creative commons

COMMONS DEED

저작자표시-동일조건변경허락 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.
- 이차적 저작물을 작성할 수 있습니다.
- 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:

저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.

동일조건변경허락. 귀하가 이 저작물을 개작, 변형 또는 가공했을 경우에는, 이 저작물과 동일한 이용허락조건하에서만 배포할 수 있습니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 이용허락규약(Legal Code)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

Disclaimer

dCollection

이학석사 학위논문

진해만에서의 해수중 영양염과 아미노산의 분포 및 생지화학적 특성

Distributions and biogeochemical characteristics of nutrients and amino acids in coastal seawaters of Jinhae Bay, Korea

2021 년 2 월

서울대학교 대학원

지구환경과학부

여 보 현

진해만에서의 해수중 영양염과 아미노산의 분포 및 생지화학적 특성

지도 교수 김 규 범

이 논문을 이학석사 학위논문으로 제출함

2021 년 1 월

서울대학교 대학원

지구환경과학부

여 보 현

여보현의 이학석사 학위논문을 인준함

2021 년 1 월

위 원 장 _____ 허 영 숙 _____ (인)

부위원장 _____ 김 규 범 _____ (인)

위 원 _____ 황 점 식 _____ (인)

요 약

해양에서 용존유기질소의 35%를 차지하는 아미노산은 생물체의 활동에 높은 반응성을 가진 유기화합물로 생물체의 대사 활동과 밀접한 연관이 있으나 공급 및 제거 메커니즘이 복잡한 연안에서의 거동 및 특성에 대해서는 아직 이해가 부족하다. 본 연구에서는 연안에서 영양염과 용존유기물질의 분포, 거동, 생물에 의한 이용 가능성(bioavailability)을 보고자 하였다. 2019 년 3 월에 진해만의 가장 안쪽에 해당하는 마산만부터 바깥해역까지 해수 시료를 채취하여 용존유기탄소(DOC), 용존유기질소(DON), 용존유기인(DOP), 용존무기질소(DIN), 용존무기인(DIP), 용존규소(DSi), 총 가수분해가능한 아미노산(THAA)의 농도를 측정하였다. 또한 측정값을 사용해 DI (degradation index)와 amino acid yields (DOC%와 DON%)를 계산하여 DOM의 생물학적 이용도를 추정하였다. DOC 는 염분이 증가함에 따라 감소하는 보존적인 거동을 보였다. 유기 영양염의 경우, DON 과 DOP 는 만의 바깥에서 낮고 안쪽에서 높은 농도로 분포하였다. 무기 영양염의 경우, DIN 과 DIP 는 만의 바깥에 비해 안쪽에서 매우 낮은 농도를 보였다. 반대로, DSi 는 만의 바깥에서 낮고 안쪽에서 높은 농도를 보였다. 염분에 따른 영양염의 분포양상은 만내에서 강물 또는 내만 기원의 무기 영양염이 활발히 소모됨을 나타낸다. THAA, L-AA 와 D-AA 의

농도는 각 145- 859 nM(평균 363±143 nM), 48-541 nM(평균 144±79 nM), 13-36 nM(평균 22±5 nM)의 범위로 fresh water (2600-11000, 2200-3400, 180-240 nM)보다 낮고 대양(100-290, 13-110, 8-49 nM)보다 높게 나타났으며 진해만 내만의 L-AA 를 제외하고 염분이 증가함에 따라 감소하는 보존적인 거동을 보였다. DI 는 -2.3~1.6(평균 -0.60±0.92)의 범위로 조류 용존 유기물(algal DOM: -0.4 ~ -0.8)보다 큰 변동 폭을 보였으며, 동해 표층(평균 -0.93±0.74)과 fresh DOM(-0.9)보다 높게 나타났다. Amino acid yields 는 각 1.9±0.65 OC%, 13±5.1 ON%로 대양 심층 DOM(0.7 OC% 6.4 ON%)보다 높게 나타났다. 이러한 L-AA 와 DI 의 분포양상은, 본 연구 해역에서의 DON 의 bioavailability 는 높은 편임을 알 수 있다. 본 연구 결과는 진해만에서는 반응성이 높은 용존 유기 질소(labile DON)의 분포가 bioavailability 가 높음에도 불구하고 저염수로부터 공급된 높은 농도의 아미노산이 생물활동보다 물리적인 이류와 확산의 영향으로 결정된다는 것을 시사한다. 향후 연안 환경에서 이러한 아미노산의 기원과 제거, bioavailability 에 대한 연구가 추가적으로 이루어져야 할 것으로 생각된다.

주요어 : 아미노산; 생지화학; 용존 유기물; 영양염류; 진해만

학 번 : 2019-20089

목 차

요 약 i
목 차 iii
List of tables iv
List of figures v

제 1 장 서 론 1

제 2 장 분석 방법 8
2.1 연구 지역 8
2.2 시료채취 및 측정항목 9
2.3 분석 방법 11
2.3.1. 영양염류의 분석 11
2.3.2. 용존유기탄소의 분석 14
2.3.3. 아미노산의 분석 15

제 3 장 결과 및 토의 27
3.1 영양염, 용존 유기탄소 및 아미노산의 분포 특성 27
3.2 영양염, 용존 유기탄소 및 아미노산의 생지화학적 특성 33

제 4 장 결론 54

참고문헌 56

Abstract 71

List of tables

[Table 1] Concentrations of THAA in fresh water, coastal and open ocean 6
[Table 2] HPLC mobile phase and settings for amino acids analysis 19

List of figures

[그림 1] Sources and sinks of amino acids in coastal waters 7

[그림 2] Study area and sampling sites in Jinhae Bay, southern coast of Korea 20

[그림 3] Nutrient auto-analyzer, New QuAAtro39, SEAL Analytical 21

[그림 4] TOC (total organic carbon) system, Shimadzu TOC-V_{CPH} 22

[그림 5] Schematic diagram of the experimental procedures for amino acids analysis 23

[그림 6] HPLC (high performance liquid chromatography) system (Alliance Waters2695 separations module) with fluorescence detector (Waters 2475 Multi λ fluorescence) and absorbance detector (Waters 2487 Dual λ absorbance detector) 24

[그림 7] Schematic diagram of the HPLC system; HPLC (Waters2695, Separation Module), C18 column (Altima HP 5 μm C18, dimensions: 150 x 4.6 mm), Fluorescence detector (Waters 2475 Multi λ fluorescence detector) ... 25

[그림 8] Amino acids separation results from Empower2 software 26

[그림 9] Horizontal distributions of temperature, salinity, dissolved organic carbon, dissolved silicate, dissolved inorganic nitrogen, dissolved inorganic phosphorus, dissolved organic nitrogen and dissolved organic phosphorus in Jinhae Bay, Korea 29

[그림 10] Vertical distributions of temperature, salinity, dissolved organic carbon, dissolved silicate, dissolved inorganic nitrogen, dissolved inorganic phosphorus, dissolved organic nitrogen and dissolved organic phosphorus in B line of Jinhae Bay, Korea 30

[그림 11] Horizontal distributions of total hydrolysable amino acids, D- amino acids, L- amino acids, amino acid yields (%DON) and amino acid yields(%DOC) in surface water of Jinhae Bay, Korea 31

[그림 12] Vertical distributions of total hydrolysable amino acids, D- amino acids, L- amino acids, amino acid yields (%DON) and amino acid yields(%DOC) in B line of Jinhae Bay, Korea 32

[그림 13] Concentrations of dissolved inorganic phosphorus, dissolved inorganic nitrogen, dissolved organic nitrogen and ratio of dissolved organic carbon and dissolved organic nitrogen..... 35

[그림 14] D- amino acid, L- amino acid, D/L ratio and total hydrolyzable amino acids 43

[그림 15] Mole percentages of the individual amino acids . 44

[그림 16] Each L and D- amino acids concentration of Asx (aspartic acid + asparagine), alanine, Glx (glutamic acid + glutamine) and serine in Jinhae Bay, Korea 45

[그림 17] D/L ratio of alanine, Asx (aspartic acid + asparagine), Glx (glutamic acid + glutamine) and serine in peptidoglycan, archaea, ocean and fresh water. Open ocean, Florida Bay (Jones et al., 2005), Arctic ocean (Fitznar, 1999), fresh DOM (algal derived DOM from ice sample (Dittmar et al., 2001)), UDOM from rivers (samples from rivers in Siberia (Dittmar et a., 2001)), peptidoglycan (isolated from cells of *Synechoccus−bacillaris* (McCalthy et al., 1998)), Archaea M (the membrane), Archaea SF (soluble protein), Archaea FAA (free amino acid) fractions of archaeal species P*yrobalaculum islandicum, Met− hanosrcina barkeri* and *Halobacterium* (mean of values for the three organisms (Nagata et al., 1999)). Archaea M and Archaea SF values have been multiplied by 10 46

[그림 18] Total hydrolyzable amino acids, L− amino acids, D− amino acids and D/L ratio in the ocean 47

[그림 19] Relationship between total hydrolyzable amino acids and D/L ratio in the ocean and fresh water 48

[그림 20] Amino acid yields (%DOC and %DON) in the ocean 52

[그림 21] Degradation indices in the ocean..... 53

제 1 장 서 론

아미노산은 한 분자 안에 아미노기와 카르복실기를 가지는 유기화합물로, 단백질을 구성하는 가장 기본적인 구성단위 물질이며 단일분자 형태의 유리 아미노산(free amino acids)과 아미노산이 펩타이드(peptide) 결합을 통해 형성한 폴리펩타이드(polypeptide) 형태의 복합 아미노산(combined amino acids)의 형태로 존재한다. 용존 유리 및 복합 아미노산을 모두 일컬어 총 가수분해 가능 아미노산(total hydrolyzable amino acids; THAA) 또는 총 용존 아미노산(total dissolved amino acids; TDAA)라고 한다. 아미노산은 단백질을 구성하는 단백질성 아미노산(protein amino acids)과 비단백질성 아미노산(non-protein amino acids)이 존재한다. Gly (no chiral center) 을 제외한 나머지 α 아미노산은 키랄성(chirality)를 가지며, 좌회전성(*Lavo*-rotatory, left handed)이성질체인 L 형과 우회전성(*Destro*-rotatory, right handed)이성질체인 D 형의 거울상(광학적)이성질체가 존재한다. 지구상에 존재하는 대부분의 아미노산은 단백질에 존재하는 알파아미노산(α-amino acids)으로 L 형(L-AA)으로 존재하며, D 형(D-AA)은 생체에 직접 이용되지 않는다. D-AA 은 L-AA 이 효소의 작용 또는 열이나 빛 에너지를 받아 라세미화(race-mization)에 의해 D-AA 으로 변화하거나, 그람음성균(gram-negative bacteria) 및 그람양성균(gram-positive bacteria)의

세포벽을 구성하는 펩티도글리칸(peptidegly-can)으로부터 기인한다. 이 중 D-AA 은 L-AA 에 비하여 생물에 대한 이용도와 반응성이 작아 보존적이고 난분해성(refractory)을 가진다.

해수 중에서 총 가수분해 가능한 아미노산(THAA)은 DON pool 의 35%로 용존유기질소 화합물 중 가장 큰 부분을 차지하며 생물생산에 크게 기여한다. 용존 유리아미노산(dissolved free amino acids; DFAA)은 생물체에 아주 빠르게 이용되는 성분으로 urea 다음으로 가장 반응성이 큰 유기 질소의 구성성분이며 용존 복합 아미노산(dissolved combined amino acids; DCAA)은 그다음으로 큰 반응성을 가진, semi labile 한 구성성분으로 알려져 있다(Kaiser and Benner, 2008). 해양환경에서는 무기 질소의 대부분이 제거되기 때문에 유기 질소가 생물생산의 주요한 공급원으로 사용될 수 있으며, 해양에서의 질소순환을 이해하기 위해서는 아미노산의 거동을 파악하는 것이 매우 중요하다.

대양표층에서 THAA 의 농도는 태평양(HOT), 동해(East Sea of Korea), 대서양(BATS) 순서대로 190-285, 248, 150-198 nM, 심층에서는 45-70, 137, 87-103 nM 로 조사되었다. 대양에서 아미노산의 특성은 대부분 그람양성균 및 음성균의 재생산과정으로 결정되며, POC 및 DOC 의 약 25% 그리고 PON 및 DON 의 50% 정도가 박테리아로부터 기인한 유기물로 밝혀졌다(Kaiser and

Benner, 2008; Kaiser and Benner, 2009; Kim et al., 2017). 강 및 민물에서 THAA 의 농도는 2600-10710 nM 로 조사되었다(Dittmar et al., 2001; Jones et al., 2005). Dittmar et al., 2001 에 의하면 강에서의 THAA 의 특성은 수중의 그람 양성균과 퇴적물의 속성 작용(diagenesis)의 과정으로 결정된다. 극지방의 경우 river, nearshore, surface, deep water 에서 3200, 520, 520, 250 nM 로 대양에 비하여 높은 분포를 나타내었다. 생물생산력이 매우 낮으며, 라세미화의 영향을 받기에는 체류시간(residence time)이 짧은 극지방 해역의 아미노산 농도의 분포는 주로 강을 통해 공급된 토양 및 육지 기원 아미노산의 농도에 의해 결정된다(Dittmar et al., 2001). Garz□n-Cardona, et al., 2019 의 연구는 얼음이 녹으며 높은 영양염이 공급되는 극지방의 연안 지역(the southern end of the Argentine shelf in late summer, 2012)에서 이루어졌으며 DOC 는 염분이 증가함에 따라 증가하였으나 THAA 의 경우 담수 환경(Beagle Channel water; BCW)에서 박테리아의 활발한 섭식의 작용으로 인해 아미노산의 농도가 매우 낮고, 해수(CW and OW)중의 높은 생물 생산력(Almandoz et al., 2011)으로 염분이 증가함에 따라 아미노산의 농도가 높아짐을 보였다. 강 하구 및 연안에서의 THAA 의 농도는 280-810 nM (Jones et al., 2005)로 조사되었다. 해양의 퇴적물에 존재하는 THAA 의 농도는 20 mM 이며 박테리아 최대 층(maximum bacterial density)가 관찰되는 10 cm 의

깊이에서 가장 높은 농도를 나타내었다(Pedersen et al., 2001)(Table 1).

생물의 대사활동에 직접적으로 연관이 있는 아미노산의 생체지표(biomarker)를 통하여 생물에 의한 이용가능성(bio-availability)와 난분해성(refractory) 및 분해성(labile) DOM 의 양을 파악하려는 연구가 이루어져왔다. Kaiser and Benner, 2008 는 DOM 에 대한 박테리아의 기여도를 파악하기위해 박테리아로부터 기인한 D-AA 의 농도를 DOC 와 DON 의 농도로 표준화하여 bacterial C or N(%)을 나타내는 생체지표를 만들었다. D-AA(과 Muramic acid)의 농도 자체가 박테리아의 생체지표(bacterial biomarker)로 이용되기도 한다(Bada and Hoopes, 1979; 박 등, 1995; Nagata et al., 1998; Nagata et al., 1999; T. Dittmar et al., 2001; Nagata et al., 2003; McCarthy et al., 2004; Davis and Benner, 2005; Kaiser and Benner, 2008). 아미노산의 성분 별 분포는 유기물의 생물분해(bio-degradation)와 속성 변화(diagenetic alteration)의 단계에 따라 변화함을 여러 논문에서 밝혔다(Dauwe et al, 1989; Tegelaar et al., 1989; Cowie and Hedges, 1994; Wakeham et al., 1997). 이를 활용하여 Dauwe et al., 1999 은 퇴적물시료에서 단백질성 아미노산의 농도변화를 측정하고 주성분 분석(variance-originate method: principle component analysis, PCA)을 거쳐 Degradation

Index (DI)를 만들었으며, Davis and Benner, 2005 은 DON 과 DOC pool 에 존재하는 아미노산의 양을 나타내는 Amino acid yields 를 통하여 유기물의 특성을 파악하고자 하였다.

유기물의 bioavailability 에 대한 연구는 용존유기물 및 영양염의 공급이 대부분 자생기원으로 제한적인 대양에서 이루어졌다. 하지만 해수 중 생물생산뿐만 아니라 강이나 지하수를 통한 육지로부터의 타생기원 유기물이 공급되며, 인간의 활동과 밀접한 연관이 있는 연안의 경우 아미노산의 분포 및 생지화학적 특성에 대해서는 밝혀진 바가 매우 적다(Fig. 1).

따라서, 본 연구에서는 진해만과 낙동강하구 인근 해역에서 용존 무기 및 유기 영양염, 용존유기탄소와 THAAs 의 농도 분포를 측정하여 THAAs 의 기원과 거동을 파악하였다. 또한 아미노산의 생체 지표(DI, amino acid yields)를 활용하여 연구 해역에서 DON 의 bioavailability 와 기원을 파악하였다.

