

안정동위원소비 분석 기법의 이해: 시료의 전처리, 분석 및 자료의 해석과 적용

김민섭 · 황종연 · 권오상 · 이원석*

국립환경과학원 환경기반연구부 환경측정분석센터

Analytical Methodology of Stable Isotopes Ratios: Sample Pretreatment, Analysis and Application.
*Kim, Min-Seob, Jong-Yeon Hwang, Oh-Sang Kwon and Won-Seok Lee** (Environmental Measurement & Analysis Center, National Institute of Environmental Research, Environment Research Complex, Gyeongseo-dong, Seo-gu, Incheon 404-708, Korea)

Abstract This review paper was written to provide background information as well as future application for aquatic ecologists interested in using stable isotope. Stable isotope techniques has proved to be an extremely useful to elucidate a lot of environmental and ecological problems. Stable isotopes have been used as possible tracers to identify sources, to quantify relative inputs in a system. When utilized carefully, stable isotope tools provides apparent advantages for the scientists to find out the processes of material cycles in various environments and energy flows in natural ecosystems.

Key words: stable isotope, sample pretreatment

서 론

안정동위원소(SIA: Stable Isotope Analysis) 기법은 생태와 환경 학문에서 매우 강력한 도구로 활용되고 있다. 탄소($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$), 질소($^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$), 황($^{34}\text{S}/^{32}\text{S}$), 수소($^2\text{H}/^1\text{H}$), 산소($^{18}\text{O}/^{17}\text{O}$)의 안정동위원소비는 다양한 매개체에 따라서 그 범위가 다양하여, 1) 여러 가지 유기물의 공급원을 추적하고, 2) 하천, 호수, 연안, 해양 생태계에서 먹이망의 구조를 밝히고, 3) 수생태계내 영양염 등의 질소 순환을 이해하고, 4) 동물의 이동경로를 밝히고, 5) 고해양학 연구를 통해 과거의 생물분포 및 기후변동을 이해하는 등 다양한 분야에서 적용되고 있다.

비록 안정동위원소 기법이 생태학적, 생지화학적 과정을 설명함에 있어서 뛰어난 기법이지만, 국내에서는 시료 준비, 보관, 분석, 전처리 방법에 대한 정확한 정립이 아직 모호한 실정이다. 따라서 본 논문은 안정동위원소 분석에 관심이 있는 환경 및 수생태 연구자들에게 기본적인 지식을 제공하기 위하여 작성되었다. 안정동위원소 기법을 올바르게 활용하기 위하여 연구자들에게 시료 전처리 및 분석, 안정동위원소비 계산, 자료의 해석 및 적용에 관한 전반적인 지식을 제공하고, 더 나아가 자료의 잠재적인 해석의 오류를 피하기 위하여 안정동위원소비에 관한 전반적인 지식을 총체적으로 제공하고자 한다.

Manuscript received 11 November 2013, revised 12 December 2013,
revision accepted 23 December 2013

* Corresponding author: Tel: +82-32-560-8384, Fax: +82-32-560-7905,
E-mail: boystone@korea.kr

안정동위원소비의 측정

동위원소란 그것을 구성하고 있는 원자들의 원자번호

© The Korean Society of Limnology. All rights reserved.

This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>), which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provide the original work is properly cited.

Table 1. Relative abundances of the stable isotopes most common in ecological research in order of increasing mass (b: radio isotope).

Element	Isotope	Abundance (%)	Absolute abundance of the standard	International standard
Hydrogen	H ¹	99.985	² H: ¹ H=0.00015576	VSMOW (Vienna Standard Mean Ocean Water)
	H ²	0.0155		
Carbon	C ¹²	98.892	¹³ C: ¹² C=0.0112372	VPDB (Vienna Pee Dee Belemnite)
	C ¹³	1.108		
	C ^{14b}	10 ⁻¹⁰		
Nitrogen	N ¹⁴	99.635	¹⁵ N: ¹⁴ N=0.0036765	Air (Atmospheric nitrogen N ₂)
	N ¹⁵	0.365		
Oxygen	O ¹⁶	99.759	¹⁸ O: ¹⁶ O=0.0020052 (VSMOW) ¹⁸ O: ¹⁶ O=0.0020672 (VPDB)	VSMOW (Vienna Standard Mean Ocean Water)
	O ¹⁷	0.037		
	O ¹⁸	0.204		
Sulfur	S ³²	95.0	³⁴ S: ³² S=0.0450045	VCDT (Vienna Canon Diablo meteorite Troilite)
	S ³³	0.75		
	S ³⁴	4.21		
	S ³⁶	0.014		

