

동해의 용존유기물 형광특성 및 아미노산 조성에 관한 연구*

박용철 · 손승규 · 정경호 · 김기현*

인하대학교 해양학과, *충남대학교 해양학과

Characteristics of Fluorescent Organic Matter and Amino Acids Composition in the East Sea

YONG-CHUL PARK, SEUNG-KYU SON, KYUNG-HO CHUNG AND KEE-HYUN KIM*

Department of Oceanography, Inha University, Incheon 402-751, Korea

*Department of Oceanography, Chungnam National University, Taejeon 305-704, Korea

동해의 8개 정점에서 해수 및 추출된 용존 유기물의 형광특성과 아미노산 조성이 연구되었다. C-18 Sep-Pak cartridges에 의해 추출된 시료는 3차원 형광특성 분석에 따라 생거대물질과 지구거대물질로 구분되었다. 전 조사 정점을 통하여 생거대물질(ex : 280 nm/em : 330 nm)은 표층이 높고 수온약층 아래에서 점차 감소하는 것으로 나타났으며 이는 표층혼합층의 생물 활동에서 기인된 분해가능한 생거대물질이 수온약층 부근 및 저층에서 활발한 미생물 분해과정에 의해 감소하는 것으로 사료된다. 한편 이와는 역상관관계를 보이는 지구거대물질(ex : 330 nm/em : 430 nm)은 표층은 낮고 수온약층 아래에서 점차 증가하였는데 이는 표층에서 생성된 생거대물질 및 입자유기체가 생물 분해 후 재축합과정을 거쳐 난분해성의 지구거대물질로 전환된 것으로 사료된다. HPLC를 이용하여 해수와 추출된 용존유기물의 아미노산 조성을 분석하였다. 분석결과 glycine, serine 그리고 alanine 등이 우점하였으며, 전체 농도의 50% 이상을 차지하는 것으로 조사되었다. 해수중의 용존 자유아미노산 농도는 표층이 0.7~1.8 μM 범위로 저층 0.2~0.4 μM 보다 높게 측정되었다. 추출된 유기물중 alanine의 D/L racemic ratio 측정결과 저층보다 표층이 상대적으로 낮은 값을 보였으며 이는 표층의 생거대물질이 연령이 젊고 재순환이 빠르며 생물 분해가능성이 큰물질임을 시사하고 있다.

Fluorescence characteristic and amino acids composition of organic matter were determined from extracted seawater samples at eight stations in the East Sea of Korea. Organic compounds have been extracted onto C-18 Sep-Pak cartridges. Three dimensional excitation/emission fluorescence contouring of extracts showed two markedly distinct characterized fluorophores representing protein-like biomacromolecule and humic-like geomacromolecule. Protein-like biomacromolecule showing fluorescence maxima at 280 nm/330 nm (excitation/emission) were abundant in the surface mixed layer and then apparently decreased below the thermocline at most stations. It suggests that source of biomacromolecule is closely related with vigorous biological synthetic activity in the surface layer and bacteria decompose its biologically labile components near the thermocline and in the deeper layer. On the other hand, humic-like geomacromolecule showing fluorescence maxima at 330 nm/430 nm (excitation/emission) were low in the surface mixed layer implying photochemical oxidation and then increased below the thermocline at most stations. It suggests that geomacromolecule might be transformed by condensation of bio-refractory organic fraction after decomposition of biomacromolecule and particulate organic carbon derived from the surface mixed layer. HPLC measurements of amino acids showed similar composition between seawater and extracted organic macromolecule after hydrolysis. Glycine, serine and alanine were predominant, accounting for more than 50% of total amino acids. Dissolved free amino acids of seawater were more abundant in the surface layer(0.7~1.8 μM) than the deeper layer(0.2~0.4 μM). D/L racemic ratio of alanine of extracted organic matter showed lower value in the surface layer than the deeper layer. It suggests that biomacromolecule predominant in the surface layer is relatively young, rapidly recycling and biologically labile.

*본 연구는 1993년도 교육부 학술연구조성비의 지원에 의한 것임.

서 론

해양에서 용존 유기물은 탄소의 생지화학과과정과 관련되어 중요한 역할을 하고 있다(Cauwet, 1984; Lee and Wakeham, 1989; Kieber *et al.*, 1990). 이러한 용존 유기물은 해수중에 0.5~2.0 mgC l⁻¹의 농도로 존재하고 있으며(Williams, 1975), 총 용존 유기물 중 carbohydrates, combined amino acids, free amino acids 및 fatty acids 등 알려진 유기 화합물은 5~30% 정도에 지나지 않는다(Williams and Druffel, 1987; Hayase and Shinozuka, 1995). 해양의 humic substances는 용존 유기물 중 성분이 구체적으로 알려지지 않은 용존 유기물의 대부분을 차지하고 있으며, 이들의 분석은 물질의 기본적인 photophysical properties를 이용한 형광측정방법(fluorescence measurement techniques)이 이용되고 있다. 이러한 형광특성을 이용한 분석 방법은 Kalle(1949) 이후 많은 진보를 하였으며, 현재는 분석 기기 및 기법의 발전으로 excitation/emission spectra, synchronous fluorescence spectra, 그리고 three dimensional fluorescence 등의 방법 등이 이용되고 있다(Hayase *et al.*, 1987; Chen and Bada, 1990; Park *et al.*, 1991; Coble *et al.*, 1993; Sierra *et al.*, 1994). Coble *et al.* (1990)은 three dimensional excitation emission matrix(EEM) spectroscopy를 이용하여 Black Sea의 용존 유기물을 여러 형광으로 구분하였으며, Mopper and Park(1993)은 해수 용존 유기 탄소 중 가장 많은 비중을 차지하고 있는 것은 용존 자유 아미노산이나 mono saccharide 등과 같은 단분자 형태가 아니라 거대 복합 유기물 상태로 존재하는 생거대물질(biomacromolecule)과 지구거대물질(geoacromolecule) 등으로 구분하였다. 이러한 유기물의 형광특성에 따른 구분은 생성과정 및 존재형태에 따라 수괴의 추적자로서 중요한 정보를 제공할 수 있다(Chen and Bada, 1989; Donard *et al.*, 1989; Amador *et al.*, 1990; Coble *et al.*, 1990)

용존 유기물 중 질소계 유기물인 자유 및 복합 아미노산(free and combined amino acid)은 식물성부유생물의 질소 공급원으로서 매우 중요하며, sugars와 함께 heterotrophic micro-organisms에 의한 유기물 순환 및 에너지 공급단계에 중요한 작용을 한다(Dugdale and Goering, 1967; Williams, 1975; North *et al.*, 1975; Mopper and Lindroth, 1982). 특히

HPLC를 이용한 아미노산의 세부 분리 분석자료는 유기물 분포특성 및 유기 화학적 환경특성 연구에 중요한 정보를 제공하며, 아미노산의 D, L-form간의 racemization과정을 통하여 용존 유기 화합물의 연령 추정의 중요한 자료로 제시될 수 있다(Bada and Hoopes, 1979; Park *et al.*, 1994).

본 연구 해역인 동해 남부 해역은 고유냉수역 및 대마난류와 북한한류가 혼재하고(Seung, 1992), 해수 순환연구(Kang, 1988; Seung and Nam, 1991; Seung, 1992), 동해 대륙붕 및 대륙사면에서의 식물성부유생물의 분포(Shim and Lee, 1983), 기초생산력 측정 및 영양염 분포(Shim and Park, 1984; Chung *et al.*, 1989; Shim *et al.*, 1992), 다모류 분포(Choi and Koh, 1990), 용존 자유 아미노산의 농도 분포와 미생물의 유기물 이용(Ju, 1990) 등의 많은 연구가 진행되었다. 특히 Chung *et al.*(1989) 및 Shim *et al.*(1992)은 기초생산력과 질소계 영양염의 동적관계 규명을 통하여 이 해역에서 질소계 영양염이 식물성부유생물의 성장 제한 요인으로 작용함을 시사하였다.