	Locations	Sample isolation	Depth (m)	THAA (nM)	Reference
Atlantic Ocean	Sargasso Sea	GF/C	0-150	180-200	Lee and Bada, 1977
surface	BATS	HMW DOM	2	178	McCarthy et al., 1996
	BATS	Unfiltered	20-100	180-198	Kaiser and Benner, 2009
Pacific Ocean	Central Equatorial Pacific	GF/C	0-150	360-490	Lee and Bada, 1977
surface	HOT	HMW DOM	10	278	McCarthy et al., 1996
		GF/C	0-100	350-490	Druffel et al., 1992
		GF/F	0-400	161-372	Yamashita and Tanoue, 2003
	HOT	Unfiltered	20-150	204-285	Kaiser and Benner, 2009
South Yellow Sea		GF/F	15-71	2780	Chen et al., 2016
Polar ocean	Fram Strait, Weddell Sea	GF/C	0-140	390-680	Hubberten et al., 1995
surface		GF/F	0-30	320	Dittmar et al., 2001
		GF/F	0-200	229-287	Davis and Benner, 2005
		0.2 μm	20-100	199-447	Simon and Rosenstock, 2007
East Sea surface		GF/F	0-150	218-278	Kim et al., 2018
deep		GF/F	>1000	109-160	Kim et al., 2018
Atlantic Ocean	Sargasso Sea	GF/C	>1000	70-140	Lee and Bada, 1977
deep	BATS	HMW DOM	>900	89-122	McCarthy et al., 1996
	BATS	Unfiltered	>1000	87-103	Kaiser and Benner, 2009
Pacific Ocean	Central Equatorial Pacific	GF/C	<1000	100-160	Lee and Bada, 1977
deep	HOT	HMW DOM	4000	109	McCarthy et al., 1996
		GF/C	>1000	90-180	Druffel dt al., 1992
	HOT	Unfiltered	>1000	50-60	Kaiser and Benner, 2009
Polar ocean	Fram Strait, Weddell Sea	GF/C	>1000	131-103	Hubberten et al., 1995
deep		GF/F	>500	250	Dittmar et al., 2001
		GF/F	1000	112	Davis and Benner, 2005
Coastal ocean	Florida Bay	GF/F	0	280-810	Jones et al., 2005
Freshwater	Coot Bay Pond, freshwater canal , Florida Bay	GF/F	0	3790-10710	Jones et al., 2005
Marine sediment				20000	Jørgensen et al., 1999

Table 1. Concentrations of THAA in fresh water, coastal and open ocean.

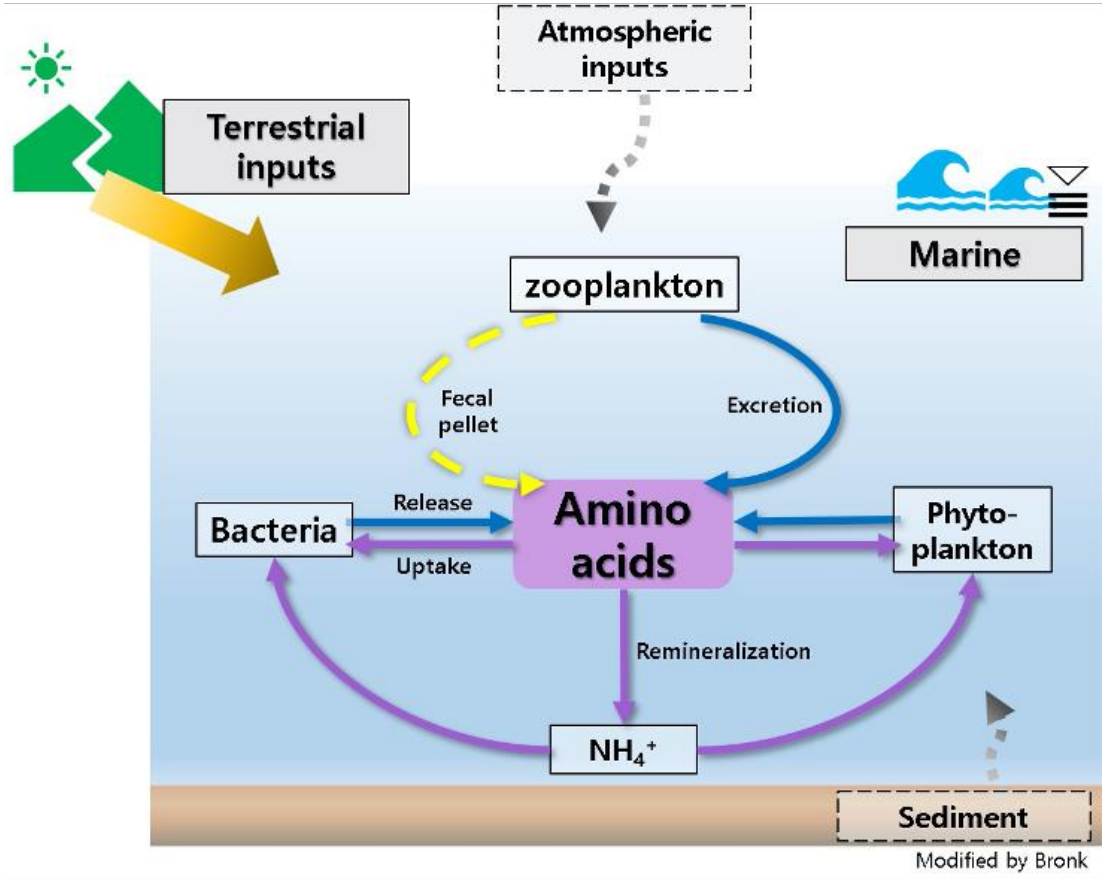

Figure 1. Sources and sinks of amino acids in coastal waters.

제 2 장 분 석 방 법

2.1 연구 지역

진해만은 경상남도 창원시 고성군의 남동쪽, 거제시의 북서쪽, 김해시의 남서쪽 사이에 위치에 있는 반 폐쇄성 해역이다. 면적은 약 1000 $km^{2,}$ 평균 수심은 20m 로 만 내에는 부도, 저도, 쇠도, 칠천도, 가조도 등 많은 섬과 망동만, 진동만, 고현만, 명주만, 행암만, 마산만, 웅천만, 옥포만 등과 같은 작은 만이 분포한다. 동쪽과 북쪽을 제외한 주위가 모두 높이 100~600m 의 소반도로 둘러싸인 만이다. 만의 가장 안쪽에 위치한 마산만은 만구는 약 1km 로 좁고 수심이 깊어 천연 항구를 이루고 있으며, 만의 중앙에 위치하는 옥포만은 해안이 넓고 평탄하며, 바람이 없는 조건으로 옥포조선소가 입지하고 있다. 반일주조가 우세하며 반 폐쇄성 해역인 진해만에서의 해수의 교환은 최고수심 약 45 m, 넓은 폭의 가덕수도를 통해 대조기에는 전체 해수 교환량 중 86~90%, 소조기에는 61~80%가 유통되며 소량은 서쪽에 위치한 최고수심 약 8m, 좁은 폭(180-400m)의 견내량 해협을 통해 외해와 해수 교환이 이루어진다. 진해만 내의 마산만, 행암만 등의 내만에는 유기오염물질이 약한 해수 유동으로 인해 축적되어 적조 발생의 직접적인 원인이 되기도 한다. 이처럼 1960 년 이후 진해만 주변 지역의 도시가 발달하고 공단, 조선소, 양식장, 하수종말처리시설의 조성 등, 산업화로 인해 오염물질과 과잉 영양염이 공급되고 봄과

여름철의 강한 수온약층의 발달로 부영양화, 빈산소 수괴, 유해성 적조 그리고 패류독소 등 오염 문제가 매년 발생하고 있다(장 등., 1993; Jang et al., 2000; Lim et al., 2006; Lee et al., 2006; Kim et al., 2011; Jang et al., 2011; Kim et al., 2016).

2.2 시료 채취 및 분석 항목

본 연구에서는 진해만과 낙동강하구역에 걸쳐 총 17 개 정점에서 표층부터 92 m 의 수심(n=62) 2019 년 3 월 25 일부터 28 일까지 3 일간 나라호(부경대)에 승선하여 조사를 시행하였다. 진해만에서의 생지화학적 성분의 분포 특성을 파악하기 위해 각 정점에서 니스킨 채수기(Niskin sampler)를 이용하여 표층 및 저층의 해수 시료를 채취하여 실험실에서 용존유기탄소, 용존영양염류, 용존아미노산을 측정하였으며, 수온과 염분은 CTD 를 이용하여 측정하였다(Fig. 2).

영양염, 용존유기탄소, 아미노산의 분석을 위한 시료는 10% 염산과 초순수로 세척한 고밀도 폴리에틸렌(HDPE) 병에 1 L 씩 샘플링한 해수를 500° C 이상에서 5 시간 동안 유기물질을 연소(pre-combusted)한 유리섬유 여과지(0.7 □m pore size 47

mm Whatman GF/F Glass Microfiber filter)와 진공펌프를 사용하여 여과하였다. 여과한 시료는 영양염과 아미노산 분석을 위하여 HDPE 플라스틱 용기(conical tube)에 넣어 −20° C 이하에서 측정 전까지 냉동보관 하였다. DOC 측정을 위한 시료는 500° C 이상에서 5 시간 동안 유기물질을 연소한 유리 앰풀(20 mL glass ampoule)에 넣은 후 박테리아 등 생물체의 영향을 제거하기 위해 50 ㎕ 6M HCl 을 첨가하여 약 pH2 로 맞추어 생물의 생물 활동을 고정(정지)해준 다음 유기 오염원 유입의 차단을 위해 토치로 밀봉(fired sealed)하여 측정 전까지 냉 암소에 보관하였다.

2.3 영양염 분석 방법

용존 무기 및 유기 영양염의 분석은 발색시약을 사용하여 흡광도를 측정하는 비색법을 통해 해양환경공정시험기준에 따라 영양염 자동 분석기(New QuAAtro39, SEAL Analytical)를 사용하여 분석하였다(Fig. 3). 분석 후 검량선용 표준용액을 사용하여 만든 검량선과 KANSO 사의 표준물질을 이용하여 농도를 보정하였다.

2.3.1 무기 영양염

용존 무기 질소(DIN; sum of NH_4^+, NO_2^- and NO_3^-), 용존 무기 인(DIP; PO_4^{3-})과 용존 규산의 농도를 측정하기 위한 암모늄(ammonium; NH_4^+), 아질산염(nitrite; NO_2^-), 질산염(nitrate; NO_3^{2-}), 인산염(phosphorus; PO_4^{2-}) 그리고 규산염(silicate; $Si(OH)_4$)의 측정은 해양 환경 공정 시험 기준에 따라 진행되었다.

아질산염(NO_2^-)는 일차적으로 방향족 질소화합물인 설파닐아마이드(sulfanilamide)와 산성 하에 반응하여 디아조니움 이온(diazonium ion)을 형성한 후 이차적으로 다른 방향족 질소화합물인 나프틸 에틸렌디아마인(NEDD, N-(1-naphtyl)-ethylenediamine)와 반응하여 분홍색의 용액을 생성하게 된다.

이때 자동 분석기로 최대 흡수 파장인 543 nm 에서 최종 발색된 용액의 흡광도를 측정하였다. 이외의 시약으로는 인공해수와 구리설페이트용액(copper sulfate solution), 이미다졸 완충용액(imidazole buffer)을 사용하였다.

질산염(NO_3^{2-})은 구리 촉매로 처리된 카드뮴-구리 환원 관을 통과하여 아질산 질소(NO_2^-)로 환원시키는 카드뮴-구리 환원법(cadmium-copper column reduction method)을 사용한 다음, 앞의 아질산 질소의 측정원리와 동일하게 흡광도를 측정하였다.

암모늄(NH_4^+)은 일차적으로 염기성 차아염소산(hypo-chlorite) 용액과 산화 반응을 통해 모노크롤아민(mono-chloramine)을 생성한 후, 이차적으로 페놀(phenol), 니트로프러시드(nitroprusside) 그리고 차아염소산에 의해 코발트블루색의 인도페놀(indophenol)을 생성하게 된다. 이때 자동 분석기로 최대 흡수파장인 640 nm 에서 최종 발색된 인도페놀의 흡광도를 측정하였다. 용존무기질소(dissolved inorganic nitrogen; DIN)은 앞의 아질산염, 질산염, 암모니아의 합으로 하였다.

인산염(PO_4^{3-})은 산성 조건에서 몰리브덴산암모늄용액(ammo-nium heptamolybdate tetrahydrate)을 사용하여 몰리브덴산 암모늄과 타타르산안티모닐칼륨과 반응 시켜 안티모닐-인산 몰리브덴 착화합물을 형성시켰다. 안티모니가 첨가된 환원 용액인

아스코르빈산에 의해 환원되어 푸른색을 띠게 된다. 최종 발색된 용액은 자동 분석기로 최대 흡수 파장인 885 nm 에서 흡광도를 측정하였다.

2.3.2 유기 영양염

DON (dissolved organic nitrogen)과 DOP (dissolved organic phosphorus)는 해양환경공정시험기준 및 Hansen and Koroleff, 1999 에 따라 총 영양염을 측정한 농도에서 무기영양염의 농도를 감산하여 구하였다.

DON 의 측정을 위해 총 용존 질소(dissolved total nitrogen; DTN)를 측정하였다. 해수시료 중의 암모니아, 아질산염, 질산염, 유기성질소 등을 알칼리성 과황산칼륨($K_2S_2O_8$)산화제를 사용해 120℃ 에서 30 분간 가압분해(2 atm)하여 분해해 모두 아질산염으로 산화시킨 후 아질산 질소의 측정원리와 동일하게 흡광도를 측정하였다. DON 의 농도는 DTN 에서 DIN 을 감산하여 구하였다.

DOP 의 측정을 위해 총 용존 인(dissolved total phosphorus; DTP)을 측정하였다. 해수 시료중의 용존, 무기 및 유기형태의 모든 인 화합물을 알칼리성 과황산칼륨을 산화제로 사용해 120° C 에서 30 분간 가압분해(2 atm)하여 분해해 모두 인산염(PO_4^{3-})으로 산화시킨 후 인산염의 측정원리와 동일하게

흡광도를 측정하였다. DOP 의 농도는 DTP 에서 DIP 를 감산하여 구하였다.

해수 시료 중의 규산염($Si(OH)_4$)은일차적으로 몰리브덴산과 반응하여 몰리브덴산 착화합물을 형성시킨 후, 이차적으로 메톨과 옥살산으로 만든 환원 용액을 사용해 환원 시켜 규소 몰리브덴산 착화합물을 생성시킨다. 최종 발색된 용액은 자동 분석기로 최대 흡수파장인 810 nm 에서 흡광도를 측정하였다.

2.4 용존유기탄소 분석 방법

해수시료에 존재하는 탄소는 TOC-V_{CPH}, Japan (Shimadzu)를 사용(Fig. 4), 고순도 산소를 운반기체로하여 고온촉매산화법(HTCO, High Temperature Catalytic Oxidation method)을 사용하여 모두 CO_2 로 산화시킨다. 백금으로 코팅된 알루미늄 촉매구슬로 채워진 관에서 720° C 로 태워 CO_2로 산화된 탄소를 NDIR (non-dispersive infrared absorbption)에서 압력을 측정하여 전기적신호로 바꾸어 분석하였다. 바탕시료로 Milli-Q water 와 LCSW (University of Miami, USA, low carbon sea water)를 사용하였고, 검량선용 표준용액인 KHP (potassium hydrogen phthalate)을 사용하여 만든 검량선과 표준인증물질(certified reference material; CRM)로 Miami deep

seawater reference sample (University of Miami, USA, 41-44 □M)을 사용하여 보정하였다.

2.5 아미노산 분석 방법

THAAs 의 측정은 프리컬럼유도체화를 통해 생성한 유도체를 HPLC system 과 HPLC 컬럼을 사용해 분리하여 형광도를 측정하였다(Fig. 5 and Fig. 6).

측정 전 DCAA 의 펩타이드 결합을 다음과 같이 용액 산 가수분해(liquid acid hydrolysis)를 통하여 끓어 모두 DFAA 의 형태로 바꾸었다. 12 M HCl 5 mL 와 11 mM 아스코르빅산(as-corbic acid) 50 □L, 녹인 해수 시료 5 mL 를 500° C 이상에서 5 시간 동안 유기물질을 연소한 유리 앰풀(20 mL glass golden band ampoule)에 넣어 가수분해 과정 중 산소 및 오염물질에 의한 추가적인 산화를 막기위해 위의 빈 공간(headspace)을 질소가스(pure N_2 gas)로 약 1 분간 플러싱(flushing) 한다. 이 때, 해수시료간의 오염과 공기 중 먼지의 오염에 주의한다. 곧 바로 토치를 사용해 밀봉한 뒤 드라이 오븐(dry oven)에 넣어 약 110° C(±2° C)에서 24 시간 동안 끓여준다. 가수분해 과정 동안 asparagine 과 glutamine 은 탈아미노반응(deamination)으로 각각

aspartic acid 와 glutamic acid 로 전환된다. 그 이후 500° C 이상에서 5 시간 동안 유기물질을 연소한 HPLC 2 mL vial 에 1 mL 씩 소분하여 HCl trap 을 갖춘 동결건조기를 사용해 감압 하에 동결 건조를 진행한다. 이때 HCl 은 제거되고 아미노산은 백색결정으로 건조된다. 건조된 시료는 분석 전까지 초저온냉동기(deep freezer)에 넣어 −80° C 이하에서 보관하거나 1.5 mM sodium azide 를 넣어 약 한 달간 보관이 가능하다. 샘플의 동결건조 완료 후 24 시간 안에 분석을 진행할 경우 4° C 에서 보관하였다가 다음의 HPLC 를 사용해 측정을 진행하였다(Fig. 7).

