Absorption of Stable ^{70}Zn in Healthy Yong Men in Relation to Zinc Intake[J]. Am J Clin Nutr, 1983, 38(1):187~194.
- [7] Ehrenkranz RA, Ackerman BA, Nelli RCM, et al. Determination With Stable Isotopes of the Dietary Bioavailability of Zinc Premature Infants[J]. Am J Clin Nutr, 1984, 40(1):72~81.

Study on Bioavailability of Zinc for Children's Diet by Using Activable Isotopic Tracer ^{70}Zn and Neutron Activation Analysis Techniques

ZHANG Yang-mei, NI Bang-fa, WANG Ping-sheng, TIAN Wei-zhi, CAO Lei

(China Institute of Atomic Energy, P. O. Box 275-50, Beijing 102413, China)

Abstract: Bioavailability of zinc for three groups (low amount of diet zinc, balance amount of diet zinc and high amount of diet zinc) of children's diet is studied by using activable isotopic tracer ^{70}Zn and neutron activation analysis techniques. The results indicate that the fractional absorption of zinc from balance diet zinc group is the highest, up to 33.9%. A procedure of pre-irradiation concentration zinc for fecal samples using anion exchanger is developed, and the enriched ^{70}Zn with isotopic abundance of 18.3% is used for tracer. The mass ratios between ^{70}Zn and ^{68}Zn or ^{64}Zn and their contents between natural zinc and enriched zinc are used to calculate the bioavailability of zinc. Instrumental neutron activation analysis of ^{64}Zn of each original fecal samples and pre-irradiation concentrated zinc samples are used to normalize the chemical yield in order to reduce the uncertainty during the chemical separation procedure.

Key words: bioavailability of zinc; activable isotope tracer; ^{70}Zn ; neutron activation analysis

欧盟核发电量增加

据德国发电厂公布的数字,欧盟 15 国 2000 年核电产量增加 2%,达到 8 280 亿度,占欧盟总发电量的 1/3。据统计,欧盟成员国中,法国仍是最大的核电生产国,其次是比利时和瑞典。

摘自《中国核工业》