본 연구의 목적은 비보존성 무기 영양염류의 공간적 분포 특성과 해수중에 존재하는 거대 복합 유기물의 형광특성의 수직적 분포 그리고 HPLC를 이용하여 자유 및 복합 아미노산의 성분 분석등을 통하여 동해 남부 해역의 유기 화학적 환경특성 파악에 기여하고자 하였다. 한편 이렇게 획득된 유기물의 특성으

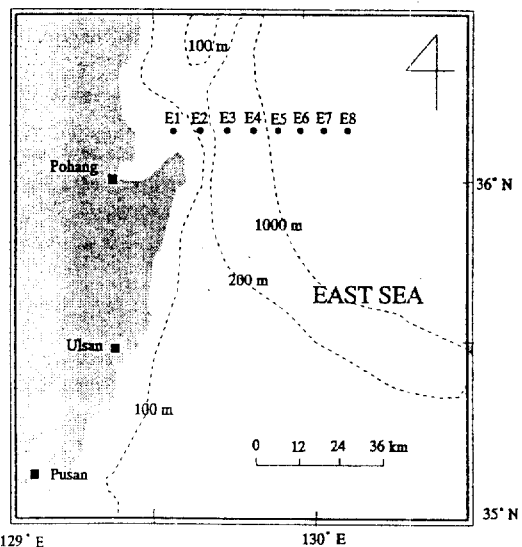


Fig. 1. Map showing sampling stations in the study area.

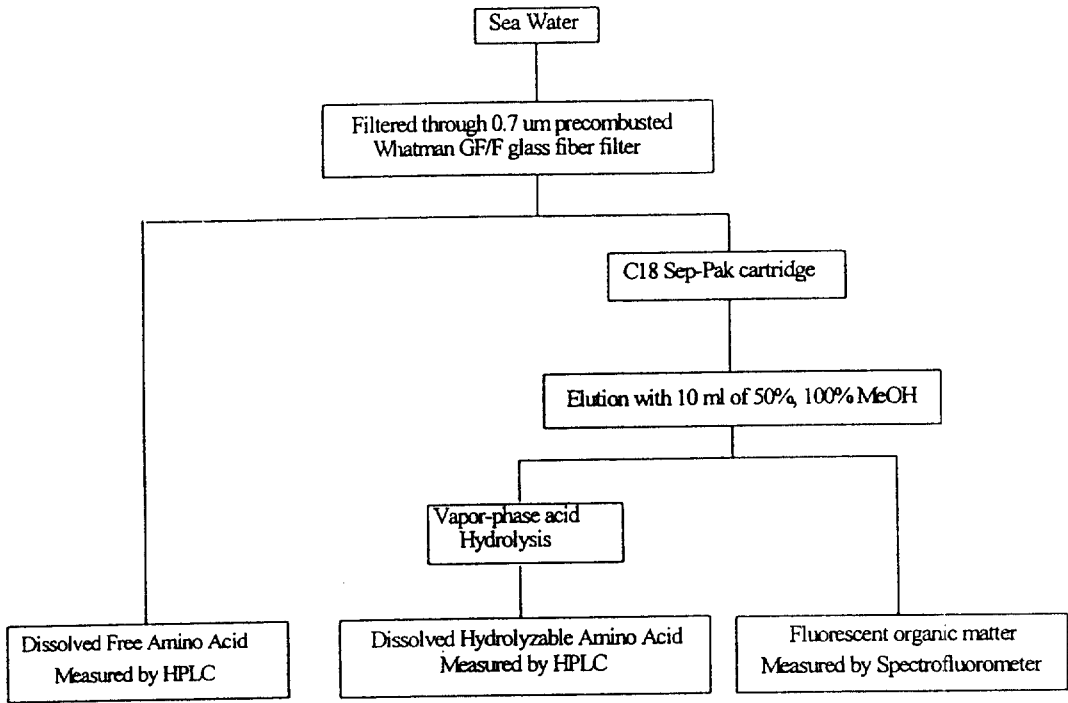


Fig. 2. Flow diagram of analytical method for marine organic matter.

로부터 생겨대 물질 및 지구거대 물질의 생성기원과 유기물질의 순환 및 생지화학적 환경을 동시에 밝히고자 하였다.

재료 및 방법

본 연구는 동해 남부 해역의 8개 정점(Fig. 1)에서 실시 되었으며 시료는 Niskin water sampler를 이용하여 채수되었다. 채취된 해수 중 영양염류 분석을 위한 시료는 염산(10% HCl)과 탈이온 증류수에 의해 세척된 HDPE sample bottle에 넣은 후 -20°C 이하에서 보관되어 실험실에 옮겨져 분석하였다. 용존 유기물과 관련된 시료는 분석전 까지 질산(10% HNO₃)과 탈이온 증류수에 의해 세척된 20 ml vials(teflon liner bottles)에 보관하였다.

무기영양염류분석

냉동보관된 시료는 실험실로 옮겨진 후 영양염 자동분석기(SKALAR)를 이용분석하였다. 분석 결과는 A/D converter를 통하여 IBM XT/AT로 전송된 후 AutoStar 프로그램에 의해 처리 되었다.

유기물 형광측정 및 3차원 형광분석

추출된 유기물의 고유 형광측정은 spectrofluorophotometer(Shimadzu, M/D: RF-540)로 실시하였다. 표준형광의 계산은 생겨대 물질의 경우 ex 280 nm/em 330 nm에서 tryptophan(Sigma, T-0254) 1 ppb 형광을 1 TU로 계산 하였으며, 지구거대물질은 ex 330 nm/em 430 nm에서 0.01N H₂SO₄, quinine sulfate(Fluka, 22640) 1 ppb 형광을 1 QSU로 하였다. 용존 유기 화합물의 3차원 형광분석은 동일한 기기(Shimadzu, M/D: RF-540)를 이용하여 excitation 파장 범위 220에서 520 nm, 그리고 emission 파장 범위 260에서 560 nm까지, excitation 20 nm 간격으로 반복 scan 하였다. 기기의 반복 scan 과 자료 획득은 A/D converter를 통하여 IBM XT/AT로 전달된 후 ScanStar 프로그램에 의해 자료처리 되었다.

용존 자유 아미노산의 HPLC 분석

해수의 용존 자유 아미노산중 primary amine과 amino sugar 분석은 pH 9.5로 조절된 boric acid(Sigma, B-0252)에 o-phthaldialdehyde(Sigma, P-1378)와 N-acetyl-L-cysteine(Sigma, A-7250)를 용해

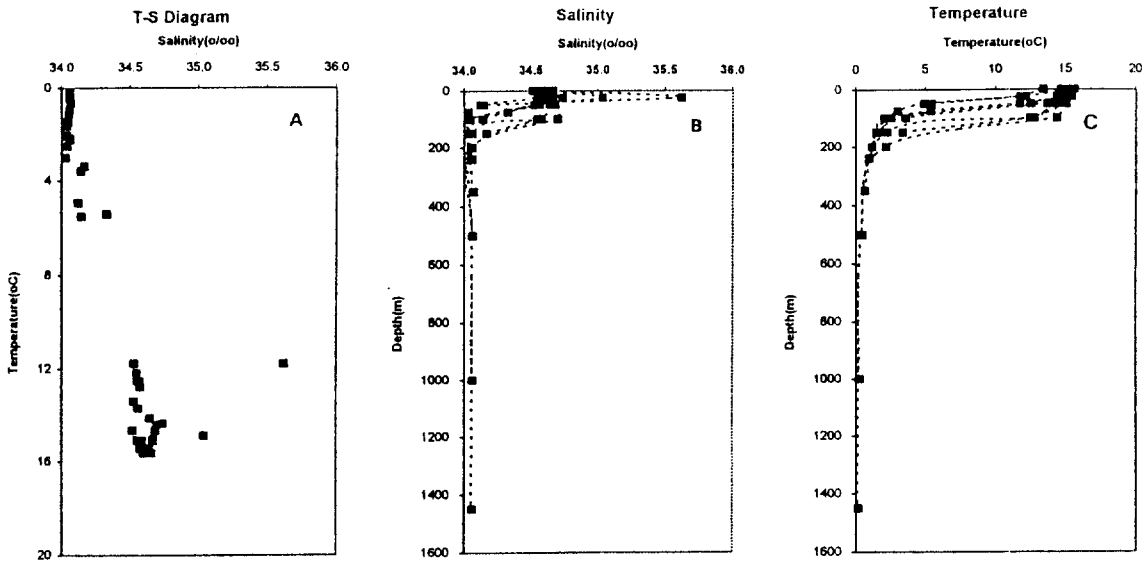


Fig. 3. T-S diagram (A), vertical profiles of temperature (B) and salinity (C) in the study area.