측정은 HPLC 컬럼을 통과하기에 앞서 유도체를 유도하는 프리컬럼유도체법(pre−column derivatization method)으로 진행하였다. 분석 전 건조된 시료를 pH11.5 Milli−Q water , 18.2 MΩ16 1 mL 에 재용해시킨 후 o−phthaldialdehyde (OPA)와 N−isobutyryl−$_{L/D}$−cysteine (IBLC/IBDC)을 20 μL 씩 넣고 흔들어 충분히 섞어준다. 컬럼에 통과하기 전에 유도체가 유도될 수 있도록 주입(injection) 10 분전에 유도체를 넣어주었다. OPA 와 IBLC 용액(regent)는 보관과 사용 시에 빛에 노출되지 않도록 주의한다. 매일 새로운 유도체 시료를 사용하고 남은 유도체 시료는 폐기하였다.

HPLC 의 이동상으로는 Eluent A: pH6 Sodium acetate trihydrate, B: Acetonitrile (CH_3CN, HPLC grade, Duksan, Korea)

100%를 사용하였고, flow rate: 1.1 mL min^{-1} 로 다음과 같이 100 분에 A: 98%에서 76%, 105 분에 76%에서 20%로 gradient 를 설정해주었으며, 각 측정이 완료된 후에는 Eluent B 100%로 10 분간 컬럼을 세척하였다. 유도체의 흡광도는 λ_{ex} : 330 nm and λ_{em} = 445 nm 의 파장에서 측정되었다. 각 샘플의 주입량은 100 ㎕, 컬럼의 온도는 25° C, 샘플의 온도는 4° C 로 설정하여 분석하였다. 분리 컬럼은 역상C18 컬럼 (Altima HP 5 ㎛ C18, dimensions; 150 x 4.6 mm)을 사용하여 측정하였다(Fitznar et al., 1999; Dittmar et al., 2001; Yan et al., 2015) (Table 2).

위와 같은 방법으로 측정된 아미노산의 종류는 12 가지의 단백질성 아미노산 L&D-Alanine, L&D-Asx (Aspartic acid + Asparagine), L&D-Glx (glutamic acid + glutamine), L&D-Serine, L&D-threonine, glycine, arginine, tyrosine, valine, phenylalanine, leucine, isoleucine 과 비단백질성 아미노산 2 가지 β-alanine (BALA), γ-aminobutyric acids (GABA)로 총 14 가지의 아미노산을 측정하였다. 총 가수분해 아미노산(THAA, total hydrolyzable amino acids)은 비단백질성 아미노산 두 가지를 제외한 나머지 12 가지의 농도의 합으로 구하였다(Fig. 8).

측정값의 검출 한계를 얻기 위해 Milli-Q 증류 장치를 통해 얻은 초순수에 OPA 와 IBLC 를 넣어 아미노산의 농도를 측정하였다. THAA 의 검출 한계는 4.6 ng/l 로 나타났다. Kaiser and Benner.,

2005 와 Amelung and Brodowski., 2002 는 유리 아미노산(free amino acids)과 용존 단백질(dissolved protein)의 산 가수분해 과정에서 발생하는 화학적 라세미화(enantiomer change)에 의해 시료중의 L 형의 거울상 이성질체가 D 형으로 전환됨을 밝혀내었다. DFAA fraction 내에서 각 D-AA 에 대해 Asx +3.2%, Glx +1.4%, Ser +0%, Ala +0.6%의 에러가 L-AA 에 대해서는 차례대로 동일하게 마이너스 값의 에러가 발생한다. 해수 시료 중의 DFAA 는 매우 적게(<10%) 존재하므로, 본 실험에서의 산 가수분해로 발생한 라세미화에 의한 THAA 농도에 대한 실험 오차는 3% 아래일 것으로 보인다.

HPLC mobile phase	Eluent A	pH6 Sodium acetate trihydrate
	Eluent B	Acetonitrile(CH_3CN , HPLC grade)
HPLC setting	Flow rate	1.1 mL min^{-1}
	Injection Volume	100 μL
	Sample temperature	4°C
	Column temperature	25°C
Fluorescence	λ_{ex}	330 nm
	λ_{em}	445 nm

Table 2. HPLC mobile phase and settings for amino acids analysis.

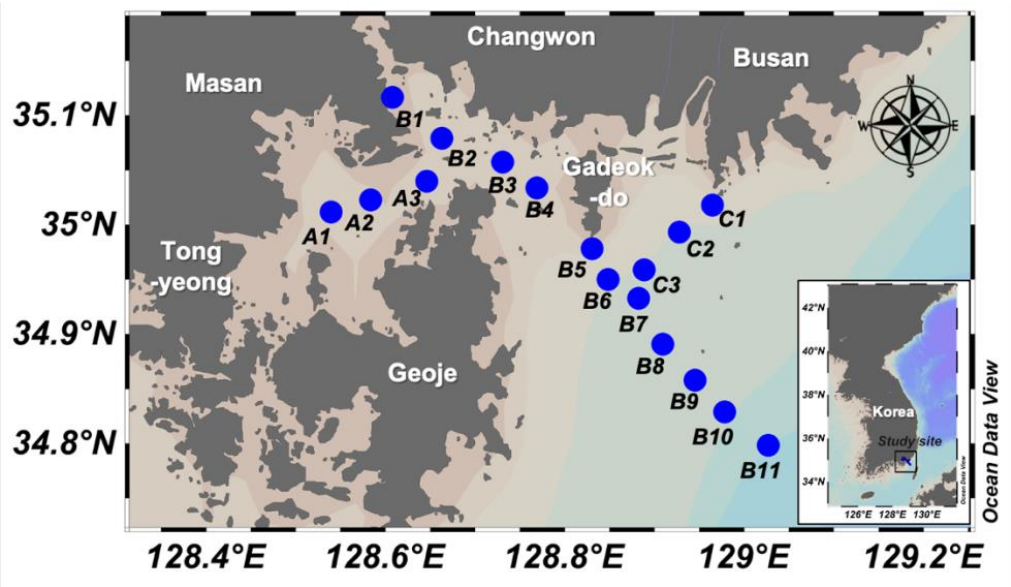

Figure 2. Study area and sampling sites in Jinhae Bay, southern coast of Korea.

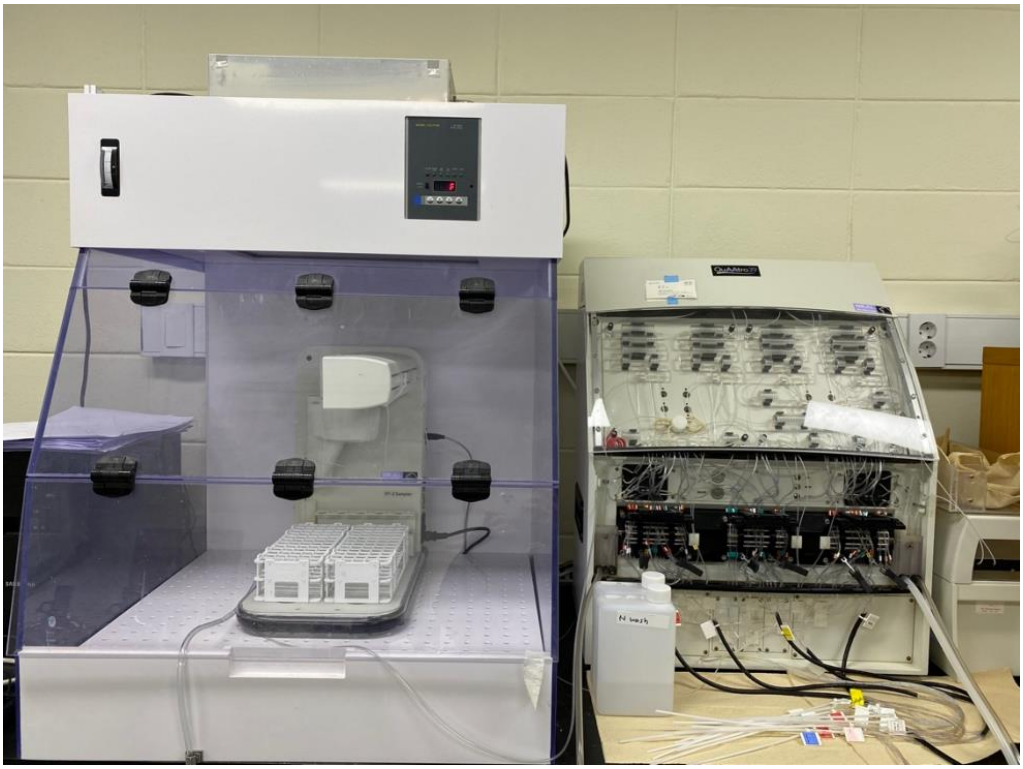

Figure 3. Nutrient auto-analyzer, New QuAAtro39, SEAL Analytical.

Figure 4. TOC (total organic carbon) system, Shimadzu TOC-V_{CPH}.

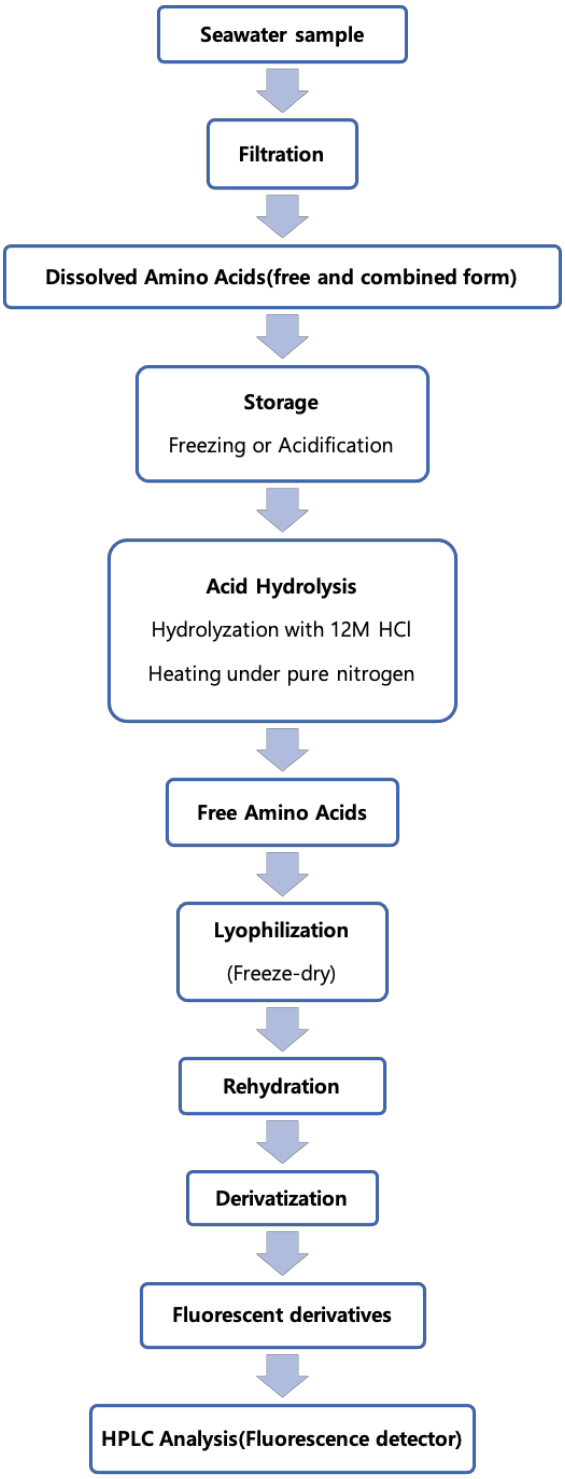

Figure 5. Schematic diagram of the experimental procedures for amino acids analysis.

Figure 6. HPLC (high performance liquid chromatography) system (Alliance Waters2695 separations module) with fluorescence detector (Waters 2475 Multi λ fluorescence detector) and absorbance detector (Waters 2487 Dual λ absorbance detector).

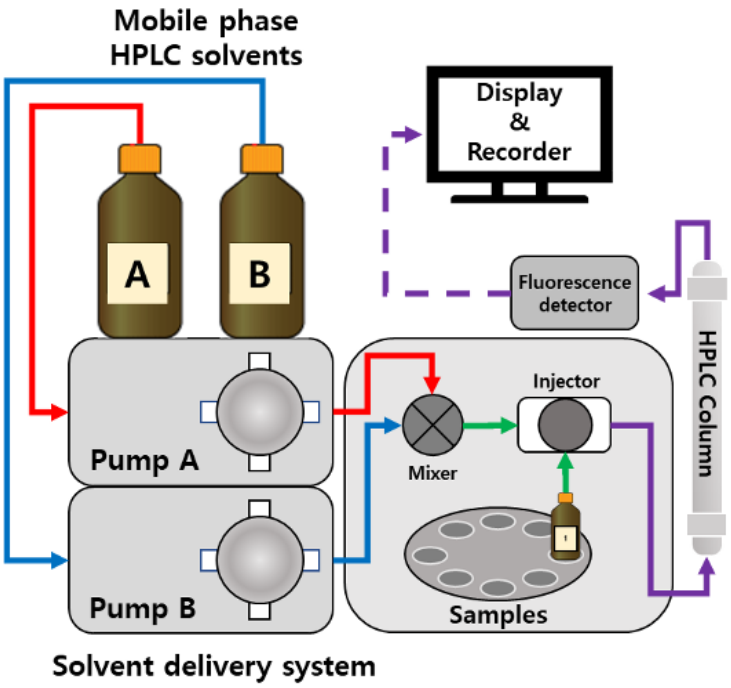

Figure 7. Schematic diagram of the HPLC; system HPLC (Waters 2695, Separations Module), C18 column (Altima HP 5□m C18, dimensions: 150 x 4.6 mm) and Fluorescence detector (Waters 2475 Multi λ fluorescence detector).

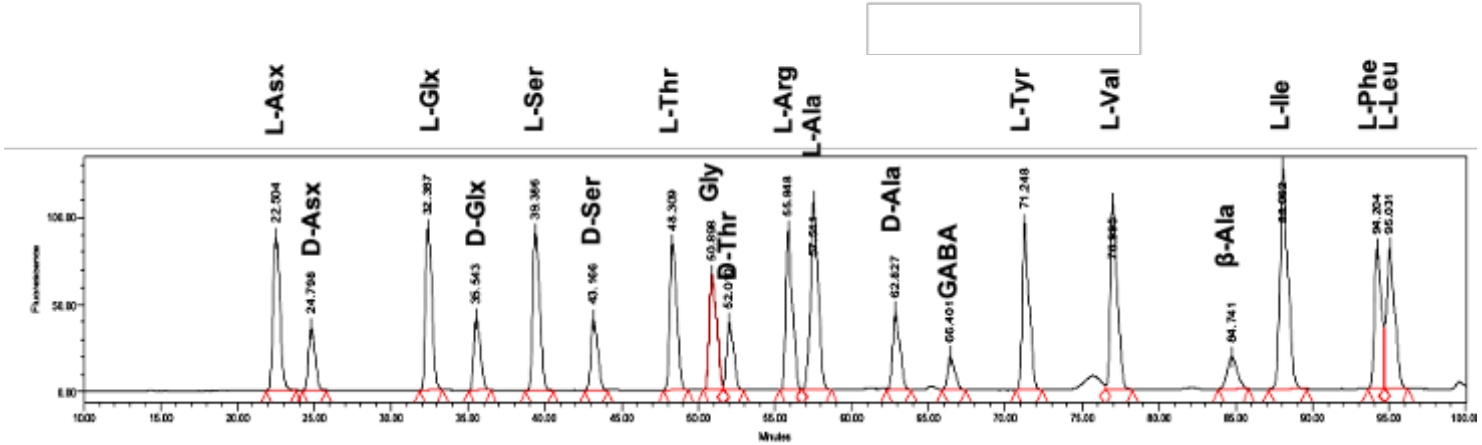

Figure 8. Amino acids separation results from Empower2 software.

제 3 장 결과 및 토의

3.1 영양염, 용존 유기탄소 및 아미노산의 분포특성

2019 년 3 월, 패류독소 발생 이후에 진해만에서 진행한 현장 조사에서 만 내부에서 외부로 갈수록 수온과 염분(수온; 10-14 ℃, 염분; 33.1-34.4)이 상승하는 특성을 보였다. 수평 및 수직적인 분포를 살펴보았을 때, DOC 의 농도는 57-100 μM(평균 73±12 μM)의 범위를 나타내며 만 안쪽에서 외해로 갈수록 보존적으로 감소하였다. 이 해역에서 저염수로부터의 공급 외 만내에서의 추가적인 생산 혹은 제거는 관찰되지 않았으며, 저염수와 진해만 외부 해수의 물리적 혼합으로 DOC 의 분포가 결정되는 것으로 보인다(Fig. 9 and Fig. 10). DSi 는 0.03-8.1(평균 3.8±2.4 μM), 무기영양염 DIN, DIP 의 경우 0.02-12.2, 0.1-0.43 μM (평균 DIN 2.9±2.4, DIP 0.25±0.08 μM)의 범위로 나타났다. DIN 은 낙동강을 통한 담수 유입의 영향이 클 것으로 보이는 낙동강하구역(조사 정점 C; green △, 평균 염분 34)에서의 평균 농도는 4.8±2.4 μM, 진해만 내부에서는 0.21±0.33 μM 로 나타나, 특히 해수의 교환이 활발하지 않은 만 내부에서 DIN 대부분이 제거되어 무기 영양염이 고갈되었음을 알 수 있다(Fig. 9 and Fig. 10).