가 같지만 구성 질량수가 다른 원소를 의미하며, 같은 수의 양성자를 가지고 중성자의 수만 다른 원자핵으로 이루어진 원소이다. 동위원소 중 방사성 붕괴를 하지 않는 원소, 즉 방사성을 띠지 않는 동위원소를 안정동위원소(Stable Isotope)라고 한다(Schimmel, 1993) (Table 1). 가벼운 동위원소가 원자량 및 에너지가 작은 유리한 조건 때문에 반응이 더 빨리, 더 많이 일어나게 된다. 이러한 이유로 안정 동위원소의 경우 반응의 생성물질에 가벼운 동위원소가 농축된다. 이때 농축정도는 1) 반응 매커니즘, 2) 반응이 진행된 정도, 3) 반응물질의 동위원소 조성, 4) 온도와 압력과 같은 환경조건 등에 따라서 다르게 반응한다(Urey, 1947). 이러한 반응의 차이로 인하여 가볍고(lighter) 혹은 무거운(heavier) 동위원소가 각각 농축(enrichment) 혹은 결핍(depletion)되는 결과를 야기하여 반응물에 비하여 생성물에 그 결과로 나타나게 된다(Peterson and Fry, 1987).

안정동위원소비는 질량분석기(IRMS: Isotope Ratio Mass Spectrometry)를 이용하여 측정한다. 대상 물질의 질량과 전하간의 비율(m/z)을 바탕으로 가스를 이온화하고 편자장대를 통과시켜 안정동위원소비를 측정하는 장치로서 전처리한 시료를 기기에 투입하면, Gas chromatograph를 이용하여 화합물을 분리한 후 질량분석기로 들여보내 성분별 안정동위원소비 조성을 측정한다(Fig. 1). 신뢰성 있는 정확한 안정동위원소비값을 얻기 위해서 다양한 표준시료가 개발되고 있다. 표준물질의 사용 이유는 서로 다른 분석기기의 사용에 의한 계통오차의 최소화를 위함이다. 안정동위원소 표준시료는 국제기구인 NIST (U.S. National Institute of Standards and

Technology), NBS (National Bureau of Standards)와 IAEA (International Atomic Energy Agency)에서 보급하고 있다. Table 1은 국제적으로 승인된 C, H, N, O, S의 안정동위원소 표준물질의 목록으로, 그 물질의 공급량이 충분하고, 동위원소 비가 균일하며, 널리 분포되어 있어 구하기 쉬운 장점이 있다(Coplen *et al.*, 1983).

표준물질들을 기기분석시에 자주 사용하게 되면 오염의 우려가 있기 때문에 시료 분석과정 중에는 일반적으로 사용하지 않고, 표준물질에 의하여 보정된 이차표준시료(running standard: EMA-P1, EMA-P2, urea, sulfanilamide)를 사용하게 된다. 이러한 이차 표준물질은 시료값의 범위에 맞게 선정되어야 하며, 측정 기기의 선형성이 보장되는 값의 범위를 벗어나게 되는 경우에는 최적의 실험 조건을 위해서 자체 제작이 필요하다(Park *et al.*, 2013).

안정동위원소비 계산은 항상 표준물질과 비교하여 계산되며, 그 상대적 차이를 다음과 같이 del값(δ)으로 나타낸다(McKinney *et al.*, 1950).

$$\delta(\%) = (R_{\text{시료}}/R_{\text{표준물질}} - 1) \times 1000$$

분석물질이 탄소일 경우, R은 분자량 $45(^{13}\text{C}^{16}\text{O}^{16}\text{O} + ^{12}\text{C}^{16}\text{O}^{17}\text{O})$ 와 $44(^{12}\text{C}^{16}\text{O}^{16}\text{O})$ 의 비율로 계산되며, R_{시료}는 시료의 $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ 의 비율, R_{표준물질}은 표준물질인 PDB의 $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ 비율을 나타낸다. 정확한 탄소 안정동위원소 값을 도출하기 위해서는 계산식에 포함된 ^{17}O 에 관한 교정인자가 요구된다(Craig, 1953). 이러한 비율(퍼밀: ‰)의 사용은 시료들간의 미세한 차이(‰)를 크게 증폭시킴으로써 분석기술과 동위원소 비율간의 비교를 가능하