시켜 precolumn fluorescence derivatization을 형성한 후 binary gradient ChromaStar HPLC system(OROM, Vintage 2000)을 이용하여 분리 분석하였으며, 이 때 사용된 column은 reverse phase ODS HPLC column (Rexchrom 250×4.6 mm, 100 A)을 사용하였다(Park *et al.*, 1994).

용존 복합 아미노산의 가수분해 및 HPLC 분석

추출된 용존 유기 화합물 중 0.5 ml를 취하여 freeze dryer를 이용하여 dry시킨 후 vapor-phase hydrolysis 방법을 이용(Tsugita *et al.*, 1987; Keil and Kirchman, 1991), 가수분해 시킨 후 용존 자유 아미노산의 분석방법과 동일한 방법으로 binary gradient ChromaStar HPLC system을 이용하여 용존 거대 유기 화합물내의 복합아미노산(combined amino acids)을 성분 분석하였다. 본 연구에서 실시된 용존 유기물 분석의 flow diagram은 Fig. 2에 나타나 있다.

결과 및 고찰

무기영양염류 분포 특성

조사 해역인 동해는 난류와 한류가 교차하는 복잡한 순환과정이 이루어지고 있으며(Seung, 1992), 조사 기간 동안 각 조사 정점별로 수심 50~150 m 사이에 뚜렷한 수온약층 및 밀도약층이 형성되었다(Fig.

3). 수온 및 밀도약층으로 인하여 T-S Diagram에 나타난 것과 같이 상층부의 고온고염의 수괴와 저층부의 저온저염의 수괴로 이분되어 있다. 이러한 수괴의 특성을 갖고 있는 조사 해역의 영양염류 수직 분포는 표층에서 대부분 고갈되어 있고 저층에서 재생산되어 높게 나타났다. 각 영양염류의 농도는 본 실험실에서 조사되었던 Chung *et al.*(1989) 및 Ju (1990)의 자료와 유사한 범위의 측정치를 나타내었다. 질산염 및 아질산염의 측정 결과는 0.01~31.09 μM 범위이었으며, 각 정점의 수온약층 상부는 0.01~1.68 μM 의 범위로 낮은 농도를 보였다. 인산염의 농도는 0.01~2.06 μM 의 범위로 수온약층 하부를 제외하면 1 μM 이하의 낮은 농도로 나타났다. 규산염의 농도는 0.01~94.63 μM 의 범위이었으며, 특히 조사 정점중 최저 수심인 정점 E8의 수심 1,450 m에서 최고치를 보였다(Table 1).

영양염류의 수직 분포는 각 조사 정점의 수온약층 하부에서 전형적인 nutricline이 현저하게 나타났다(Fig. 4). Nutricline은 질산염과 인산염의 경우 연안에서 외해쪽으로 갈수록 그 깊이가 증가되었다. 외해역(정점 E8)에서 규산염의 nutricline 경사도는 내해역보다 비교적 완만하였는데 이는 외해 표면 혼합층에서 공급되는 입자 채설물에 규조류 함량이 연안보다는 상대적으로 적어 규산염의 용해에 의한 공급이 완만하기 때문인 것으로 사료된다.

Table 1. Concentration of nutrients in the study area.

St.	Depth (m)	Temp. (°C)	Sal. (‰)	Nitrite+Nitrate	Phosphate	Silicate
				(uM)		
E1	25	11.79	35.62	0.01	0.28	8.25
	50	5.49	34.14	9.57	0.86	21.19
E2	0	15.10	34.58	0.62	0.15	2.27
	25	12.19	34.55	1.65	0.68	14.29
	50	4.94	34.12	12.58	1.31	23.63
	75	3.03	34.03	12.28	1.30	20.87
	100	2.09	34.03	15.48	1.49	27.22
E3	0	15.46	34.58	0.24	0.30	3.26
	25	14.89	35.04	0.66	0.14	0.16
	50	11.76	34.53	1.54	0.75	13.30
	100	2.55	34.04	7.31	1.24	16.42
	150	1.52	34.05	17.49	1.51	29.06
	240	0.96	34.06	21.91	1.75	37.11
E4	0	15.64	34.60	0.42	0.12	1.51
	25	15.42	34.64	0.84	0.36	9.93
	100	3.59	34.14	6.51	0.95	16.08
	150	1.66	34.04	10.94	0.80	9.86
	350	0.66	34.07	19.96	1.81	41.16
	500	-	-	15.69	1.53	40.07
E5	0	-	-	0.30	0.01	0.59
	25	-	-	0.82	0.45	6.98
	50	-	-	0.59	0.23	3.33
	100	-	-	4.48	0.71	11.90
	150	-	-	11.82	1.14	16.64
E6	0	15.49	34.59	0.75	0.25	5.68
	25	15.43	34.57	0.74	0.36	8.31
	100	12.51	34.55	0.73	0.40	3.41
	150	3.40	34.17	31.90	1.47	29.29
E7	0	-	-	0.01	0.42	2.11
	25	-	-	0.26	0.60	10.33
	50	-	-	1.28	0.69	11.55
	100	-	-	1.01	0.67	9.70
	150	-	-	0.76	0.56	11.22
E8	0	15.11	34.66	1.03	0.02	1.42
	25	15.04	34.66	1.15	0.43	9.40
	50	14.68	34.68	1.68	0.46	7.68
	200	2.16	34.06	9.35	1.09	13.18
	500	0.47	34.06	12.14	1.32	19.96
	1000	0.22	34.06	14.42	1.59	52.83
	1450	0.18	34.06	24.38	2.06	94.63
	Max.	15.64	35.62	31.90	2.06	94.63
	Min.	0.18	34.03	0.01	0.01	0.16
	Avg.	8.05	34.38	6.88	0.80	16.64

N/P ratio와 N/Si ratio 는 표층에서 다소 산만하게 나타났는데(Fig. 5), 이는 영양염의 소비와 재생산이 복합되어 있기 때문이다. Nutricline을 포함한 수심(50~150m)에서의 N/P ratio 자료는 기 수행된 Chung (1989) 및 Ju(1990) 등의 자료에서도 확인되며, Shim et al.(1992)의 연구에 따르면 엽록소 량(Chl-a)의 최

대는 진광대 기저부에서 형성되어 이 수심에서의 N/P ratio가 2.77로 보고된 바 있다. 진광대에서는 무기 영양염 중 질소계 영양염이 식물플랑크톤의 성장 제한 요인으로 작용함을 시사하고 있다. 그러나 수온약층 이하의 저층 수괴에서는 N/P의 경우 15 부근, 그리고 N/Si의 경우는 0.3에서 0.5 사이로 비교적 안정

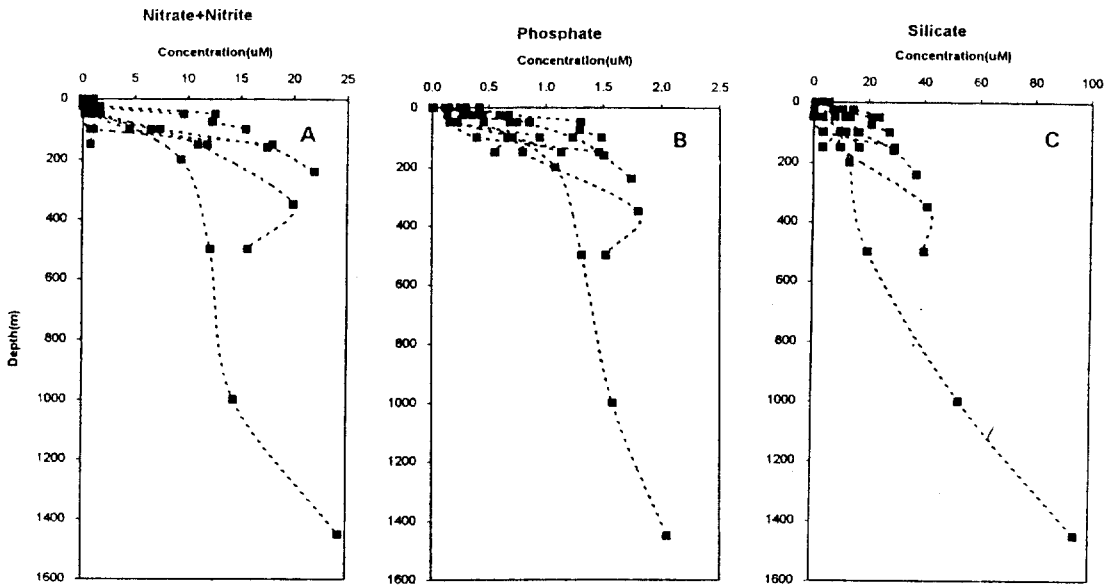


Fig. 4. Vertical profiles of nitrate+nitrite(A), phosphate(B) and silicate(C) in the study area.