낙동강하구역 표층에서의 DIN, DIP, DSi 의 농도는 각 6.41, 0.29, 0.90 μM 로 높게 나타났으며, 진해만 내부의 경우 0.36, 0.33 μM 로 낮은 농도의 DIN, DIP 분포를 보였으나 DSi(약 7 μM)는 높게 나타났다. 이는 낙동강하구역의 경우 무기 영양염이 낙동강을 통해 유입되어 세가지 영양염 모두 상대적으로 높게 나타났으나 진해만 내부의 경우 이시기에 패류독소가 발생하였음을 고려하면, 와편모조류가 우점종이 되며 DSi 를 소비하는 규조류의 생장이 저해되어 DSi 가 소비되지 않았음을 알 수 있다(Fig. 9 and Fig. 10).

THAA 의 농도는 145-859 nM(평균 364±143 nM)로 나타났으며 수평 및 수직적 분포로 보았을 때, 만 내부에서 외부로 갈수록 감소하는 거동을 보였다. 만 내부에서는 502±189 nM 로 가장 높은 값을 보였으며, 만 외부인 조사 정점 B (red ○)와 낙동강하구역인 C (green △)에서는 각 356±122, 265±98 nM 로 낮게 나타났다. L-AA 는 48-541 nM(평균 144±79 nM), D-AA 는 13-36 nM(평균 22±5 nM)의 범위로 나타났으며 A 정점에서의 L-AA 를 제외하고 L-AA 와 D-AA 또한 만 내부에서 외부로 갈수록 감소하는 분포를 보였다. 대체로 표층의 농도가 높게 나타났으며 수심이 깊을수록 농도는 낮게 분포하였다.(Fig. 11 and Fig. 12).

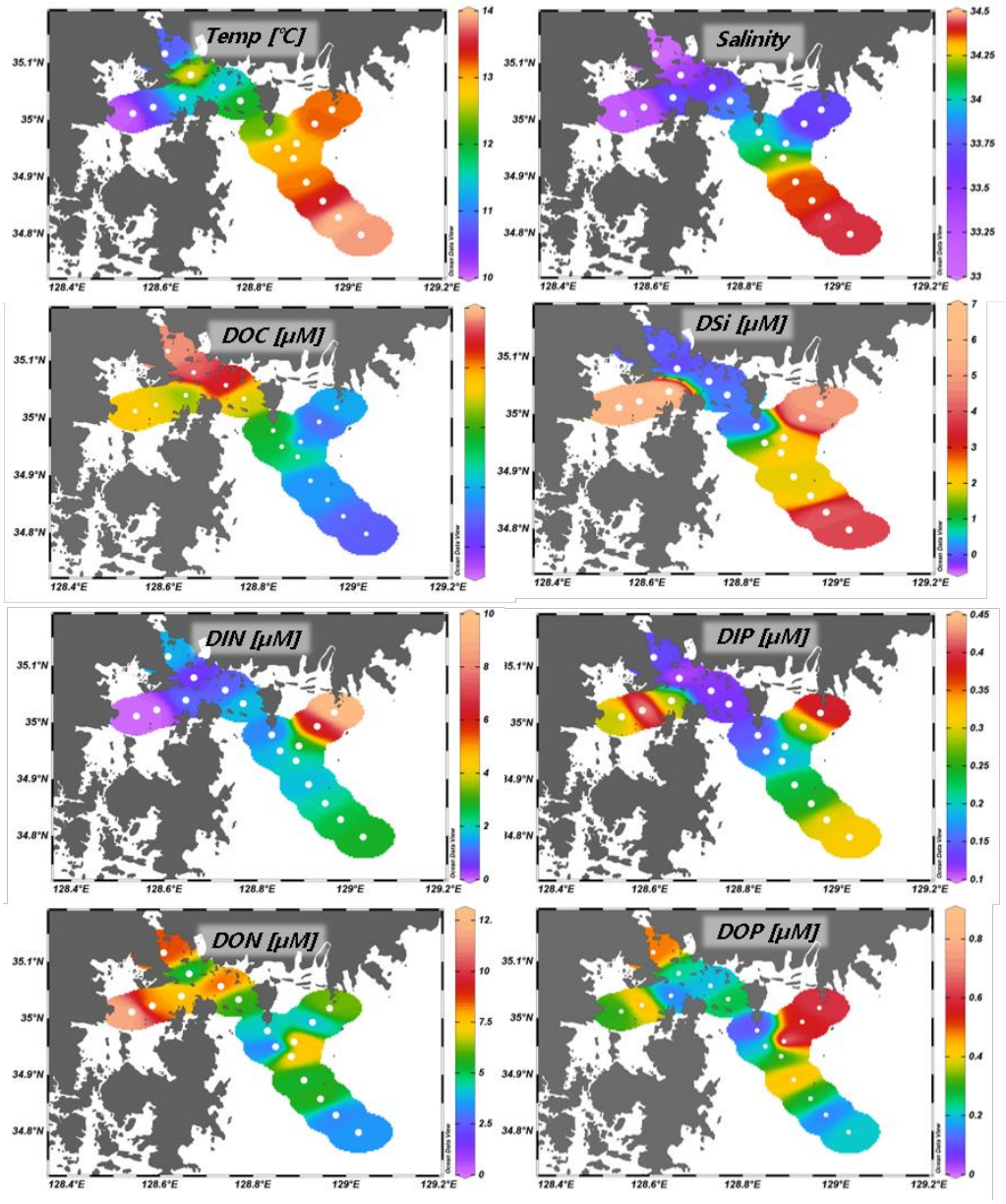

Figure 9. Horizontal distributions of temperature, salinity, dissolved organic carbon, dissolved silicate, dissolved inorganic nitrogen, dissolved inorganic phosphorus, dissolved organic nitrogen and dissolved organic phosphorus in surface water of Jinhae Bay, Korea.

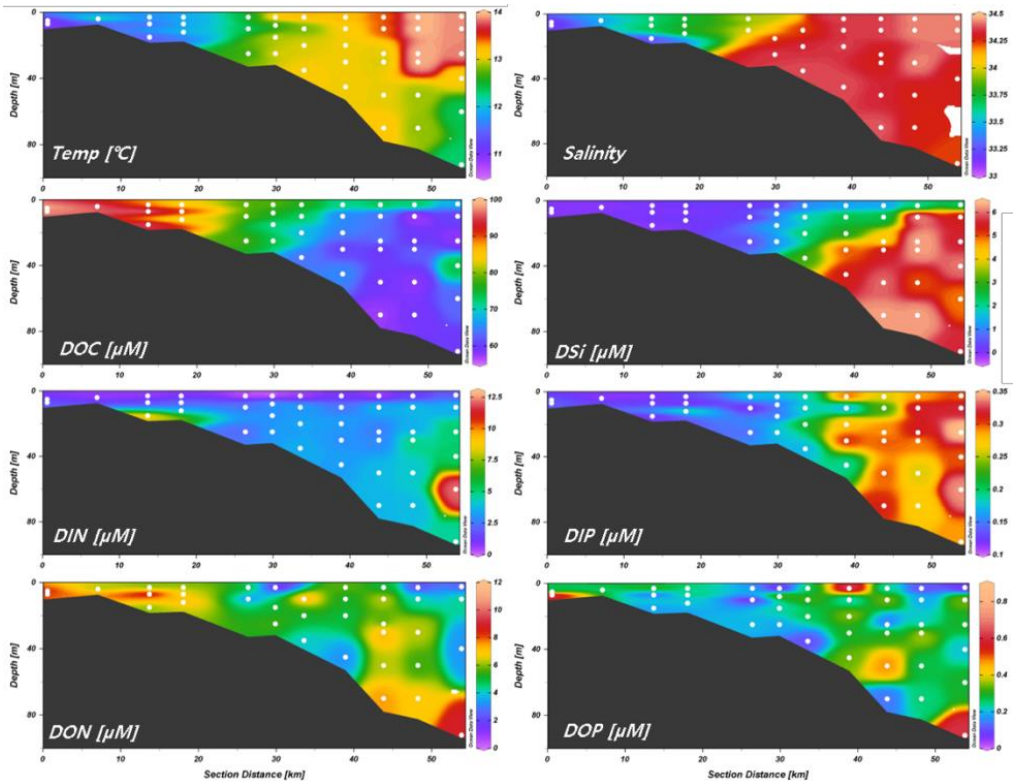

Figure 10. Vertical distributions of temperature, salinity, dissolved organic carbon, dissolved silicate, dissolved inorganic nitrogen, dissolved inorganic phosphorus, dissolved organic nitrogen and dissolved organic phosphorus in B line of Jinhae Bay, Korea.

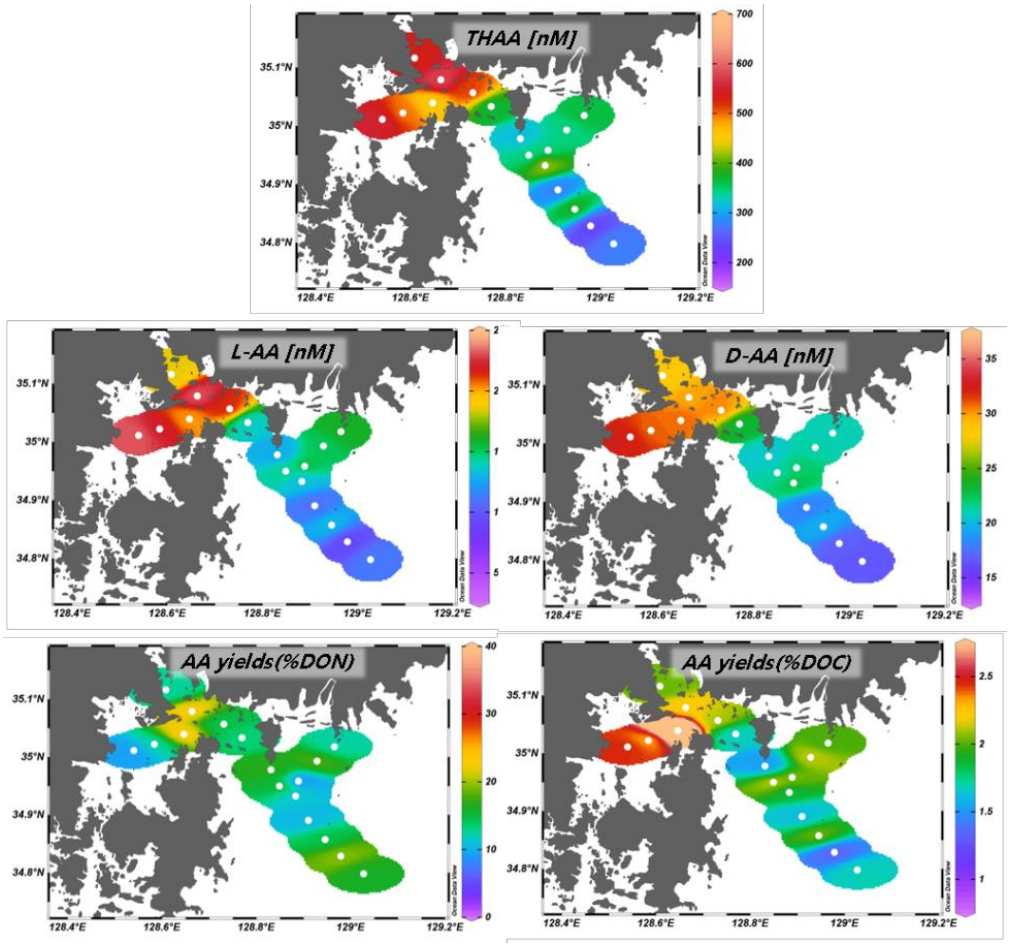

Figure 11. Horizontal distributions of total hydrolyzable amino acids, D- amino acids, L- amino acids, amino acid yields (%DON) and amino acid yields (%DOC) in surface water of Jinhae Bay, Korea.

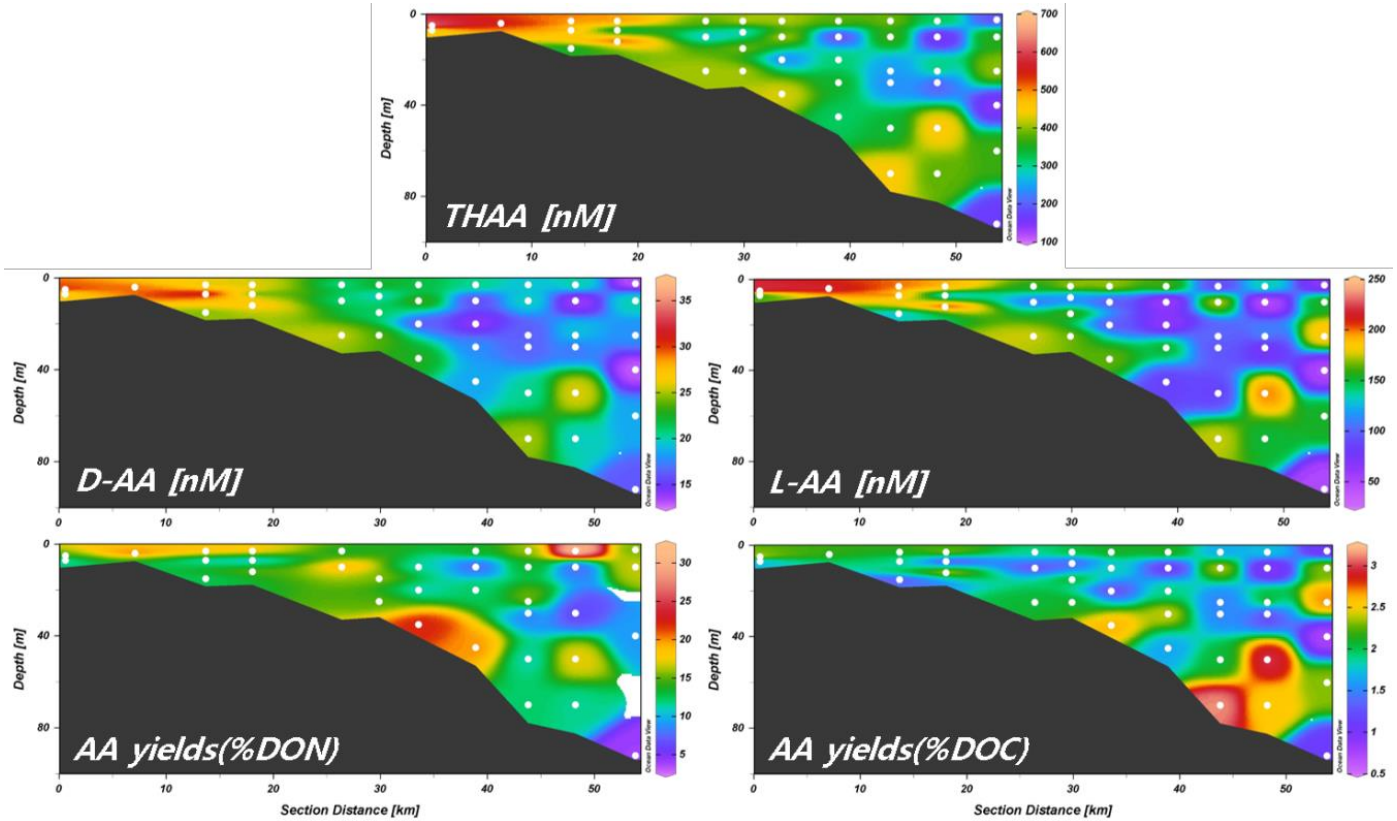

Figure 12. Vertical distributions of total hydrolyzable amino acids, D−amino acids, L− amino acids, amino acid yields (%DON) and amino acid yields (%DOC) in B line of Jinhae Bay, Korea

3.2 영양염, 용존 유기탄소 및 아미노산의 생지화학적 특성

진해만에 유입되는 마산만 저염수의 DIN 은 206.8, DIP 는 4.7 μM (freshwater data: Lee et al., 2009)로 진해만 내부 수괴에 큰 영향을 줄 것으로 보인다. 이를 저염수의 end-member 로 사용한 보외법(extrapolation)을 통해 생물에 의한 영향을 배제하고 물리적으로 섞였을 경우를 나타내는 보존 혼합선(conservative mixing line, pink --)을 그려 현장조사를 통해 얻은 실제 진해만내 영양염의 농도분포와 비교하고자 하였다. 그 결과 혼합 선보다 측정값이 매우 낮게 나타났으며, 만 내에서 DIN 이 생물의 활동으로 제거되었음을 알 수 있다(Fig. 13). N/P 비는 DIN/DIP 13±12 로 red-field ratio C:N:P=106:16:1 보다 낮게 나타나 인이 아닌 질소가 제한 영양염으로 작용할 것으로 보인다(Redfield et al., 1963). DON 과 DOP 의 경우 6±2, 0.3±0.2 μM 로 전체 유기 영양염에서 각각 54, 69%(DTN 은 9±2 μM, DTP 는 0.5±0.2 μM)를 차지하였다. 용존규소(DSi)의 0-8.1 μM (평균 3.6±2.5 μM) 의 범위로 다른 무기 영양염과 마찬가지로 만 안쪽(2.8 μM)에서 고갈되었다. 용존영양염의 비율은 다음과 같이 DON/DOP 은 평균 32±47, DOC/DON 은 평균 12±3 으로 나타났다. 유기물의 합성으로 DIN 이 고갈되고 대부분의 질소

영양염은 유기 형태로 존재하는 것으로 보인다. 따라서 무기 영양염이 대부분 고갈되고 유기 영양염이 생물생산에 주요 에너지공급원인 이 해역에서는 와편모조류가 규조류와 비교해 생장하기에 우세할 것으로 보인다(Milliman, Xie Qinchun, and Yang Zuosheng, 1984; Keafer, Churchill, and Anderson, 2005; Kwon et al., 2013; Kwon et al., 2020).