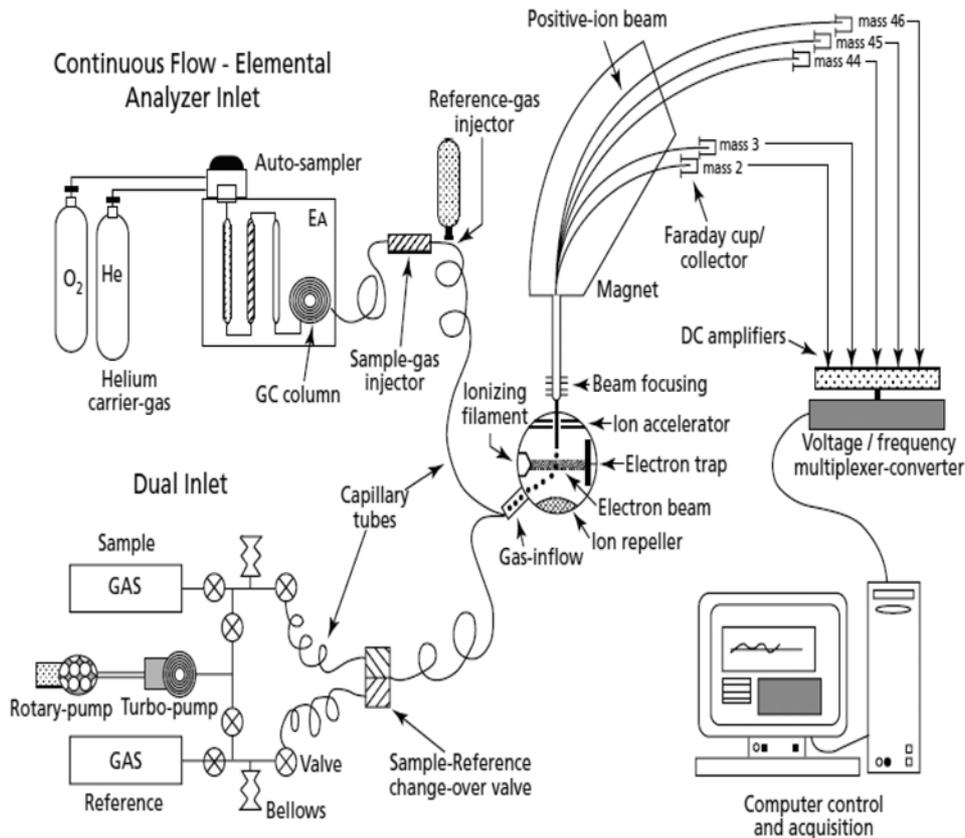


Fig. 1. Diagrammatic representation of the Continuous flow (top) and dual inlet (bottom) interfaces to the ion source of an isotope ratio mass spectrometer (center). Ionized gases leaving the ionization chamber are accelerated and focused (with the aid of the magnet) towards the collector array. Not to scale (Dawson and Brooks, 2001).

게 하고 미지의 문제점을 해결할 수 있는 기법을 제공한다 (Peterson and Fry, 1987). 여기서, δ 값이 0이면 시료의 동위원소비가 표준물질과 같다는 것을 의미한다. δ 값이 + (양수)이면 시료에 무거운 동위원소가 표준물질보다 많이 농축되었다는 뜻이며, δ 값이 - (음수)이면 시료에 무거운 동위원소가 결핍되어 표준물질보다 가볍다는 의미이다.

시료의 준비

시료내에 안정동위원소비를 분석하기 위한 전처리 기법은 EPA method, 공정시험기준 등과 같은 표준법이 존재하지 않는다. 다양한 연구자들이 기존의 문헌 자료를 통해서 실험방법을 공유하고, 시료의 특성에 맞게 적용시킨다. 안정동위원소비를 분석하기 위한 일반적인 전처리 기법의 순서는 아래와 같다.

- 1) 시료 채취 후 분석전까지 냉동보관
- 2) 동결건조를 통한 시료내의 수분제거
- 3) 시료의 균질화를 위한 분쇄과정
- 4) 1N 염산을 이용한 무기탄소 제거
- 5) 증류수 세척을 통한 시료내의 산 제거
- 6) 동결건조를 이용한 시료내의 수분제거
- 7) 안정동위원소비 분석

시료는 미세한 입자형태로 분쇄될 수 있을 정도로 충분히 건조가 되어야 한다. -80°C 에서 동결 건조기를 활용하여 수분을 제거한 후 막자사발 (mortar and pestle) 혹은 볼밀 분쇄기 (ball-mill grinder)를 활용하여 시료를 최대한 미세하고 균질한 입자 형태로 분쇄시켜 준다. 분쇄된 시료는 소정의 전처리 과정을 거쳐서 일정한 무게의 비율로 틴캡 (tin capsules)에 넣어서 구형 모형으로 썬는다. 최근에는 적은 소량으로 안정동위원소 분석이 가능하며, 정확한 무게를 기기에 입력해야만 정확한 탄소, 질소, 황 등의 원소 함량을 얻을 수 있다.