되게 나타났다(Fig. 5). 이들 ratio는 대양의 저층수에서 대표적으로 나타날 수 있는 값으로 사료된다(Broecker, 1974).

해수 용존 유기화합물의 형광특성

해수 용존 유기화합물중 aromatic compounds, polycyclic compounds 및 conjugated polyenes 등은 특정한 파장에서 고유의 형광을 나타내는 형광소로서의 특징을 갖는다. 한편 해수 형광 유기물질의 농도를 변화시키는 요인으로는 육상으로부터의 유입, 생물 대사에 따른 생성, 광화학적인 분해, 해저면에서의 확산, carbohydrates와 아미노산의 축합반응 등이 있다(Lanne, 1982).

최근 해양 화학 분야에서는 이러한 유기물 형광특성에 관한 연구가 활발히 진행되고 있는데 Sierra *et al.*(1994)은 기수 지역과 대양에서 전처리 농축과정을 거치지 않고 측정하였으며, Hayase and Shinozuka(1995)는 형광 유기물과 AOU 및 영양염류의 수직 분포를 태평양에서 연구하였다. Determann *et al.*(1994)는 형광특성에 따라 tryptophan-like, tyrosine-like 그리고 gelbstoff 등의 3종류를 분리하였으며, tryptophan-like의 측정시 emission 파장을 325~350 nm(excitation 270 nm)사이에서 측정할 바 있다. 지구거대물질의 형광측정은 지역 및 기기의 조건 등에 따라 다소 차이를 보이고 있으나 excitation 파장

320~350 nm, 그리고 emission 파장 410~450 nm의 범위에서 측정되고 있다(Chen and Bada, 1992, 1994; Coble *et al.*, 1993; Hayase and Shinozuka, 1995).

본 연구에서 해수중의 용존 거대 유기물질을 추출하여 그 특성을 3차원 형광특성으로 분석한 결과 태평양과 대서양에서 나타난 결과와 유사하게 동해에서도 2개의 용존 거대 유기물질이 존재함을 알 수 있었다(Fig. 6). 이중 생거대 유기물질(biomacromolecule)은 Fig. 6에 나타나 있듯이 excitation 280 nm 그리고 emission 330 nm 부근에서 최대의 형광세기를 나타냈으며, 표층 및 수온약층 부근에서 높게 측정되었다(Fig. 7). 이의 주요 source는 표층 수괴에서 생물기원의 대사물질 및 단백질 화합물로 보인다.

본 연구에서 밝혀진 결과중에 특히 흥미로운 사실은 지구거대 물질의 형광수직 분포가 앞서 언급된 바와 같이 영양염류의 수직 분포와 유사한데 반하여 생거대 물질의 형광 분포는 일반적으로 알려진 DOC 수직 분포와 상당히 유사하다는 것이다. 이로 부터 추론될 수 있는 가정은 생거대 물질은 유기물의 조성이 지구거대 물질과는 상당히 달라 표층에서 비교적 잘 생성된 생거대 물질의 경우 형광소를 갖는 이외에 생화학 분해가 용이한 유기산, 지방산, 지질 그리고 당단백질 등의 유기탄소 함유량이 큰데 비하여 지구거대 물질은 이미 생화학적 분해가능성이 제거된 후 humic substance의 특성을 갖는 난분

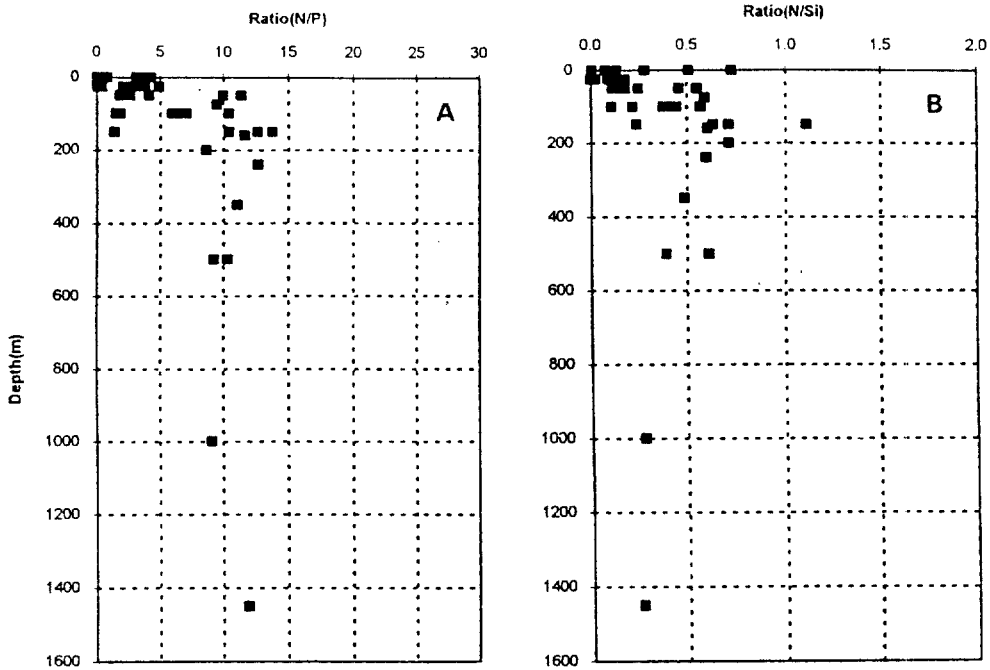


Fig. 5. Vertical profiles of N/P ratio (A) and N/Si ratio (B) in the study area.

해성 형광소(Ex330/Em430)와 농축과정에서 남아 있는 불활성 유기탄소 화합물로 되어 있을 것이라는 점이다. 따라서 해양의 표층 부근에의 humic substance 형광세기를 DOC의 총 유기탄소량의 간접적인 정량 지표로 이용할 경우 큰 오류가 발생될 수 있다. 오히려 이 목적을 위해서는 생거대물질의 수직분포가 해수중의 DOC의 간접적 정량지표로 이용될 수 있으나, 자연해수의 DOC/형광단위의 비율 결정은 차후 보다 집중적인 연구가 필요하다.

생거대 물질은 저층으로 갈수록 감소되는데 이는 저층에서의 미생물 분해활동과 축합과정을 통하여 지구 거대 물질로의 전환에 의해 감소되는 것으로 사료된다(Park *et al.*, 1994). 이러한 생거대 물질은 저층에서 부분적으로 미생물에 의해 분해 이용된 후 남은 유기 화합물들이 재축합과정을 거쳐 불활성(inert)인 humic substance(지구거대 물질: geomacromolecule)로 존재하게 되는데 이는 Fig. 7에 나타나 있듯이 지구거대 물질이 표층에는 거의 없고 저층으로 갈수록 증가되었다. 일반적으로 humic substance는 표층에 입사되는 자연광에 의해 광화학적 산화가 비교적 용이하게 일어나는 것으로 알려져 있다(Mopper and Zhou, 1990).