DOM 의 C/N 비는 외양 표층에서 외양 심층, 연안, 기수역, 그리고 강의 순으로 큰 값을 가지며, 육지 기원 용존 유기물(terrestrial OM)은 12-400, 식물플랑크톤(phytoplankton)은 6-8, 박테리아(bacteria)는 4-6 의 값을 갖는 것으로 알려져 있다(Ertel et al., 2004; Lamb et al., 2006). 본 연구 해역의 경우 5-20(평균 12±3)으로 이전 연안에서 이루어진 연구의 결과보다(coastal ocean;18)보다 낮고 넓은 범위에서 나타났으며 해양 생산 및 육지로부터 공급된 DOM 이 모두 존재하며 섞이는 것으로 보인다(Fig. 13).

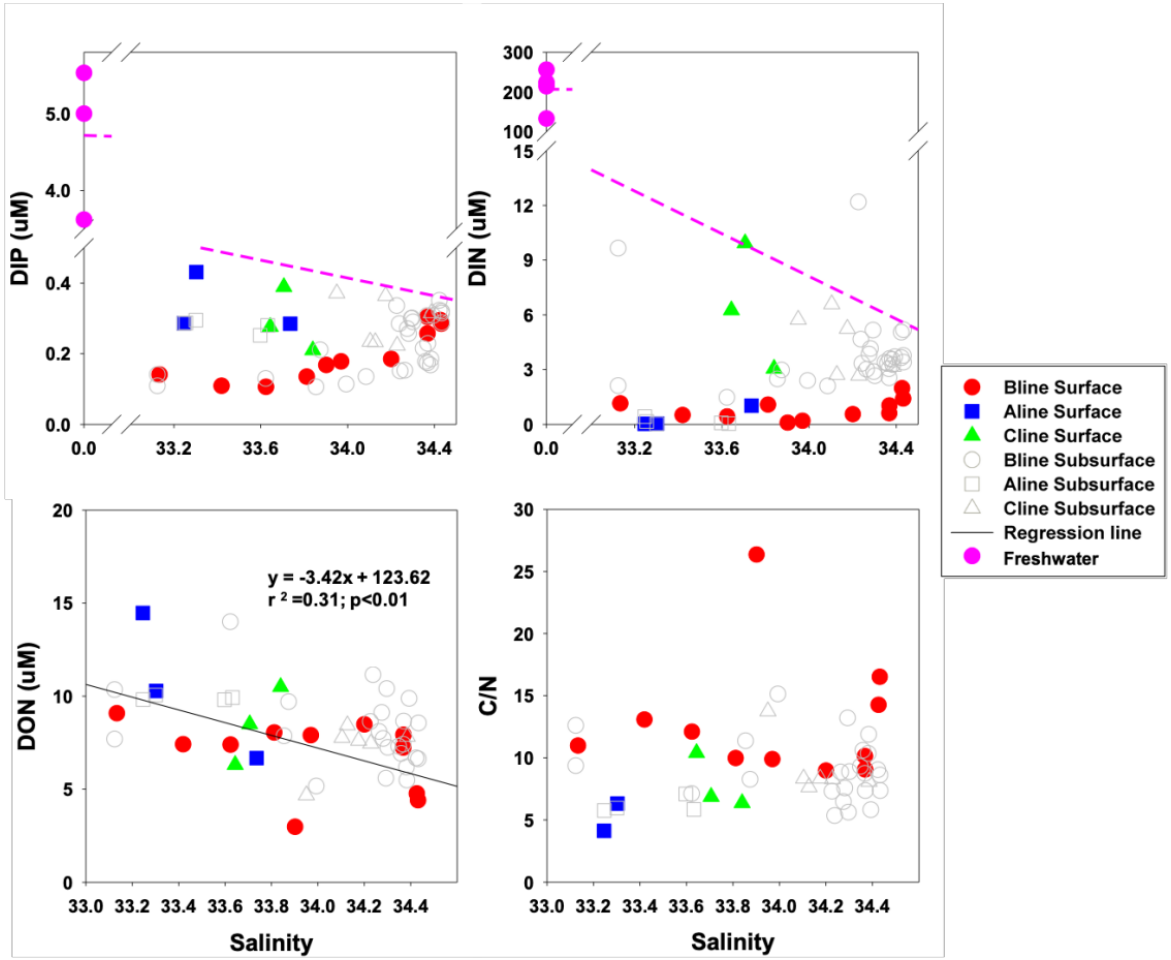

Figure 13. Concentrations of dissolved inorganic phosphorus, dissolved inorganic nitrogen, dissolved organic nitrogen and ratio of dissolved organic carbon and dissolved organic nitrogen.

본 연구 지역에서의 염분에 따른 아미노산의 거동을 살펴보았다. 표층의 경우, 생물 활동에 반응도가 낮은 D-AA 뿐만 아니라, 반응도가 높은 L-AA 는 모두 염분이 증가함에 따라 감소하는 보존적인 거동을 보였다. 정점별로 살펴보았을 때, 진해만 내부 정점에서는 생물 생산의 영향으로 산발적인 분포를 나타내는 것으로 추측된다. 그에 반하여 정점 B 와 C 의 진해만 외부의 경우 염분이 증가함에 따라 농도가 감소하는 보존적인 거동을 보이며, 특히 낙동강하구역인 정점 C 의 경우 L-AA 가 큰 기울기를 보이며 빠르게 감소하였다. D/L 비를 살펴보면 박테리아와 같은 미생물 군집의 분해에 의해 아표층에서 표층에 비하여 진해만 외부 해역에서 유입되는 해수와 비슷한 수준으로 높은 D/L 비를 보였다. 표층에서는 만 내부에서 외부로 갈수록 염분이 증가함에 따라 감소하는 전체적인 아미노산의 보존적인 거동은 생물의 생산 및 소비 활동보다 물리적인 수송에 의하여 결정되어 나타나는 것으로 보인다 (Fig. 14)

연안에서의 아미노산의 분포가 생물에 의한 소비로 아미노산이 거의 고갈된 담수와 활발한 생물생산으로 높은 농도의 아미노산을 가지는 해수가 혼합되어 분포가 결정된 Garz□n-Cardona, et al., 2019 와 달리, 본 연구 지역은 반폐쇄성지형의 특징과 육지로부터 공급된 영양염으로 매년 부영양화가 발생하는 지역이다. Chung et al., 2000 에 의하면 대규모 하천이 없는

진해만의 내만으로 진해만 해수의 농도보다 높은 농도의 용존 무기 영양염(질산염>174 μM, 규산염>262 μM)이 해저 지하수(SGD, submarine groundwater discharge)를 통해 공급되고, 이는 하천을 통한 공급량보다 높으며 중요한 영양염의 공급원으로 작용할 수 있음을 밝혔다. 따라서, 만 내부에서의 상대적으로 높은 농도의 THAAs(THAA, L-AA and D-AA)는 담수를 통한 높은 농도의 영양염의 유입으로 만 내부 저염수에서 해수 중 생물생산으로 생성되었을 가능성을 보인다.

진해만에 인접해있는 육지에는 두 곳의 하수처리시설(덕동 하수처리장과 봉곡곡안 하수처리장)이 운영되고 있다. 질산화-탈질산화 처리된 폐수의 유출액(Nitrified-denitrified wastewater effluents)에 존재하는 유기 질소의 대부분은 DON 이며, 이중 DFAA 와 DCAA 가 가장 많은 부분을 차지하는 것으로 알려져 있다. 보통 폐수에서 유래된 용존 유기 질소(wastewater-derived DON)에서 10-20% 이하는 복합 아미노산(combined amino acids; CAA)가 차지하고 있다(Pehlivanoglu-Mantas and Sedlak, 2008).

본 해역으로 공급되는 강물(담수)의 영향을 보고자 낙동강 시료(n=2)와 가장 염분이 높은 정점(line B 11)의 분석 결과 값을 end-member 로 하여 염분에 따른 거동을 살펴보았다. 본 연구 해역에서의 측정값은 담수(Nakdong river, Korea; NDR)와 해수의 혼합 선(conservative mixing line, pink --)에 비하여 THAA, L-AA 와 D-AA 농도 모두 높은 값을 보였으며, D/L 비는

낮은 값을 나타냈다. 즉, 진해만에 존재하는 아미노산은 육지로부터 기원한 아미노산의 강을 통한 유입 외에 비교적 낮은 D/L 비를 가진 유기물이 다른 공급원으로 발생함이 추론된다(Fig. 14).

진해만 내에서 강의 아미노산보다 labile 하고 높은 농도의 아미노산이 공급됨에는 위와 같은 이유로 다음과 같이 두 가지의 가능성이 존재한다.

(1)저염수에서의 현장 생물 생산(in-situ production).

(2)하수도 처리시설에서 배출되는 폐수의 유입.

이전에 이루어진 bioavailability 에 대한 연구는 유기물의 공급이 자생기원으로 한정적이고 체류 시간이 긴 환경에서 진행되었다. 이전 연구 결과와 본 연구의 결과를 비교하고 아미노산의 기원을 추정하기 위해 THAA, L-AA, D-AA 의 농도 그리고 각 아미노산의 측정 결과를 비교하였다.

각 아미노산의 THAA 에 대한 mole %를 살펴본 결과, Gly 이 각 25% 정도를 차지하며 가장 높은 분율을 차지하였으며, Ala 가 약 22%로 두번째로 높게 나타났다. 그 뒤로 Glu, Asp, Ser, Ile, Thr, Val, Leu, Phe, Tyr 의 순으로 높게 나타났다. 이는 이전 연구(Kaiser and

Benner, 2009)에서 측정된 해수 (HOT and BATS)의 아미노산 mole% 패턴과 비슷한 경향성을 보였다(Fig. 15).

아미노산은 미생물 군집의 활동과 밀접하게 연관되어 있다(Zhang et al., 2016). DCAA 에 해당하는 D-AA 는 박테리아의 세포벽의 구성성분인 peptidoglycan 으로부터 공급되고, DFAA 에 해당하는 D-AA 는 대부분 고세균(archaea)으로부터 공급된다. 해양환경에서 D-Asp 와 D-Ser 은 대부분 시간이 지남에 따른 라세미화에 기인하며, D-Ala 과 D-Glu 의 대부분은 peptidoglycan 에 기인하는 것으로 연구되었다. D-Ser 의 경우 peptidoglycan 에는 존재하지 않으나 고세균에는 존재하며, 상당한 양이 인간의 urine 에서 발견되었다(Huang et al., 1998; Jones et al., 2005; Zhang et al., 2016).

이에 따라, 아미노산 중 많은 분율을 차지하는 아미노산 중 키랄성을 가지는 Asx, Glx, Ser 과 Ala 의 L 및 D 형 이성질체의 농도를 측정하여 유기질소의 특성을 파악하고자 하였다. D-Ser 을 제외한 L 및 D 형 이성질체의 농도는 염분에 대하여 보존적으로 감소하는 경향을 보였다. 특히, 표층의 L-Ser 의 경우 상관관계도가 0.73 으로 염분에 대해 매우 보존적인 거동을 보였으나 D-Ser 의 경우 3 nM 이하로 존재하며 매우 산발적인 분포를 보였다. 이는 고세균으로부터 발생한 것으로 보인다. 나머지 아미노산의 수직적 분포 특징으로는, 아표층의 경우 생물의 소비로 인해 표층에서의 L-AA 보다 낮은 농도를 보였다. 반면, bioavailability 가 비교적 낮은

D-AA 중 대부분 라세미화에 기인하는 것으로 알려진 D-Asx 의 경우 표층 및 아표층의 농도는 큰 차이를 보이지 않았으며, peptidoglycan 에 기인하는 D-Ala 와 D-Glx 의 경우 만 내부에서 아표층에서의 농도가 낮게 나타났다. 본 해역에서는 아미노산의 분포를 결정함에 있어 라세미화보다 미생물군집의 영향이 더 크다는 것을 보인다(Fig. 15).

전 세계의 다른 해역 및 담수, 그리고 D-AA 의 주요 공급원인 고세균과 박테리아 세포벽의 구성성분인 peptidoglycan 이 가지는 주요
아미노산(Ala, Asx, Glx and Ser) 의 D/L 비 분포 양상과 본 연구 해역의 양상을 비교하여 진해만에서의 아미노산의 특성과 기원을 알아보고자 하였다. 이전 연구에 의하면 peptidoglycan 은 Ala, Asx, Glx, 의 순서로 D/L 비가 높은 값을 보였으며 D-
Ser 은 관측되지 않았다. 고세균의 세포 성분의 D/L 비는 이와 다르게 Asx 가 가장 높으며, Glx 와 Ser 이 비슷하고 마지막으로 Ala 가 가장 낮았으며 유리 아미노산의 경우 Ser 의 D/L 비가 상당히 높았다. 또한, peptidoglycan 으로부터 기인한 분자는 잘 분해되지 않기 때문에 외부의 유입이 없고 체류시간이 긴 환경의 경우 D-AA 의 분포가 특히 peptidoglycan 과 비슷하게 나타났음을 확인하였다(Mc

Calthy et al., 1998; Nagata et al., 1999; Amon et al., 2001; Dittmar et al., 2001; P□rez, Pausz, and Herndl, 2003; Jones et al., 2005).

본 연구 해역의 D/L 비 분포는 Ala, Asx 의 경우 외해보다 상당히 낮은 값을 보였으며, 이전 연구의 강과 연안에서의 결과와 비슷한 양상으로 peptidoglycan 보다 고세균, fresh DOM 과 가까운 분포를 보였다. 이는 본 연구 해역의 유기물이 열화(degrad-ation)를 오래 거치지 않고, labile 한 경향성을 나타내며 박테리아의 영향이 지배적이지 않음을 보인다(Fig. 17).

다음으로 본 연구 결과를 포함하여 담수부터 연안 그리고 빈 영양해역인 외양까지, 전 세계의 THAA, L-AA, D-AA 그리고 D/L 비를 비교하고자 하였다(Kaiser and Benner, 2009; Jones et al., 2005; Kim et al., 2017). 그 결과, THAA, L-AA 그리고 D-AA 의 농도는 담수에서 외양 해수로 갈수록 감소, D/L 비는 증가하는 양상을 보였다. THAA 의 경우 담수가 연안 해수의 값보다 5-30 배가 높고, 연안 해수는 외양 해수의 2-8 배 높게 나타났다. L-AA 의 경우 담수가 연안 해수의 값보다 7-20 배, 연안 해수가 외양 해수의 2-5 배 높다. D-AA 의 경우 이보다 작게, 담수가 연안 해수의 3-12 배, 연안 해수가 외양 해수의 농도와 비슷하거나 최대 2 배 높게 나타났다. D/L 비의 경우 외양

해수의 값이 연안 해수보다 약 4 배 높고, 담수보다 약 10 배 높다(Fig. 18).

지금까지 이루어진 연구와 본 연구의 THAA 와 D/L 비 간의 상관관계를 보고자 하였다(Kaiser and Benner, 2009; Kim et al., 2017;
Jones et al., 2005). 그 결과, D/L 비가 증가할수록, THAA 는 감소하는 음의 상관관계를 보였다. 이는 다른 담수 및 해양 환경에서 관측된 이전의 결과와 본 연구의 결과를 비교하였을 때, 모두 같은 거동을 보였다. 이를 통하여 생물생산력이 높아 THAA 의 공급의 양이 많은 환경의 유기물의 경우 쉽게 분해되는(labile) 특성을 가지며 생물생산력이 낮은 해역의 유기물의 경우 난분해성(refractory)을 보이며, 박테리아 및 미생물 군집(microbial community)에 의한 재생산의 영향이 크다는 것을 추론해 낼 수 있다(Fig. 19).