본 연구에서 Fig. 8에 나타난 바와 같이 수온약층 하부에서 지구거대 물질과 영양염류와의 관계는 지구거대물질의 생성이 표층으로부터 생산된 유기물의 산화에 따른 영양염류 재생산과 생성과정 면에서 관련이 있음을 보여주고 있다. 본 연구에서와 같이 태평양(Hayase *et al.*, 1988; Hayase and Shinozuka, 1995)과 대서양(Chen and Bada, 1992)에서도 수온약층 부근을 경계로 지구거대물질의 농도가 표층에서는 매우 낮고 저층에서 상당히 크게 나타났는데 Hayase *et al.*(1988)과 Chen and Bada(1992)는 수온약층 부근에서 집적된 입자성 유기물의 미생물 분해에 의한 humic substance 생성과 일반적인 영양염의 재생산 현상에는 상호 관련이 있는 것으로 추론 하였다. 하지만 본 연구에서 밝혀진 바에 의하면 용존 생거대 물질은 지구거대 물질의 수직 분포와는 역상관계를 보였는데 이는 표층 혼합층의 생물활동에서 기인된 생화학 분해가 가능한 생거대 물질이 수온약층 부근의 활발한 미생물 분해과정을 통하여 이용된 후 더이상의 생화학적 분해가 어려운 불활성 유기 화합물인 지구거대 물질로 전환되었을 가능성을 추가적으로 시사해 주고 있다. 따라서 지구거대 물질이 수온약층 부근 이하의 수심에서 증가되는 것은 입자성

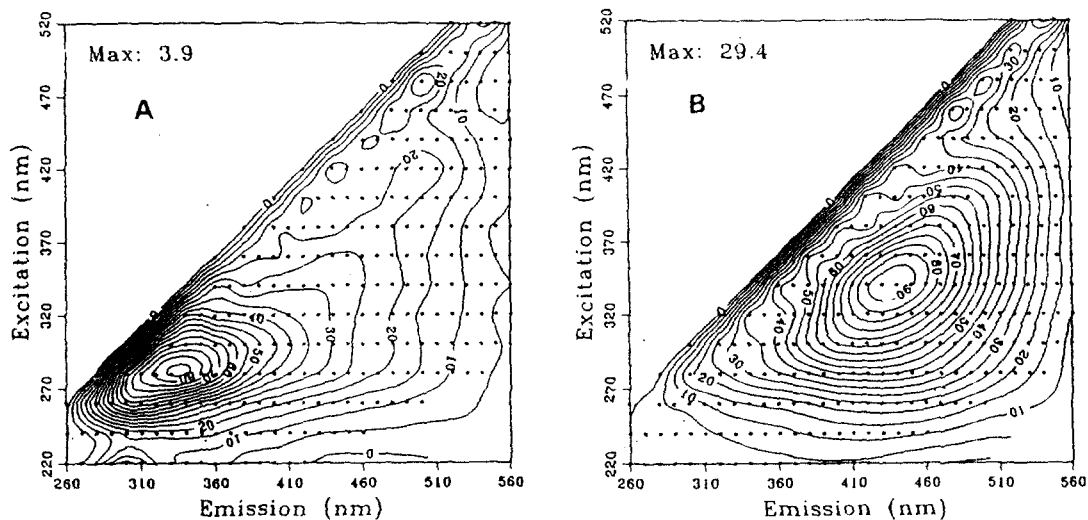


Fig. 6. Typical fluorescence finger print map of extract nao if extracted organic compounds in the study area (A: surface layer, B: deeper layer).

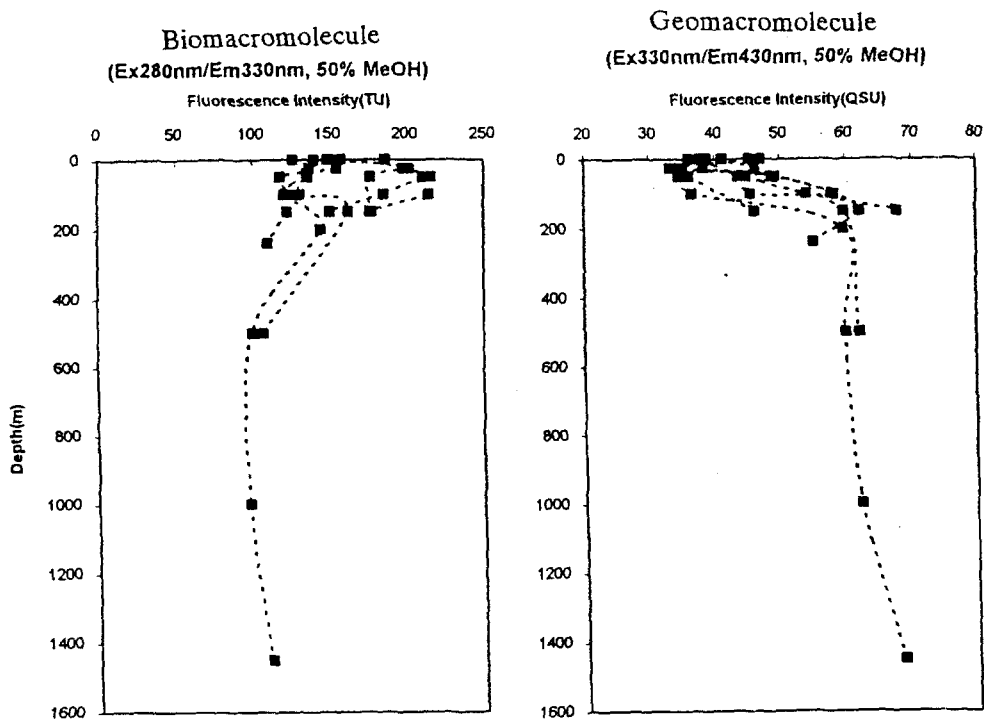


Fig. 7. Vertical profiles of fluorescence intensities in the study area.

유기물 분해로부터의 재생산 이외에도 표층 용존 생거대 물질 분해로부터의 재생산 또한 매우 중요할 것으로 보인다. 특히 수운약층 부근에서 생거대

물질의 최대치가 나타나는데 이는 이 수심부근에서 입자유기체의 생화학적 분해과정이 활발한 것으로 사료된다.

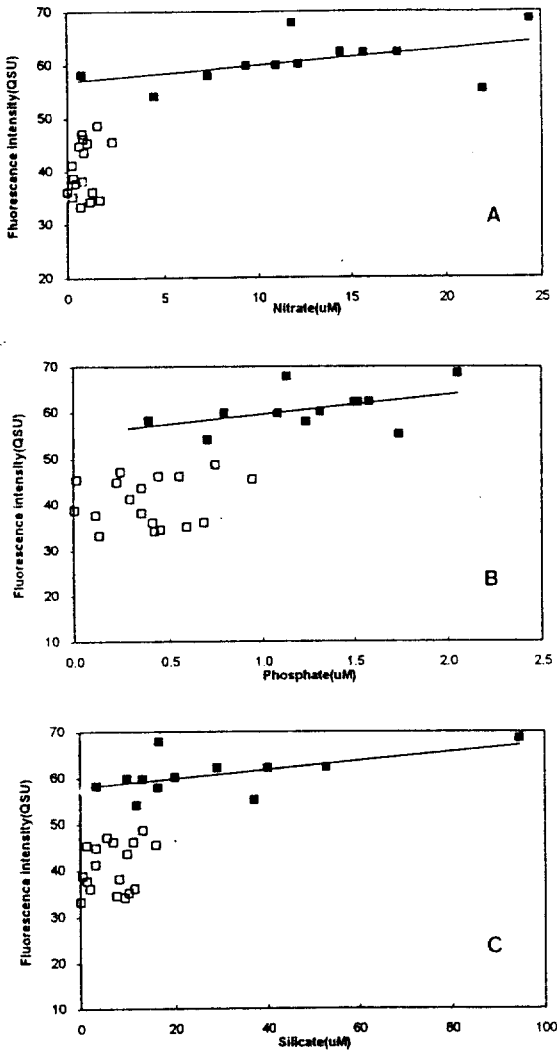


Fig. 8. Plots of fluorescence intensity (geomacromolecule: Ex330/Em430 nm) vs. nitrate (A), phosphate (B) and silicate (C) in the study area (\square : the surface layer; \blacksquare ; deeper layer below thermocline).