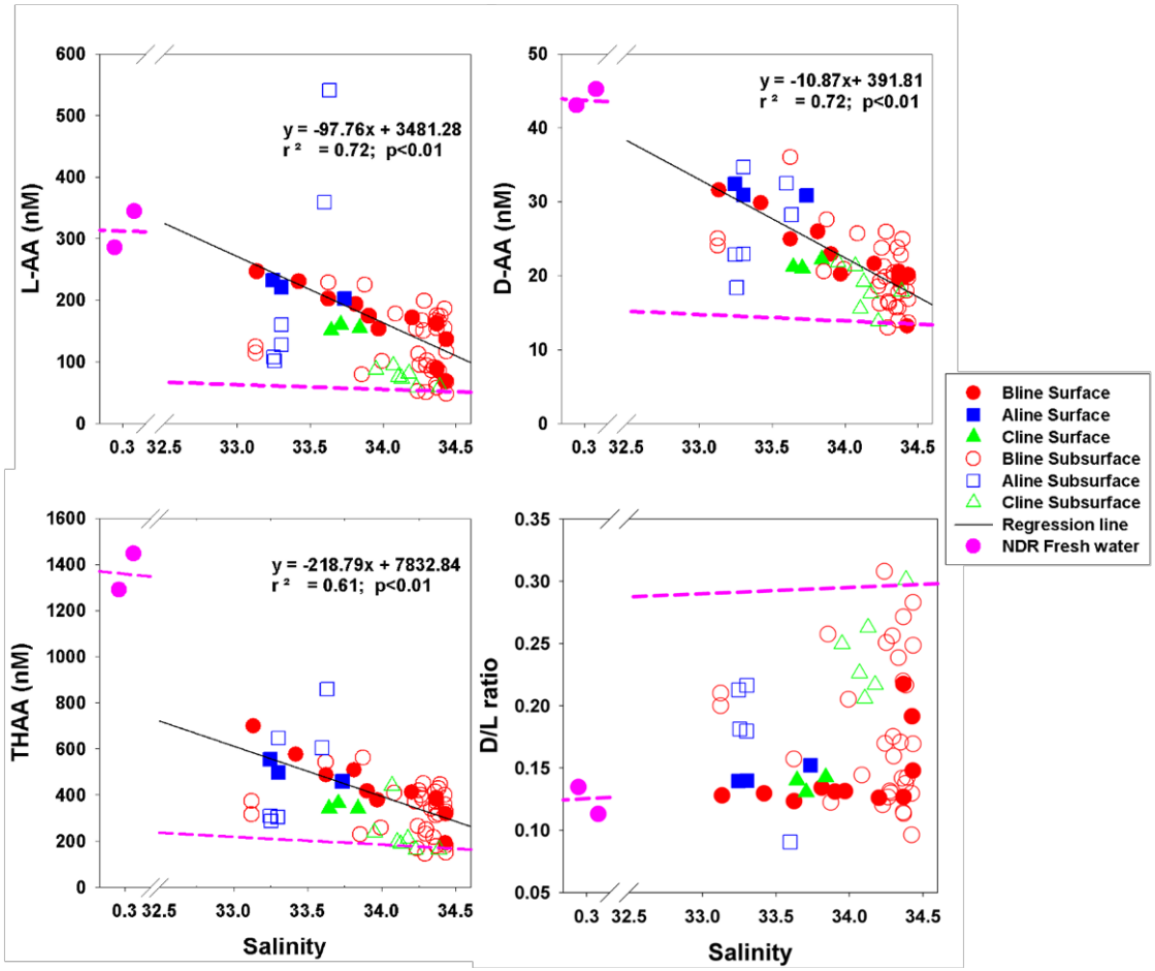

Figure 14. D− amino acid, L− amino acid, D/L ratio and total hydrolyzable amino acids.

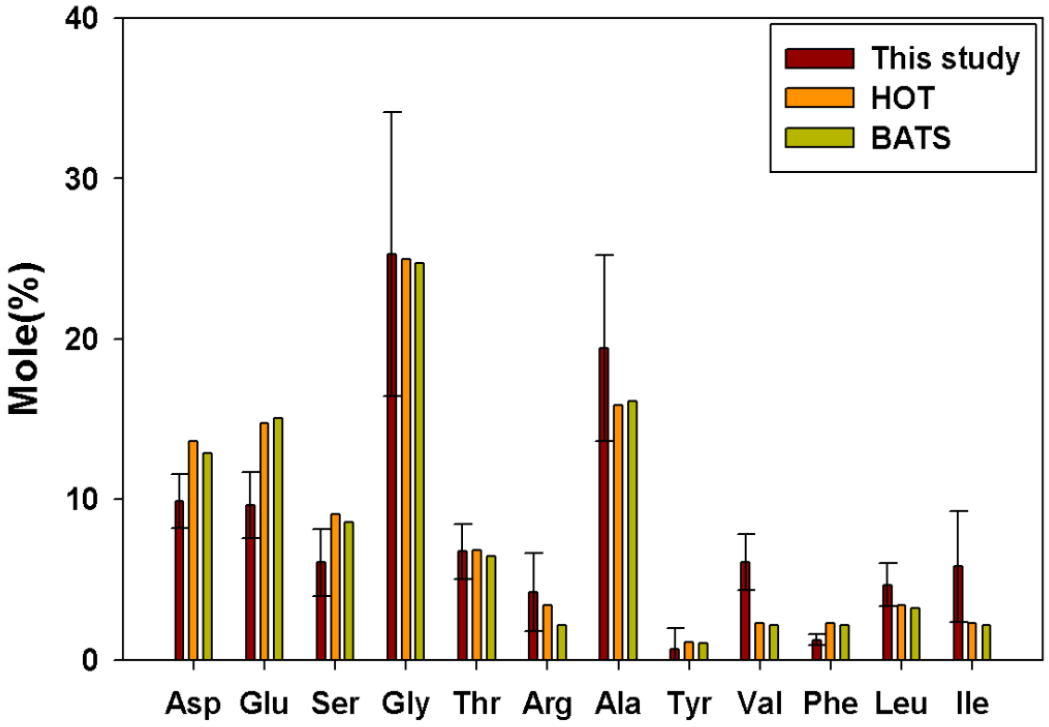

Figure 15. Mole percentage of the individual amino acids.

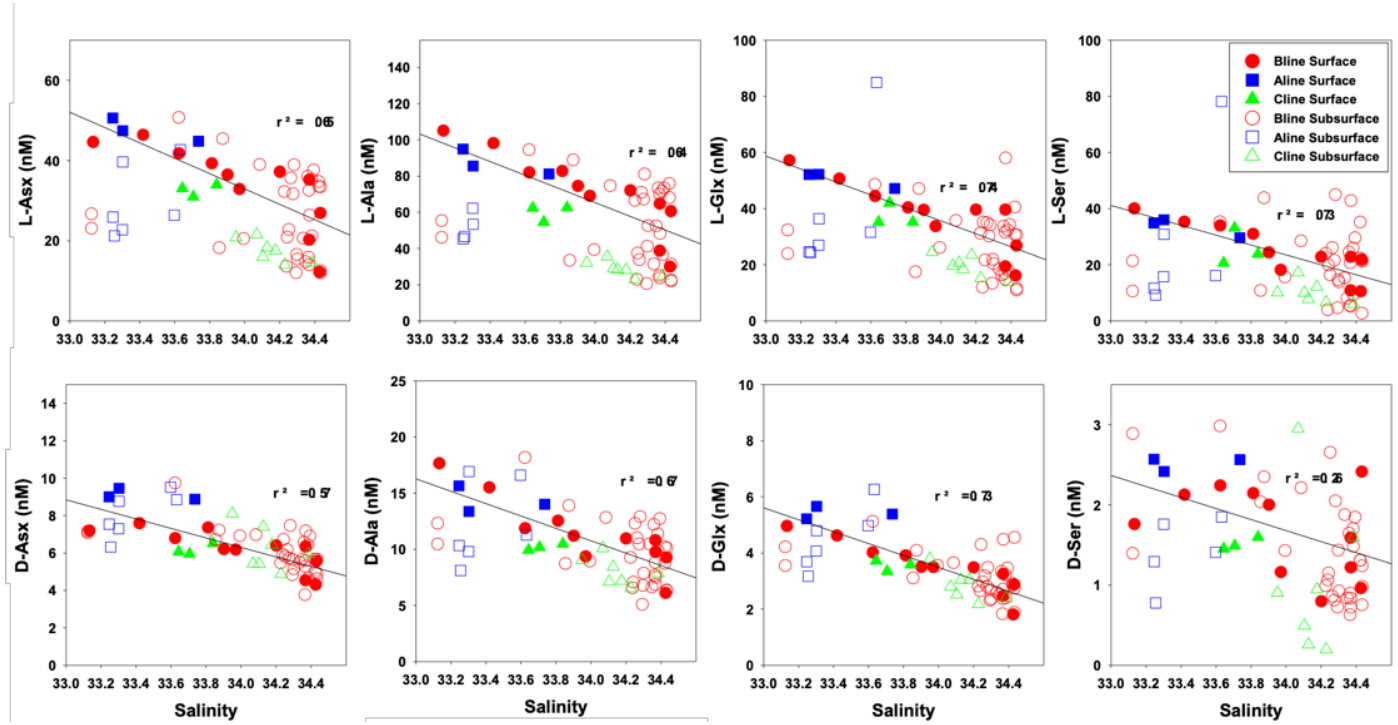

Figure 16. Each L and D- amino acids concentration of Asx (aspartic acid + asparagine), alanine, Glx (glutamic acid + glutamine) and serine in Jinhae Bay, Korea.

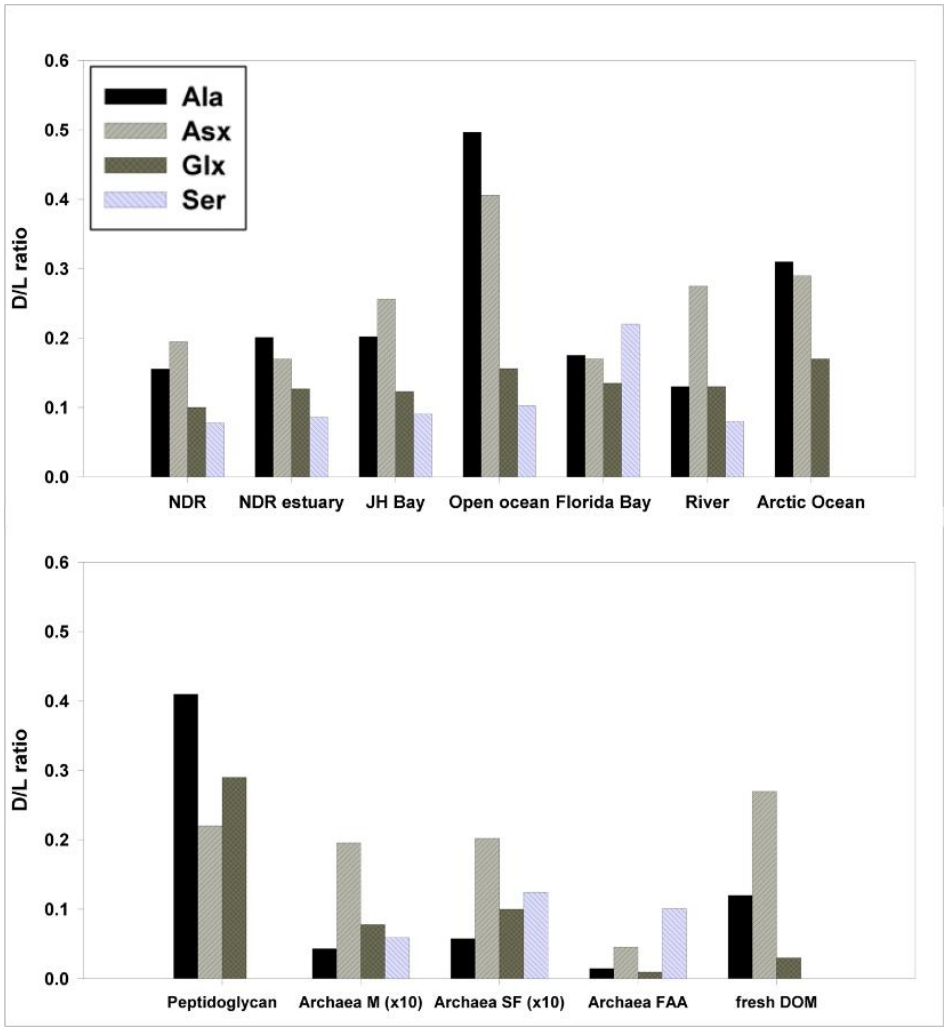

Figure 17. D/L ratio of alanine, Asx (aspartic acid + asparagine), Glx (glutamic acid + glutamine) and serine in peptidoglycan, archaea, ocean and fresh water. Open ocean, Florida Bay (Jones et al., 2005), Arctic ocean (Fitznar, 1999), fresh DOM (algal derived DOM from ice sample (Dittmar et al., 2001)), UDOM from rivers (samples from rivers in Siberia (Dittmar et a., 2001)), peptidoglycan (isolated from cells of *Synechoccus bacillaris* (McCalthy et al., 1998)), Archaea M (the membrane), Archaea SF (soluble protein), Archaea FAA (free amino acid) fractions of archaeal species *Pyrobalaculum islandicum*, *Met- hanosrcina barkeri* and *Halobacterium* (mean of values for the three organisms (Nagata et al., 1999)). Archaea M and Archaea SF values have been multiplied by 10.

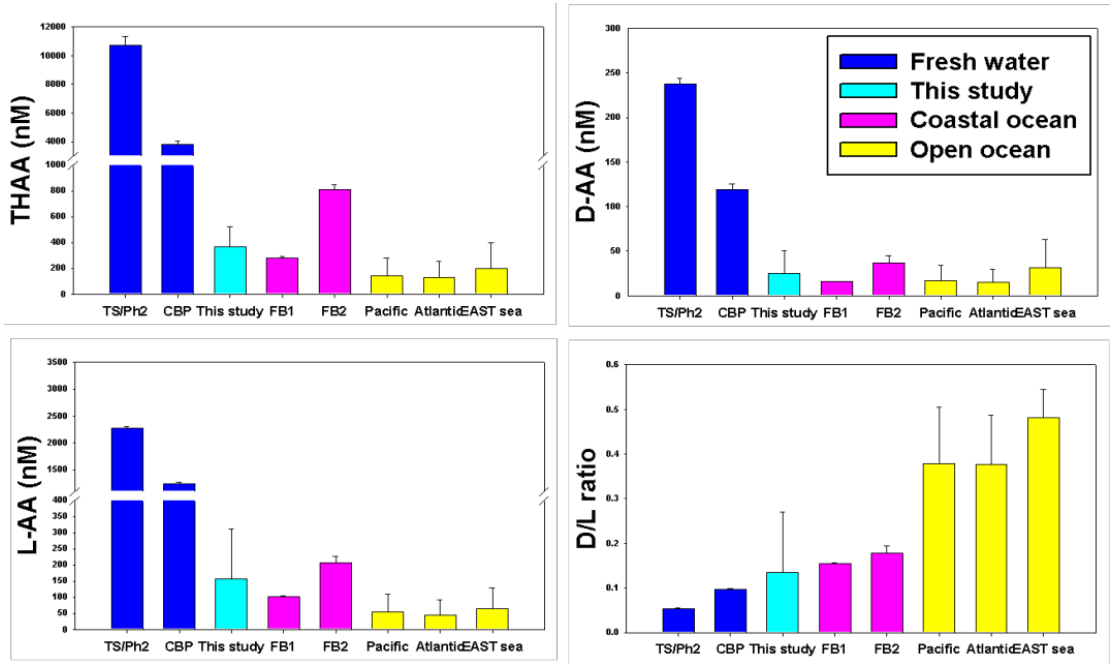

Figure 18. Total hydrolyzable amino acids, L- amino acids, D- amino acids and D/L ratio in the ocean and fresh water.

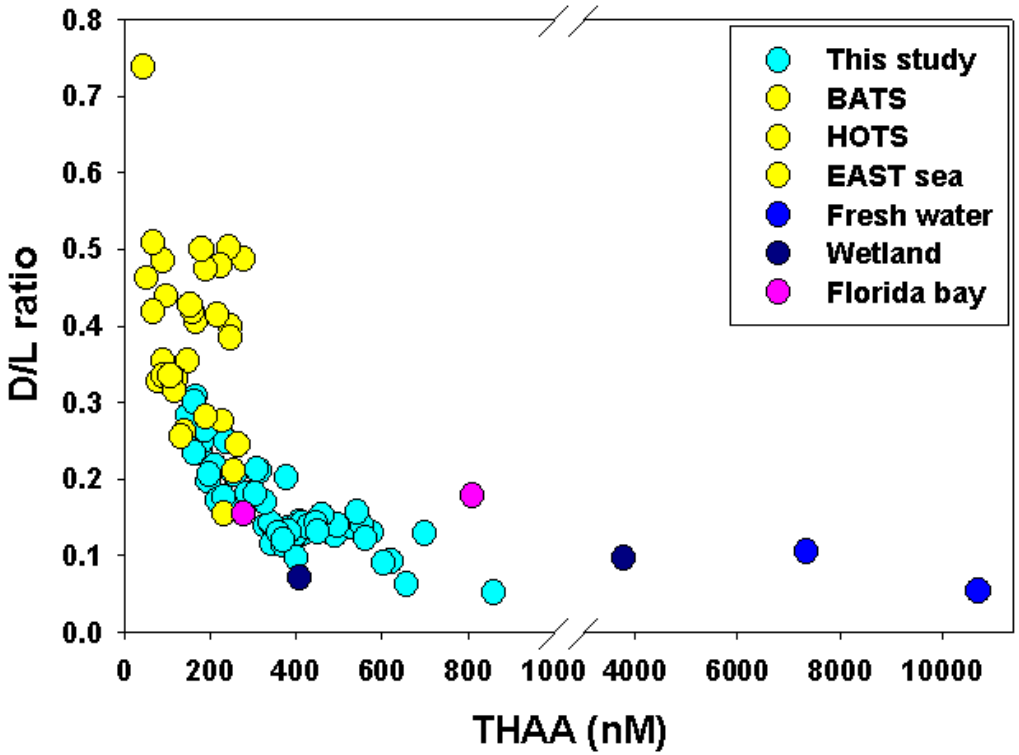

Figure 19. Relationship between total hydrolyzable amino acids and D/L ratio in the ocean and fresh water.