이미 황해의 용존 유기물의 특성연구(Park *et al.*, 1994)에서 밝혀진 바와 같이 특징적인 것은 생거대 유기물질이 생화학적으로 분해가능 하지만 광산화가 잘 안되는 반면, humic substance와 같은 지구거대 유기물질은 생화학적으로 불활성이나 광산화가 매우 용이한 특성을 갖는 점이다. 따라서 용존 자유 아미노산과 같은 해수중의 단분자 유기물질은 입자 유기물질의 1차적인 분해와 해양 생물로 부터의 분비 그리고 파괴된 세포로부터의 단분자 대사물질의 방

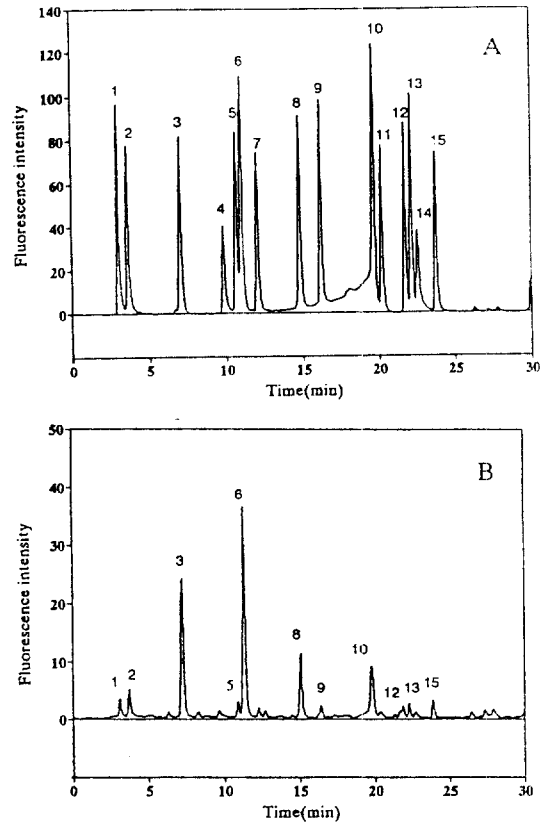


Fig. 9. Typical HPLC chromatograms of amino acid standard (A) and representative sample (B) of DFAA in the study area (1: aspartic acid, 2: glutamic acid, 3: serine, 4: threonine, 5: histidine, 6: glycine, 7: arginine, 8: alanine, 9: tyrosine, 10: valine, 11: methionine, 12: phenylalanine, 13: isoleucine, 14: leucine, 15: lysine).

출, 생물기원 유기물질의 생화학적 분해, 해양 표층에서 humic substance의 광산화 등에 의해 생성된 후 해양 생물권으로 공급되는 순환과정을 거치게 되는 것으로 보인다.

한편 정점 E8의 표층수에서 추출 유기물질의 3차원 형광분석 결과 excitation 420 nm 그리고 emission 490 nm 부근에서 저층수에서는 나타나지 않는 특이한 제3의 유기물질이 존재함을 밝혀 냈는데 이는 식물성 부유생물의 색소체와 관련이 깊은 생거대 물질로 추정된다. 왜 이러한 형광특성을 갖는 유기물질이 유독 수온약층 상부의 표층수에서만 나타나는지, 그리고 이물질이 어떠한 생화학적 과정을 통하여 표층수에 생성되는지에 대한 심층적인 연구가 차후 필요

Table 2. Concentration of dissolved free amino acids in this study area.

	E3					E4					E8							
	0 m	25 m	50 m	100 m	150 m	240 m	0 m	25 m	50 m	150 m	350 m	0 m	25 m	50 m	100 m	200 m	1450 m	
Acidic	Asp	24.4	57.9	32.3	11.5	15.5	14.1	63.0	60.2	29.5	39.0	43.1	30.5	19.6	53.4	34.5	27.2	21.8
	Glu	52.6	68.8	41.7	12.0	22.6	15.9	50.8	159.9	24.9	25.5	29.3	60.5	12.9	23.7	40.1	21.6	15.6
Aliphatic hydroxy	Ser	224.3	415.5	213.4	45.5	68.5	128.1	461.6	206.5	192.8	131.2	134.6	289.7	76.2	272.8	396.4	150.7	122.2
	Thr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	31.6	-	-
Aliphatic neutral	Gly	192.7	297.0	202.7	61.6	47.4	177.3	623.9	147.2	157.9	79.1	84.8	331.2	45.9	176.9	370.3	104.4	85.3
	Ala	77.4	150.1	99.2	23.1	28.8	51.3	196.5	81.5	75.8	48.6	49.4	124.7	23.9	93.2	152.5	55.8	44.5
	Val	23.6	63.0	67.2	31.8	29.5	30.8	81.8	42.6	41.3	22.5	76.6	68.9	60.6	43.3	73.8	29.8	24.6
	Ile	20.6	30.7	18.3	4.8	-	12.0	49.4	26.6	21.6	-	13.7	23.2	6.4	21.0	33.1	15.7	11.4
	Leu	-	-	-	28.3	-	-	38.0	-	-	-	-	-	36.3	-	20.8	-	-
	a-Aba	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Aromatic +Sulfur	Tyr	16.5	29.0	-	-	-	10.0	42.9	16.4	-	-	12.2	22.7	-	16.8	-	-	9.2
	Met	16.4	-	-	-	-	-	26.4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Phe	17.3	24.2	-	-	-	-	-	23.4	17.1	-	-	15.0	-	18.3	30.7	10.3	-
Basic	His	22.0	54.9	24.4	5.5	11.3	15.3	55.9	37.5	28.5	20.4	22.4	28.3	-	33.0	45.6	17.0	12.9
	Arg	16.3	31.1	-	-	-	-	38.6	17.1	-	-	12.8	-	-	12.9	24.7	-	-
	Lys	12.2	49.0	49.0	12.7	-	18.6	89.5	37.2	36.8	17.6	15.8	41.8	9.4	28.6	56.9	22.9	17.3
Total(mM)		716.2	1271.3	728.7	236.2	223.7	473.2	1817.6	856.0	626.2	384.1	494.8	1036.6	291.2	840.3	1311.0	485.3	364.7

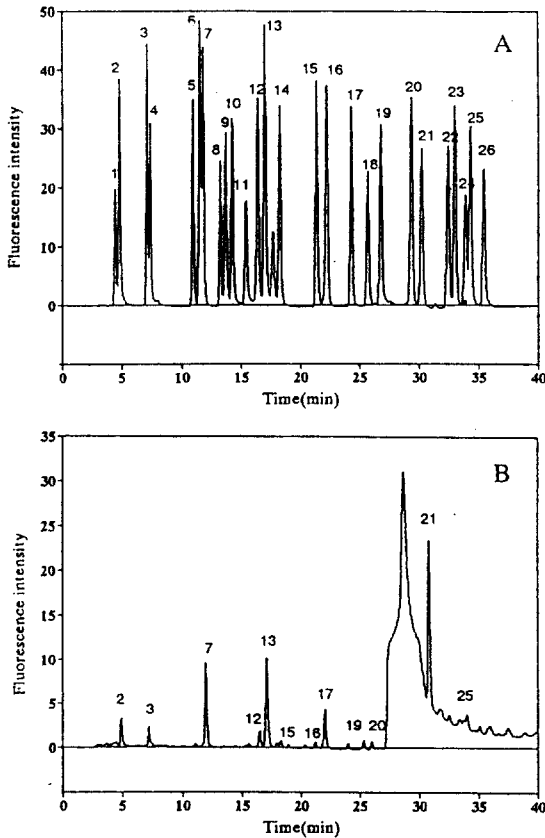


Fig. 10. Typical HPLC chromatograms of amino acid standard (A) and representative sample (B) of DHAA in the study area (1: D-aspartic acid, 2: L-aspartic acid, 3: L-glutamic acid, 4: D-glutamic acid, 5: asparagine, 6: D-serine, 7: L-serine, 8: L-glutamine, 9: glucos-amine, 10: galactosamine, 11: threonine, 12: histidine, 13: glycine, 14: arginine, 15: D-alanine, 16: L-alanine, 17: L-tyrosine, 18: D-tyrosine, 19: α -aminobutyric acid, 20: valine, 21: methionine, 22: penylalanine, 23: L-isoleucine, 24: leucine, 25: D-isoleucine, 26: lysine)

하다고 사료된다.

용존 자유 및 가수분해 아미노산의 분포 특성

해수의 용존 자유 아미노산은 microheterotrophic food chain의 첫단계로 제공되는 용존 유기물 단분자물의 한 부류이며(North, 1975), 공급원으로는 식물성 및 동물성 부유생물의 배설물, 세포의 파괴 및 동물성 부유생물의 fecal pellet과 같은 입자 복합 아미노산의 분해, 용존 복합 아미노산의 가수분해 등으로 알려져 있다(Ferguson and Sunda, 1984). 또한 해수

Table 3. Concentration of dissolved hydrolyzable amino acids at station F8(unit: nM).