분해지수(DI, degradation index)는 유기물이 분해됨에 따라 아미노산의 성분별 분포가 변화하는 특성에 착안하여 만들어진 상대적인 값으로 큰 음수의 값을 가질수록 분해가 상대적으로 많이 진행되었음을 나타내며, 반대로 큰 양수의 값을 가질수록 분해과정을 덜 거쳤음을 보여주는 지표이다. 퇴적물에 포함된 유기물을 기반으로 만들어진 지표이나, 상대적인 값으로 전 세계 해수에 포함된 유기물의 분해지수를 나타내는 지표로도 널리 쓰이고 있다. Phytoplankton, bacteria 는 −2.2 에서 1.5, algal DOM 은 −0.4 에서 −0.8, fresh DOM 은 −0.9 의 값을 가지는 것으로 실험실 실험을 통해 나타났다(McCalthy et al., 1998; Dauwe et al., 1999; Fitznar et al., 1999; Amon et al., 2001; P□rez, Pausz, and Hlerndl, 2003; Davis and Benner, 2005). 본 연구에서 DI 는 Dauwe et al., 1999 에 따라 계산하였다(Equation 1).

DI 는 −2.3 에서 1.6 의 범위로 조류성 용존 유기물(Algal DOM)의 DI 범위보다 넓게 나타났다. 평균은 −0.6 으로 음의 값을 보였으며 동해(−2.3), 태평양 표층(−1.4)보다 크고 극지에서 유래된 육성 유기물(Arctic−derived terrigenous DOM)의 영향(Benner et al., 2005)을 받아 높은 DI 값을 보이는 대서양 표층보다 낮은 값이다(Kaiser and Benner., 2009; Kim et al., 2017). Phytoplankton, bacteria 그리고 algal DOM 과 비슷한 범위를 가지는 것으로 보아 아미노산이 이들로부터 기인했을

가능성을 확인할 수 있으며, 평균값이 fresh DOM 보다 높은 것으로 보아 어느 정도 labile 함을 알 수 있다(Fig. 20).

$$DI = \sum_i \left[\frac{var_i - AVR_{var_i}}{STD_{var_i}} \right] \cdot fac.coef_i$$

Equation 1. Degradation index.

Amino acids yields(% DOC and % DON)는 각각 아미노산을 DOC, DON 농도로 표준화한 값으로 DOC, DON 에서의 아미노산이 차지하는 분율을 나타내며 외양에서는 생물생산에 사용 가능한 유기물의 상대적인 양을 의미하며, 값이 클수록 bioavailability 가 높음을 뜻한다. Amino acid yields 는 용존유기물의 속성 작용(diagenesis)의 초기 과정을 설명하기에 좋다고 알려져 있으며, Amino acid yields(% DOC)의 값이 0.7%(심층 해수의 refractory DOM) 이상일 경우 생물이 사용할 수 있는 유기물이 있다고 하며, 값이 1.1% 이상일 경우 생물에 대한 반응성이 있는 유기물이라고 한다(Davis and Benner, 2005; Kaiser and Benner, 2009). 본 연구에서 amino acid yields(% DOC and % DON)의 값은 아래의 식으로 계산하였다(Equation 2).

본 연구 해역에서의 % DOC 와 % DON 모두 외해의 값보다 크게 나타났으며 % DON 의 경우 외양이 평균 9%를 나타낸 것과 비교하여 평균 13±5%로 큰 값을 나타내었다(Davis and Benner, 2005; Kaiser and Benner., 2009; Zhang et al., 2015; Kim et al., 2017). 이는 본 연구 해역에서 DON 의 최대 20%는 THAAs 가 차지하며 유기 질소의 공급원으로 아미노산이 중요함을 알 수 있다(Fig. 21)

$$Amino\ acid\ yields\ (\%DOC\ or\ \%DON) = \frac{C\ or\ N\ in\ amino\ acids}{DOC\ or\ DON} \times 100(\%)$$

Equation 2. Amino acid yields.

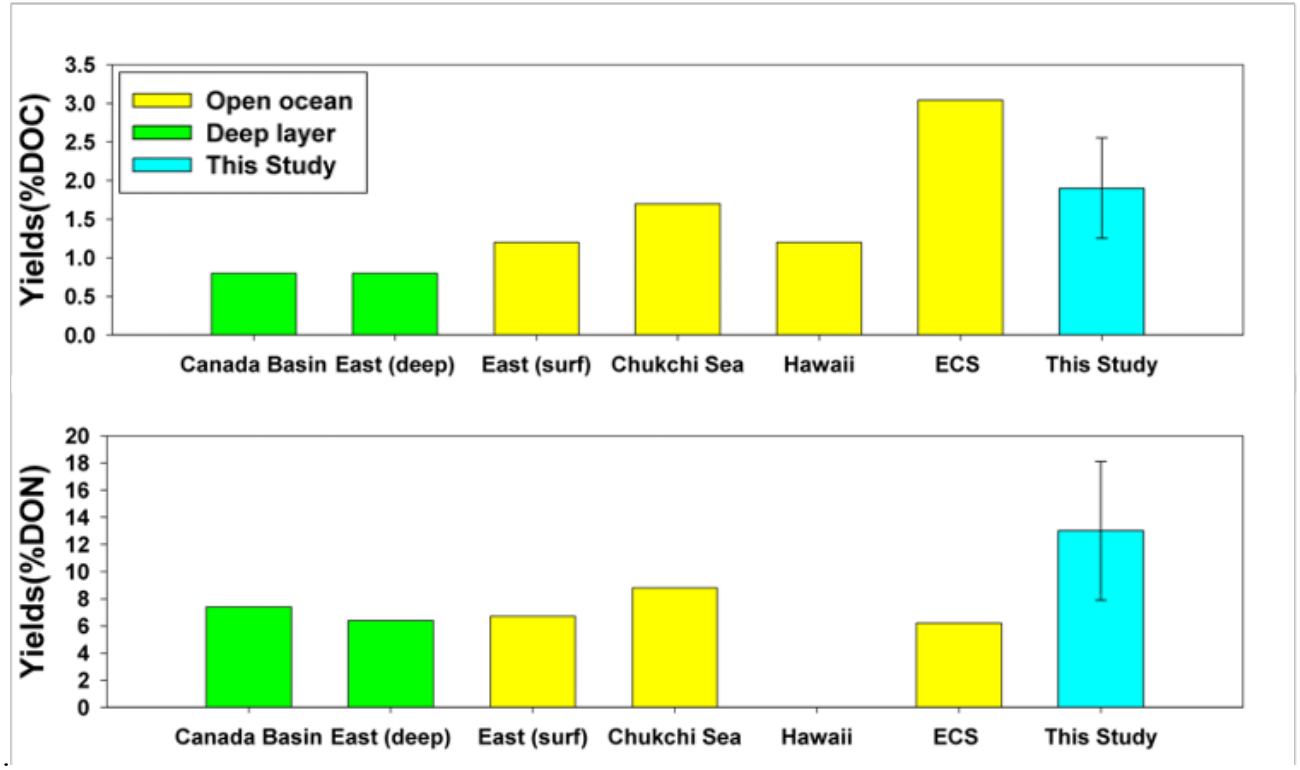

Figure 20. Amino acid yields (%DOC and %DON) in the ocean.

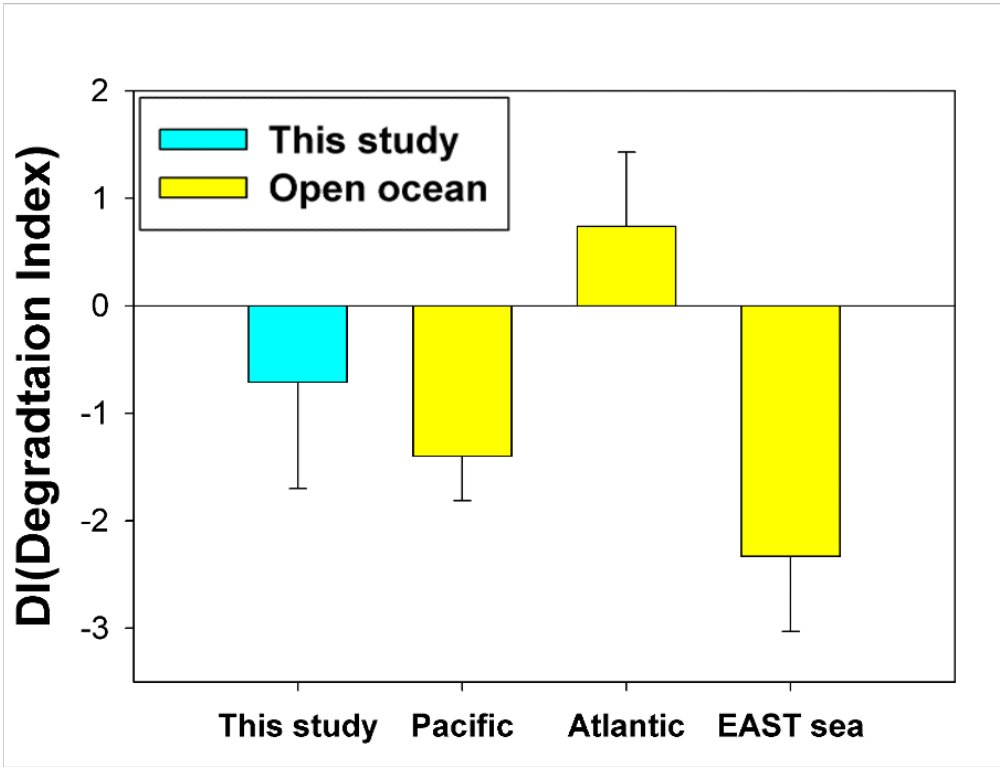

Figure 21. Degradation indices in the ocean.

제 4 장 결론

본 연구 해역은 유기 및 무기 영양염이 대부분 생물 생산에 쓰여 고갈된 상태로 아미노산은 DON 에서 큰 부분을 차지하며 생물 생산에 매우 중요한 유기물의 공급원이 될 가능성이 있으나, 생물 생산에 사용되지 않아 고갈되지 않았음을 보여준다. D-AA 의 경우 대부분 박테리아에서 기인하거나 빛 혹은 열에너지에 의한 라세미화를 통해 L-AA 로부터 발생함으로 상대적으로 반응성이 작고 보존적인 특성을 갖는 것으로 알려져 있다. 반대로, L-AA 의 경우 D-AA 보다 bioavailability 가 높고, 반응성이 크기 때문에 생물의 생산 및 소비 활동에 의해 분포가 결정되는 것으로 알려져 있다. 하지만, 본 연구지역에서는 상대적으로 반응도가 높은 L-AA 과 반응도가 낮은 D-AA 모두 염분이 증가함에 따라 진해만 외부의 해수와 섞이며 감소하며 보존적인 거동을 보였다. 저염수로부터 높은 농도의 labile-AA 가 공급되었고, 대양보다 빠른 해수의 교환 및 순환 속도로 인하여 생물 생산에 소비될 것으로 기대되는 아미노산이 생물 생산에 쓰이지 않고 물리적인 이류와 확산에 의해 분포가 결정된 것으로 보인다. 각 아미노산의 분포 특징을 살펴본 결과 외만의 mole % 분포와 대부분 일치하며 D/L 비의 분포는 fresh DOM 과 비슷한 경향성을 나타냈다. 이로

종합하여, 만 내부에서의 생물생산으로 아미노산이 상당 생성된 것으로 추론할 수 있다.

본 연구에서는 유기물의 공급원이 다양하고 생지화학적 메커니즘이 복잡한 진해만의 연안 환경에서 용존 영양염, 용존 유기탄소 그리고 용존 아미노산의 분포와 생지화학적특성을 파악하였으며, 다음과 같은 결론을 얻을 수 있었다.

(1) 용존 무기 영양염이 대부분 고갈된 환경으로 용존 유기 영양염이 생물생산력에 주요한 공급원으로 작용할 것으로 보인다.

(2) DOM 의 공급은 자생적 기원과 타지성 기원(allochthonous & autochthonous source)이 공존하는 환경이다.

(3) 큰 반응성을 가진 높은 농도의 THAAs 가 저염수에서의 생산으로부터 공급되었다.

(4) Bioavailable DON 은 연안에서 사용되지 않고 외해로 공급되어 외해의 기초생물생산력에 기여할 것으로 판단된다.

본 연구결과는 아미노산의 농도와 생체 지표를 이용하여 DON 의 기원과 bioavailability 를 추정 할 수 있음을 시사한다. 향후, 높은 반응성을 가진 DON 의 분포가 연안에서 생물의 분포에 어떠한 영향을 주는지에 대한 연구가 필요할 것으로 보인다.

참고 문헌

References

장선덕, 김차겸, and 이종섭.

1993. “진해만 조류의 현장관측 및 수리모형실험 TT - Field Observations and Hydraulic Model Experiments of Tidal Currents in Chinhae Bay.” 한국수산과학회지 26 (4): 346-52. http://kiss.kstudy.com/thesis/thesis-view.asp?g=kissmeta&m=exp&enc=F0B9B5F767F693DA9958FEE0123C0C45.

Amelung, W., and X. Zhang. 2001. “Determination of Amino Acid Enantiomers in Soils.” *Soil Biology and Biochemistry* 33 (4-5): 553-62. https://doi.org/10.1016/S0038-0717(00)00195-4.

Amelung, Wulf, and S. Brodowski. 2002. “In Vitro Quantification of Hydrolysis-Induced Racemization of Amino Acid Enantiomers in Environmental Samples Using Deuterium Labeling and Electron-Impact Ionization Mass Spectrometry.” *Analytical Chemistry* 74 (13): 3239-46. https://doi.org/10.1021/ac011022m.

Amon, Rainer M.W., Hans Peter Fitznar, and Ronald Benner. 2001. "Linkages among the Bioreactivity, Chemical Composition, and Diagenetic State of Marine Dissolved Organic Matter." *Limnology and Oceanography* 46 (2): 287-97. https://doi.org/10.4319/lo.2001.46.2.0287.

Bada, Jeffrey L., and Edward A. Hoopes. 1979. "Alanine Enantiomeric Ratio in the Combined Amino Acid Fraction in Seawater [8]." *Nature* 282 (5741): 822-23. https://doi.org/10.1038/282822a0.

Benner, Ronald, Patrick Louchouarn, and Rainer M.W. Amon. 2005. "Terrigenous Dissolved Organic Matter in the Arctic Ocean and Its Transport to Surface and Deep Waters of the North Atlantic." *Global Biogeochemical Cycles* 19 (2): 1-11. https://doi.org/10.1029/2004GB002398.

Chen, Yan, Gui Peng Yang, Qing Yan Xia, and Guan Wei Wu. 2016. "Enrichment and Characterization of Dissolved Organic Matter in the Surface Microlayer and Subsurface Water of the South Yellow Sea." *Marine Chemistry* 182: 1-13. https://doi.org/10.1016/j.marchem.2016.04.001.

Chung, Chong Soo, Gi Hoon Hong, Suk Hyun Kim, Young Il Kim, Duk Soo Moon, Jun Kun Park, Sun Choi, and Dong Beom Yang. 2000. "진해만 환경평가를 위한 해저지하수의 중요성." *Journal of the Korean Society for Marine Environmental Engineering* 3 (4): 23~36.

Cowie, Gregory L, and John I Hedgest. 1994. "Biochemical Indicators of Diagenetic Alteration in Natural Organic." *Nature* 369 (May): 489-92.

Dauwe, B., J. J. Middelburg, P. M.J. Herman, and C. H.R. Heip. 1999. "Linking Diagenetic Alteration of Amino Acids and Bulk Organic Matter Reactivity." *Limnology and Oceanography* 44 (7): 1809-14. https://doi.org/10.4319/lo.1999.44.7.1809.

Dauwe, Birgit, and Jack J. Middelburg. 1998. "Amino Acids and Hexosamines as Indicators of Organic Matter Degradation State in North Sea Sediments." *Limnology and Oceanography* 43 (5): 782-98. https://doi.org/10.4319/lo.1998.43.5.0782.

Davis, Jenny, and Ronald Benner. 2005. "Seasonal Trends in the Abundance, Composition and Bioavailability of Particulate and Dissolved Organic Matter in the Chukchi/Beaufort Seas and Western Canada Basin." *Deep-Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography* 52 (24-26): 3396-3410. https://doi.org/10.1016/j.dsr2.2005.09.006.

Dittmar, Thorsten, Hans Peter Fitznar, and Gerhard Kattner. 2001. "Origin and Biogeochemical Cycling of Organic Nitrogen in the Eastern Arctic Ocean as Evident from D- and L-Amino Acids." *Geochimica et Cosmochimica Acta* 65 (22): 4103-14. https://doi.org/10.1016/S0016-7037(01)00688-3.

Druffel, E. R.M., P. M. Williams, J. E. Bauer, and J. R. Ertel. 1992. "Cycling of Dissolved and Particulate Organic Matter in the Open Ocean." *Journal of Geophysical Research* 97 (C10). https://doi.org/10.1029/92jc01511.

Garz□n-Cardona, John E., Ana Mart□nez, Silvio Pantoja, Valeria Guinder, Boris Koch, Bernd Krock, Facundo Barrera, and Rub□n Lara. 2019. "Linking Optical and Chemical Signatures of Dissolved Organic Matter in the Southern Argentine Shelf: Distribution and Bioavailability." *Journal of Marine Systems* 195 (July 2018): 74-82. https://doi.org/10.1016/j.jmarsys.2019.03.010.

J ø rgensen, Niels O.G., Lars J. Tranvik, and Gry Mine Berg. 1999. "Occurrence and Bacterial Cycling of Dissolved Nitrogen in the Gulf of Riga, the Baltic Sea." *Marine Ecology Progress Series* 191: 1-18. https://doi.org/10.3354/meps191001.

Hansen, H P, and F Koroleff. 1999. "Determination of Nutrients." *Methods of Seawater Analysis*. Wiley Online Books. https://doi.org/https://doi.org/10.1002/9783527613984.ch10.

HUANG, Yong, Takashi NISHIKAWA, Kazuo SATOH, Tsutomu IWATA, Takeshi FUKUSHIMA, Tomofumi SANTA, Hiroshi HOMMA, and Kazuhiro IMAI. 1998. "Urinary Excretion of D-Serine in Human : Comparison of Different Ages and Species." *Biological & Pharmaceutical Bulletin* 21 (2): 156-62. https://doi.org/10.1248/bpb.21.156.

Hubberten, U., R. J. Lara, and G. Kattner. 1995. "Refractory Organic Compounds in Polar Waters: Relationship between Humic Substances and Amino Acids in the Arctic and Antarctic." *Journal of Marine Research* 53 (1): 137-49. https://doi.org/10.1357/0022240953213322.

Jang, Pung-Guk, Kyoungsoon Shin, Man Chang, and Dongseon Kim. 2011. "Spatial and Temporal Trends in Water Quality in Response to Sewage Discharge in Masan and Hangam Bays, Korea." *Journal of Coastal Research* 27 (6A): 144-55. https://doi.org/10.2112/JCOASTRES-D-11-00023.1.

Jones, Vera, Matthew J. Collins, Kirsty E.H. Penkman, Rudolf Jaffé, and George A. Wolff. 2005. "An Assessment of the Microbial Contribution to Aquatic Dissolved Organic Nitrogen Using Amino Acid Enantiomeric Ratios." *Organic Geochemistry* 36 (7): 1099-1107. https://doi.org/10.1016/j.orggeochem.2004.11.008.

Kaiser, Karl, and Ronald Benner. 2005. "Hydrolysis-Induced Racemization of Amino Acids." *Limnology and Oceanography: Methods* 3 (8): 318-25. https://doi.org/10.4319/lom.2005.3.318.

Kaiser, Karl, and Ronald Benner. 2008. "Erratum: Major Bacterial Contribution to the Ocean Reservoir of Detrital Organic Carbon and Nitrogen (Limnology and Oceanography 53, 1, (99-112))." *Limnology and Oceanography* 53 (3): 1192. https://doi.org/10.4319/lo.2008.53.3.1192.

Kaiser, Karl, and Ronald Benner. 2009. "Biochemical Composition and Size Distribution of Organic Matter at the Pacific and Atlantic Time-Series Stations." *Marine Chemistry* 113 (1-2): 63-77. https://doi.org/10.1016/j.marchem.2008.12.004.

Keafer, Bruce A., James H. Churchill, and Donald M. Anderson. 2005. "Blooms of the Toxic Dinoflagellate, Alexandrium Fundyense in the Casco Bay Region of the Western Gulf of Maine: Advection from Offshore Source Populations and Interactions with the Kennebec River Plume." *Deep-Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography* 52 (19-21 SPEC. ISS.): 2631-55. https://doi.org/10.1016/j.dsr2.2005.06.017.

Kim, Dongseon, Hyun-woo Choi, Kyung Hee Kim, Jin Hyun Jeong, Seung Ho Baek, Yong-ok Kim, and Korea Ocean Reach. 2011. "동계와 춘계 진해만 표층수질에 대한 통계분석." *Ocean and Polar Research* 33 (3): 291-301.

Kim, Nam Su, Hoon Kang, Min-Sun Kwon, Hyo-Sang Jang, and Jong Gu Kim. 2016. "Comparison of Seawater Exchange Rate of Small Scale Inner Bays within Jinhae Bay." *Journal of the Korean Society for Marine Environment and Energy* 19 (1): 74-85. https://doi.org/10.7846/jkosmee.2016.19.1.74.

Kim, Tae Hoon, Guebuem Kim, Yuan Shen, and Ronald Benner. 2017. "Strong Linkages between Surface and Deep-Water Dissolved Organic Matter in the East/Japan Sea." *Biogeosciences* 14 (9): 2561-70. https://doi.org/10.5194/bg-14-2561-2017.

Kwon, Hyeong Kyu, Ji A Park, Han-Soeb Yang, and Seok Jin Oh. 2013. "Dominance and Survival Strategy of Toxic Dinoflagellate Alexandrium Tamarense and Alexandium Caten ella Under Dissolved Inorganic Nitrogen-Limited Conditions." *Journal of the Korean Society for Marine Environment & Energy* 16 (1): 25-35. https://doi.org/10.7846/jkosmee.2013.16.1.25.

Kwon, Hyeong Kyu, Guebuem Kim, Weol Ae Lim, Jong Woo Park, and Tae Gyu Park. 2020. "Conditions of Nutrients and Dissolved Organic Matter for the Outbreaks of Paralytic Shellfish Poisoning (PSP) in Jinhae Bay, Korea." *Marine Pollution Bulletin* 158 (June): 111381. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2020.111381.

Keil, Richard G., and David L. Kirchman. 1994. "Abiotic Transformation of Labile Protein to Refractory Protein in Sea Water." *Marine Chemistry* 45 (3): 187-96. https://doi.org/10.1016/0304-4203(94)90002-7.

Lamb, Angela L., Graham P. Wilson, and Melanie J. Leng. 2006. "A Review of Coastal Palaeoclimate and Relative Sea-Level Reconstructions Using ⊿13C and C/N Ratios in Organic Material." *Earth-Science Reviews* 75 (1-4): 29-57. https://doi.org/10.1016/j.earscirev.2005.10.003.

Lee, Cindy, and Jeffrey L. Bada. 1977. "Dissolved Amino Acids in the Equatorial Pacific, the Sargasso Sea, and Biscayne Bay." *Limnology and Oceanography* 22 (3): 502-10. https://doi.org/10.4319/lo.1977.22.3.0502.

Lee, Moon Ock, Pyeong Joo Kim, Jin Han Moon, and Copyright Information.
2006. "진해만의 해양환경이 적조발생에 미치는 영향." *The Korean Society for Marine Environment & Energy* 2006.11 (177-183): 7. http://www.dbpia.co.kr/journal/articleDetail?nodeId=NODE0085646.

Lee, Yong Woo, Dong Woon Hwang, Guebuem Kim, Won Chan Lee, and Hyun Taik Oh. 2009. "Nutrient Inputs from Submarine Groundwater Discharge (SGD) in Masan Bay, an Embayment Surrounded by Heavily Industrialized Cities, Korea." *Science of the Total Environment* 407 (9): 3181-88. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2008.04.013.

Lim, Hyun Sig, Robert J. Diaz, Jae Sang Hong, and Linda C. Schaffner. 2006. "Hypoxia and Benthic Community Recovery in Korean Coastal Waters." *Marine Pollution Bulletin* 52 (11): 1517-26. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2006.05.013.

Lobbes, M, G. Kattner, and H P Fitznar. 1999. "Determination of Enantiomeric Amino Acids with High-Performance Liquid Chromatography and Pre-Column Derivatisation with o-Phthaldialdehyde and N-Isobutyrylcysteine in Seawater and Fossil Samples (Mollusks)." *Journal of Chromatography A* 832: 123-32.

Luo, Man, Yi Xin Guan, and Shan Jing Yao. 2007. "Study on Disulfide Bond Formation Protein A in Escherichia Coli." *Shengwu Gongcheng Xuebao/Chinese Journal of Biotechnology* 23 (1): 7-15.

McCarthy, Matthew, John Hedges, and Ronald Benner. 1996. "Major Biochemical Composition of Dissolved High Molecular Weight Organic Matter in Seawater." *Marine Chemistry* 55 (3-4): 281-97. https://doi.org/10.1016/S0304-4203(96)00041-2.

McCarthy, Matthew D., John I. Hedges, and Ronald Benner. 1998. "Major Bacterial Contribution to Marine Dissolved

Organic Nitrogen." *Science* 281 (5374): 231-34. https://doi.org/10.1126/science.281.5374.231.

Milliman, John D, Xie Qinchun, and Yang Zuosheng. 1984. "Transfer of Particulate Organic Carbon and Nitrogen from the Yangtze River to the Ocean." *American Journal of Science* 284 (7): 824 LP - 834. https://doi.org/10.2475/ajs.284.7.824.

Nagata, Yoko, Taketomo Fujiwara, Kumiko Kawaguchi-Nagata, Yoshihiro Fukumori, and Tateo Yamanaka. 1998. "Occurrence of Peptidyl D-Amino Acids in Soluble Fractions of Several Eubacteria, Archaea and Eukaryotes." *Biochimica et Biophysica Acta - General Subjects* 1379 (1): 76-82. https://doi.org/10.1016/S0304-4165(97)00084-6.

Nagata, Yoko, Kimihiro Tanaka, Teruhito Iida, Yoshio Kera, Ryo Hei Yamada, Yasuhiro Nakajima, Taketomo Fujiwara, et al. 1999. "Occurrence of D-Amino Acids in a Few Archaea and Dehydrogenase Activities in Hyperthermophile Pyrobaculum Islandicum." *Biochimica et Biophysica Acta - Protein Structure and Molecular Enzymology* 1435 (1-2): 160-66. https://doi.org/10.1016/S0167-4838(99)00208-3.

Nagata, T., B. Meon, and D. L. Kirchman. 2003. "Microbial Degradation of Peptidoglycan in Seawater." *Limnology and Oceanography* 48 (2): 745-54. https://doi.org/10.4319/lo.2003.48.2.0745.

Park, Yong-Chul, Seung-Kyu Son, Kyung-Ho Chung, and Kee-Hyun Kim. 1995. "Characteristics of Fluorescent Organic Matter and Amino Acids Composition in the East Sea 동해의 용존유기물 형광특성 및 아미노산 조성에 관한 연구." *The Journal of the Korean Society of Oceanography*.

Pedersen, Anna Grethe U., Trine R. Thomsen, Bente Aa Lomstein, and Niels O.G. Jφrgensen. 2001. "Bacterial Influence on Amino Acid Enantiomerization in a Coastal Marine Sediment." *Limnology and Oceanography* 46 (6): 1358-69. https://doi.org/10.4319/lo.2001.46.6.1358.

Pehlivanoglu-Mantas, Elif, and David L. Sedlak. 2008. "Measurement of Dissolved Organic Nitrogen Forms in Wastewater Effluents: Concentrations, Size Distribution and NDMA Formation Potential." *Water Research* 42 (14): 3890-98. https://doi.org/10.1016/j.watres.2008.05.017.

P□rez, Maria T., Clemens Pausz, and Gerhard J. Herndl. 2003. "Major Shift in Bacterioplankton Utilization of Enantiomeric Amino Acids between Surface Waters and the Ocean's Interior." *Limnology and Oceanography* 48 (2): 755-63. https://doi.org/10.4319/lo.2003.48.2.0755.

Redfield, A.C., Ketchum, B.H. and Rechards, F.A., 1963, "The influence of organisms on the composition of seawater", In: Hill, M.N. (ed), The Sea II, John Wiley, New York, 26-77.

Simon, Meinhard, and Bernd Rosenstock. 2007. "Different Coupling of Dissolved Amino Acid, Protein, and Carbohydrate Turnover to Heterotrophic Picoplankton Production in the Southern Ocean in Austral Summer and Fall." *Limnology and Oceanography* 52 (1): 85-95. https://doi.org/10.4319/lo.2007.52.1.0085.

Sung-Tae, Jang (Marine Enviornmet Research Department, KORDI), KORDI) Dongchull, Jeon (Marine Resources Research Department, and KORDI) Chang-Woong, Shin (Marine Enviornment Research Department. 2008. "Seasonal Variations of Physical Conditions and Currents in the Sea Ner Gadeok-Sudo." *Ocean and Polar Research* 30 (March): 33-46.

Tegelaar, E. W., J. W. de Leeuw, S. Derenne, and C. Largeau. 1989. "A Reappraisal of Kerogen Formation." *Geochimica et Cosmochimica Acta* 53 (11): 3103-6. https://doi.org/10.1016/0016-7037(89)90191-9.

Umagat, H., P. Kucera, and L. F. Wen. 1982. "Total Amino Acid Analysis Using Pre-Column Fluorescence Derivatization." *Journal of Chromatography A* 239 (C): 463-74. https://doi.org/10.1016/S0021-9673(00)82003-8.

Wakeham, Stuart G., Cindy Lee, John I. Hedges, Peter J. Hernes, and Michael L. Peterson. 1997. "Molecular Indicators of Diagenetic Status in Marine Organic Matter." *Geochimica et Cosmochimica Acta* 61 (24): 5363-69. https://doi.org/10.1016/S0016-7037(97)00312-8.

Yamashita, Youhei, and Eiichiro Tanoue. 2003. "Distribution and Alteration of Amino Acids in Bulk DOM along a Transect from Bay to Oceanic Waters." *Marine Chemistry* 82 (3-4): 145-60. https://doi.org/10.1016/S0304-4203(03)00049-5.

Yan, Ge, Guebuem Kim, Jeonghyun Kim, Yu Sik Jeong, and Young Il Kim. 2015. "Dissolved Total Hydrolyzable Enantiomeric Amino Acids in Precipitation:

Implications on Bacterial Contributions to Atmospheric Organic Matter." *Geochimica et Cosmochimica Acta* 153: 1-14. https://doi.org/10.1016/j.gca.2015.01.005.

Zhang, Guicheng, Shengkang Liang, Xiaoyong Shi, and Xiurong Han. 2015. "Dissolved Organic Nitrogen Bioavailability Indicated by Amino Acids during a Diatom to Dinoflagellate Bloom Succession in the Changjiang River Estuary and Its Adjacent Shelf." *Marine Chemistry* 176: 83-95. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.marchem.2015.08.001.

Zhang, Zi Lian, Qiang Zheng, and Nian Zhi Jiao. 2016. "Microbial D-Amino Acids and Marine Carbon Storage." *Science China Earth Sciences* 59 (1): 17-24. https://doi.org/10.1007/s11430-015-5155-x.

Abstract

Distributions and biogeochemical characteristics of nutrients and amino acids in coastal seawaters of Jinhae Bay, Korea

Bo Hyun Yeo

School of Earth and Environmental Sciences

The Graduate School

Seoul National University

We measured concentrations of dissolved organic carbon (DOC), dissolved organic nitrogen (DON), dissolved organic phosphorus (DOP), dissolved inorganic nitrogen (DIN), dissolved inorganic phosphorus (DIP), dissolved silicate (DSi), and total hydrolysable amino acids (THAAs) at 17 stations from 0 to 92 m (n=62) in Jinhae Bay, Korea. The bioavailability of dissolved organic

matter (DOM) is estimated by obtaining concentrations of L- amino acids (L-AA) and D- amino acids (D-AA), and bioavailability indices, degradation index (DI) and amino acids yields (DOC% and DON%). The concentrations of DON, DOP, and DSi in the outer bay decreased toward the inner bay, whereas those of DIP and DIN increasing. These indicate an aggressive consumption of inorganic nutrients in the inner bay. The concentration of THAA (145-859, avg. 363±143 nM), L-AA (48-541, avg. 144±79 nM), D-AA (13-36, avg. 22±5 nM) were more than ten times higher than those of open ocean (100-290, 13-110, 8-49 nM) and lower than those of fresh water (2600-11000, 2200-3400, 180-240 nM). In this study, it is especially notable that not only D- but L-AA showed conservative behavior of decreasing with salinity in the surface coastal waters. In this open-box system like the coastal ocean, a conservative behavior of D- and L-AA, a result of the mixing of two endmembers indicating that the excess L-AA from low-salinity water was preserved in the surface layer meanwhile decomposing in the subsurface layer. Our result provides new evidence that the distribution of labile DON is regulated by physical advection and diffusion rather than biological activity in coastal waters, highlighting the importance of amino acids as an indicator of bioavailability of DON.

Keywords: Amino acids, biogeochemistry, dissolved organic matter, nutrients, Jinhae Bay

Student Number: 2019-20089