	25 m	1450 m
L-Asp	40.26	40.14
L-Glu	24.68	21.48
L-Ser	108.38	140.47
His	26.58	156.04
Gly	108.97	12.16
Arg	10.18	-
D-Ala	9.85	12.32
L-Ala	59.91	65.87
L-Tyr	24.96	16.26
D-Tyr	19.90	19.44
Val	258.50	401.38
L-Ile	-	39.06
Leu	27.68	-
Lys	-	31.25

중의 용존 자유 아미노산 농도는 전체 용존유기물의 0.5% 이하로 비교적 낮은 비율을 차지하고 있으나, 박테리아의 대사와 성장에 필요한 탄소와 질소 공급의 20% 이상을 기여하는 것으로 밝혀진 바 있다(Fuhrman and Ferguson, 1986; Fuhrman, 1990; Suttle *et al.*, 1991).

연구 해역에서의 용존 자유 아미노산 HPLC chromatogram은 Fig. 9와 같이 분리 분석되었다. 전 조사 정점(정점 E3, E4, E8)을 통하여 glycine(Gly), serine(Ser) 및 alanine(Ala) 등이 전체 농도의 50% 이상을 차지하며 우점하는 것으로 조사되었다(Table 2). 특히 glycine의 경우 각 조사 정점의 상층수(수심 0~50 m)에서 높은 농도 값을 나타냈으며, 이러한 결과는 그 공급원을 추정할 때, 이 지역에서 Shim *et al.* (1992)등이 조사한 기초생산력의 평균값이 2,000 mgC m²day⁻¹로 다소 높게 측정된 점을 고려할 때 식물성 부유생물의 활발한 대사활동에 의한 것으로 사료된다(Clark *et al.*, 1972; Hubberten and Kattner, 1994). 이러한 용존 자유 아미노산의 분포는 식물성 부유생물의 체내에서 우점적으로 나타나는 아미노산의 조성(Cowie and Hedges, 1992)과 비교적 유사한 결과를 보이고 있다. 정점 별 농도 분포는 표층수가 0.7~1.8 μ M의 범위로 측정되었으며, 저층수의 농도가 0.2~0.4 μ M의 농도값을 보였다. 연구 해역에서의 측정치 결과는 계절적으로 무기 영양염의 낮은 농도에도 불구하고 생물적 활성도 높게 나타날 수 있는 가능성을 시사하고 있다. 이러한 측정치는 광합성과 기타 유기 물질 생산 대사활동이 큰 표층수의 농도가 저층수 농도보다 약 2~3배 높게 나타났으며,

이는 용존 자유 아미노산의 공급원이 주로 표층에서 활발한 생물권의 대사활동 과정에서 체외탁으로 방출(extracellular release)된 것이 그 주된 것으로 표층의 미생물 흡수율보다 그 공급율이 크기 때문이다. 반면 저층에서는 유기입자체의 분해과정에서 생성되는 용존 자유 아미노산이 저층수의 상대적으로 긴 체류시간에 따라 지속적인 저층 수괴내의 미생물에 의해 흡수되어 분해되는 관계로 그 농도가 낮게 나타나는 것으로 보인다.

해양에서의 용존 가수분해 아미노산(Dissolved Hydrolyzable Amino Acids)은 용존 자유 아미노산의 공급원 및 손실원으로서 해양생태계의 질소순환 과정에 중요한 역할을 담당하며 해양 미생물의 기질 및 단백질 대사에 필요한 질소요구량의 평균 51%를 기여하는 것으로 보고되고 있다(Bada and Hoopes, 1979). 연구 해역에서 용존 가수분해 아미노산의 HPLC chromatogram은 Fig. 10과 같이 분리 분석되었다. 각 기단의 특성에 따라 acidic group(Asp, Glu), amidic group(Asn, Gln), aliphatic hydroxy group(Ser, Thr), aliphatic neutral group(Gly, Ala, Val, Ile, Leu, a-Aba), aromatic group(Tyr, Trp, Phe), basic group(His, Arg, Orn, Lys) sulfur group(Met) 등으로 구분할 수 있는데 Sep-Pak cartridge 에 의해 추출된 용존 유기물의 측정결과는 해수중의 자유 아미노산의 결과와 유사하게 aliphatic neutral group(Val, Gly, Ala), basic(His) 및 aliphatic hydroxy group(Ser)의 아미노산이 전체의 70% 이상 우점하는 것으로 나타났다(Table 2, 3). 한편 용존 가수분해 아미노산의 측정에서는 용존 자유 아미노산에서는 볼 수 없었던 미확인 물질(unidentified compound)이 높은 값으로 나타났는데 가수분해 과정에 의하여 기인된 유기물의 분해산물로 추정되며 차후 이와 관련된 연구가 필요하리라 생각된다.

해수에 존재하는 대부분의 아미노산은 L-form 형태로 존재하며, 소량의 D-amino acid는 bacteria의 세포 벽에서 기인할 수 있지만 생물학적 기원보다는 화학적인 racemization과정에 의한 것으로 알려져 있다(Bada and Hoopes, 1979). 본 연구에서 해수중 농도가 풍부하며, 모든 아미노산중 가장 긴 half-time을 갖는 alanine의 D/L racemic ratio를 측정하였다. 정점 E8에서 추출된 지구거대 유기물질의 D/L racemic ratio 측정결과 표층수는 0.16, 저층수는 0.19의 값으로 표층수에 비교하여 저층수가 상대적으로 높게 측정

되었다. 이는 생기대 유기물질의 연령이 젊은 유기물인 반면에 오래된 유기물이라고 할 수 있는 지구거대 유기물질이 표층보다는 저층에 상대적으로 높게 나타나는 것으로 사료되며, 이러한 아미노산의 D/L racemic ratio 연구는 방사성 동위원소 연구와 더불어 수괴 및 해수중 유기 화합물의 상대적 연령을 추정할 수 있는 방법을 제시할 수 있기 때문에 앞으로 이에 대한 집중적인 연구가 특히 수심이 깊은 대양을 중심으로 이루어져야 할 것으로 사료된다.

결론적으로 해수중의 용존 유기물질은 미생물 활동에 의한 회전율(turnover rate)이 빠른 단분자 형태의 유기물질과 회전율이 느린 복합적인 거대 유기물질로 나누어질 수 있다. 생거대 유기물질은 그 분포와 조성면에서 볼 때 표층의 활발한 생물활동과 연관이 큰 것으로 보이며, 영양염류의 재생산과정과 유사한 양상을 보이고 저층에서 높게 나타나는 지구거대 유기물질은 단분자 유기물과 생거대 유기물질이 분해됨에 따라 부분적으로 유기산의 수용성을 갖는 상태에서 오랜시간 축합과정을 거쳐 최종 난분해성 물질로 체류하게 되는 것으로 보인다. 따라서 본 연구에서 밝혀진 해수의 용존 유기화합물 조성 및 형광분포 특성은 미생물학적 작용, 광화학적 반응, 축합반응, 생지화학적 순환 등 복합적인 유기 화학적 작용들과 깊은 관련이 있으며, 이에 대한 연구는 해수의 유기 화학적 환경과 수괴 특성을 밝히는 중요한 자료로 이용될 수 있을 것으로 사료된다.

감사의 글

본 연구에 대하여 좋은 토의와 의견을 나누어 주신 해양연구소 홍기훈 박사님께 감사의 뜻을 밝히 고자 합니다.

참고문헌

- Amador, J. A., P. J. Miline, C. A. Moore and R. G. Zika, 1990. Extraction of chromophoric humic substances from seawater. *Mar. Chem.*, **29**: 1-17.
- Bada, J. L. and E. A. Hoopes, 1979. Alanine enantiomeric ratio in the combined amino acid fraction in seawater. *Nature*, **282**: 822-823.
- Broecker, W. S., 1974. *Chemical Oceanography*. Harcourt Brace Jovanovich Inc. 214pp.
- Cauwet, G., 1984. Automatic determinations of dissolved organic carbon in seawater in the sub-ppm range. *Mar. Chem.*, **14**: 297-306.

- Chen, R. F. and J. L. Bada, 1989. Seawater and porewater fluorescence in the Santa Barbara Basin. *Geophysical Research Letter*, **16**: 687-690.
- Chen, R. F. and J. L. Bada, 1990. A laser-based fluorometry system for investigations of seawater and porewater fluorescence. *Mar. Chem.*, **31**: 219-230.
- Chen, R. F. and J. L. Bada, 1992. The fluorescence of dissolved organic matter in seawater. *Mar. Chem.*, **37**: 191-221.
- Chen, R. F. and J. L. Bada, 1994. The fluorescence of dissolved organic matter in porewaters of marine sediment. *Mar. Chem.*, **45**: 31-42.
- Choi, J. W. and C. H. Koh, 1990. Distribution pattern of polychaete worms on the continental shelf and slope of the East Sea (Southwestern Sea of Japan), Korea. *J. Oceanol. Soc. Korea*, **25**: 36-48.
- Chung, C. S., J. H. Shim, Y. C. Park and S. G. Park, 1989. Primary productivity and nitrogenous nutrient dynamics in the East Sea of Korea. *J. Oceanol. Soc. Korea*, **24**: 52-61.
- Clark, M. E., G. A. Jackson and W. J. North, 1972. Dissolved free amino acids in southern California coastal waters. *Limnol. Oceanogr.* **17**: 749-758.
- Coble, P. G., S. A. Green, N. V. Blough and R. B. Gagosian, 1990. Characterization of dissolved organic matter in the Black Sea by fluorescence spectroscopy. *Nature*, **348**: 432-435.
- Coble, P. G., C. A. Schultz and K. Mopper, 1993. Fluorescence contouring analysis of intercalibration experiment samples: a comparison of techniques. *Mar. Chem.*, **41**: 173-178.
- Cowie, G. L. and J. I. Hedges, 1992. Improved amino acid quantification in environmental samples: charge-matched recovery standard and reduced analysis time. *Mar. Chem.*, **37**: 223-238.
- Determann, S., R. Reuter, P. Wagner and R. Willkomm, 1994. Fluorescent matter in the eastern Atlantic Ocean. Part 1: method of measurement and near-surface distribution. *Deep-Sea Research*, **41**: 659-675.
- Donard, O. F. X., M. Lamotte, C. Belin and M. Ewald, 1989. High sensitivity fluorescence spectroscopy of Mediterranean waters using a conventional of a pulsed laser excitation source. *Mar. Chem.*, **27**: 117-136.
- Dugdale, R. C. and J. J. Goering, 1967. Uptake of new and regenerated forms of nitrogen in primary productivity. *Limnol. Oceanogr.* **12**: 196-206.
- Ferguson, R. L. and W. G. Sunda, 1984. Utilization of amino acids by planktonic marine bacteria: Importance of clean technique and low substrate additions. *Limnol. Oceanogr.*, **29**: 258-274.
- Fuhrman, J. A., and R. L. Ferguson, 1986. Nanomolar concentrations and rapid turnover of dissolved free amino acids in seawater: agreement between chemical and microbiological measurement. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **33**: 237-242.
- Fuhrman, J. A., 1990. Dissolved free amino acid cycling in an estuarine outflow plume. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **66**: 197-203.
- Fuhrman, J. A., 1990. Dissolved free amino acid cycling in an estuarine outflow plume. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* **66**: 197-203.
- Hayase, K., M. Yamamoto, I. Nakazawa and H. Tsubota, 1987. Behavior of natural fluorescences in Samagi Bay and Tokyo Bay, Japan-vertical and lateral distributions. *Mar. Chem.*, **20**: 265-276.
- Hayase, K., H. Tsubota, I. Sunada, S. Goda and H. Yamazaki, 1988. Vertical distribution of fluorescent organic matter in the North Pacific. *Mar. Chem.*, **25**: 373-381.
- Hayase, K. and N. Shinozuka, 1995. Vertical distribution of fluorescent organic matter along with AOU and nutrients in the equatorial Central Pacific. *Mar. Chem.*, **48**: 283-290.
- Hubberten, U., R. J. Lara and G. Kattner, 1994. Amino acid composition of seawater and dissolved humic substances in the Greenland Sea. *Mar. Chem.*, **45**: 121-128.
- Ju, S. J., 1990. Distribution of dissolved free amino acids and utilization of dissolved organic compounds in the East Sea of Korea. MA thesis, Inha University, 52pp.
- Kalle, K., 1949. Fluoreszenz und Gelbstoff in Bottnischem und Finnischchen Meerbusen. *Dtsch. Hydrogr. Z.*, **2**: 9-124.
- Kang, Y. Q., 1988. On the formation of the east Korean Warm Current. *Ocean Research*, **10**: 1-6.
- Kieber, R. J., X. Zhou and K. Mopper, 1990. Formation of carbonyl compounds from UV-induced photodegradation of humic substances in natural waters: Fate of riverine carbon in the sea. *Limnol. Oceanogr.*, **35**: 1503-1515.
- Keil, R. C. and D. L. Kirchman, 1991. Dissolved combined amino acids in marine waters as determined by a vapor-phase hydrolysis method. *Mar. Chem.*, **33**: 243-259.
- Lanne R. W. P. M., 1982. Influence of pH on the fluorescence of dissolved organic matter. *Mar. Chem.*, **11**: 395-401.
- Lee, C. and S. G. Wakeham, 1989. Organic matter in sewerage: Biogeochemical process. In 'Chemical Oceanography' Vol 9. edited by J. P. Riley, Academic Press. London, 1-52.
- Mopper, K. and P. Lindroth, 1982. Diel and depth variations in dissolved free amino acids and ammonium in the Baltic Sea determined by shipboard HPLC analysis. *Limnol. Oceanogr.*, **27**: 336-347.
- Mopper, K. and Y. C. Park, 1993. Origins of marine organic matter as revealed by fluorescence and amino acid racemization: Insights into the "New" DOC, humic substances and the oxygen minimum. *Deep-Sea Res.*, In press.
- Mopper, K. and X. Zhou, 1990. Hydroxyl radical photoproduction in the sea and its potential impact on marine processes. *Science*, **250**: 661-664.
- North, B. B., 1975. Primary amines in California coastal waters: Utilization by phloplankton. *Limnol. O-*

- ceanogr., **20**: 20-27.
- Park, Y. C., Y. H. Kim, C. S. Lee and K. B. Lee, 1991. Identification of spilled oils in the marine environment by fluorescence fingerprints and library search system. *J. Oceanol. Soc. Korea*, **26**: 295-303.
- Park, Y. C., C. H. Yoon and K. H. Chung, 1994. Amino Acid Composition and Characteristic of Dissolved Organic Compounds in the Yellow Sea. *J. Oceanol. Soc. Korea*, **29**: 171-182.
- Seung, Y. H., 1992. Water masses and circulations around Korean Peninsula. *J. Oceanol. Soc. Korea*, **27**: 324-331.
- Seung, Y. H. and S. Y. Nam, 1991. Effects of winter cooling on subsurface hydrographic conditions off Korean coast in the East(Japan) Sea. In 'Oceanography of Asin Marginal Sea' edited by K. Takano. Elsevier, 163-178.
- Shim, J. H., and W. H. Lee, 1983. Plankton study in the southeastern sea of Korea (I) Phytoplankton distribution in September, 1981. *J. Oceanol. Soc. Korea*, **18**: 91-103.
- Shim, J. H., and Y. C. Park, 1984. Community structure and spatial distribution of phytoplankton in the southwestern Sea of Korea, in early summer. *J. Oceanol. Soc. Korea*, **19**: 68-81.
- Shim, J. H., H. G. Yeo and J. G. Park, 1992. Primary production system in the southern waters of the East Sea, Korea. I. Biomass and productivity. *J. Oceanol. Soc. Korea*, **27**: 91-100.
- Sierra, M. M. De Souza, O. F. X. Donard, M. Lamotte, C. Belin and M. Ewald, 1994. Fluorescence spectroscopy of coastal and marine waters. *Mar. Chem.*, **47**: 127-144.
- Suttle, C. A., A. M. Chan and J. A. Fuhrman, 1991. Dissolved free amino acids in the Sargasso Sea: Uptake and respiration rates, turnover times, and concentration. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **70**: 189-199.
- Tsugita, A., T. Uchida, H. W. Mewes and T. Ataka, 1987. A rapid vapor-phase acid(hydrochloric acid and trifluoroacetic acid)hydrolysis of peptide and protein. *J. Biochem.*, **102**: 1593-1597.
- Williams, P. J. leB., 1975. Aspects of dissolved organic material in sea water. In 'Chemical Oceanography' vol 2. edited by J. P. Riley and G. Skirrow. Academic Press. London and San Diego, 301-363.
- Williams, P. M. and E. M. Druffel, 1987. Radiocarbon in the dissolved organic matter in the central North Pacific Ocean. *Nature*, **330**: 246-248.

Accepted August 17, 1995