1. 시료 보관방법

냉동보관은 안정동위원소 분석용 시료를 보관함에 있어서 가장 이상적인 방법이다. Bosley and Wainright (1999)는 냉동시킨 시료와 동결건조한 시료 사이에서 특별한 차이를 발견하지 못하였으며, 식물플랑크톤의 경우 미리 450°C에서 5시간 동안 태워 유기물을 제거한 여과지에 시료를 여과한 후 냉동 보관하였을 때, 안정동위원소 측정값에 큰 영향을 미치지 못함을 밝혀내었다 (Hobson *et al.*, 1997). 그러나 장기간 시료를 보관할 경우에는 세포의 파괴 등으로 인해 안정동위원소비에 변이를 가져올 수 있으므로 (Fanelli *et al.*, 2010) 시료채취 후 바로 분석하는 것이 가장 효율적이다.

냉동 보관 외에 포르말린, 에탄올 등에 시료를 보관하는 방법은 크거나 혹은 작은 문제점들을 가지고 있다. 예를 들어, 포르말린 보관법은 안정동위원소비에 큰 영향을 미치지만 (Hobson *et al.*, 1997; Bosley and Wainright, 1999), 종에 따라서 일부 시료는 그 차이가 미비하거나 (Junger and Planas, 1994) 작은 편차의 범위내에 있다 (Sarakinis *et al.*, 2002). 에탄올은 안정동위원소비에 큰 영향을 주지 않는 것으로 알려져 있었지만 (Hobson *et al.*, 1997), Carabel *et al.* (2009) 등의 연구에 의해 탄소, 질소 안정동위원소비에 영향을 주는 것으로 보고되어졌다. 또한, 용액내의 분해를 예방하기 위해 넣는 완충제 (Lysis buffer solution, dimethyl sulphoxide 등)도 탄소, 질소 안정동위원소비에 영향을 줄 수 있다 (Hobson *et al.*, 1997; Bosely and Wainright, 1999).

2. 시료 건조 방법

건조에는 60°C에서 48시간 동안 건조하는 오븐 건조 방법과 -80°C에서 수분을 제거하는 동결 건조 방법이 있다. 동결 건조는 시료내 수분을 제거하는 가장 일반적인 방법으로 동위원소 분석에 적합한 방법이다 (Petersen and Anger, 1997; Tuck *et al.*, 1997; Carabel *et al.*, 2006). 시료내에 수분에 남아있는 HCO_3^- 형태의 이온이 탄소 안정동위원소비값에 영향을 줄 수 있기 때문이다. 또한 오븐 건조시, 고온에 약한 일부 세포 및 유기물의 분해 및 파괴과정이 동반 될 수 있다. 하지만, 일부 시료에서는 오븐 건조와 동결건조의 차이점을 발견하지 못하였다 (Kaehler *et al.*, 2001). 동결 건조는 시료내 수분을 완전 제거하는 효과가 있지만 오븐 건조는 (70°C)는 시료내 수분의 제거를 확인할 수 없으므로 (Carabel *et al.*, 2006), 동결 건조를 통해 시료내 수분을 제거하는 것이 적당하다고 판단된다.

3. 산을 이용한 무기탄소 제거 방법

탄소 안정동위원소비를 분석하기 위해서는 1N 염산을 이용하여 시료내에 포함되어 있는 탄산염 (CaCO_3)를 제거해주는 것이 일반적이다. 시료에 포함된 탄산염 혹은 유기물 조성에 따라서 산을 이용한 전처리 기법이 탄소 안정동위원소비에 영향을 미치지 때문이다 (Rau *et al.*, 1983; Jackson *et al.*, 1986; Hobson and Welch, 1992). 하지만 생물종과 시료내에 포함되어 있는 탄산염의 농도에 따라서 산을 이용한 처리 기법이 탄소 안정동위원소비에 미치는 영향은 다양하다. 갑각류 (crustaceans, Carabel *et al.*, 2006; Soreide *et al.*, 2006; Yokohama *et al.*, 2005), 대서양 저서생물 (Antarctic invertebrates, Jacob *et al.*, 2005), 복족류 (gastropods, Ng *et al.*, 2007), 곤충류 (insects, Serrano *et al.*, 2008) 등의 생물에서는 산을 이용한 무기탄소 제거 기법이 탄소 안정동위원소비에 영향을 미치지만, 해양 연체동물 (marine molluscs, Ng *et al.*, 2007), 새우류 (penaeids, Bunn *et al.*, 1995), 문어류 (octopods, Carabel *et al.*, 2006) 등의 생물에서는 탄소 안정동위원소비의 차이를 발견하지 못하였다. 그러나 산을 이용한 탄산염 제거 기법을 통해서 탄소 안정동위원소비 값의 변화가 적은 시료가 존재하고, 변화가 큰 시료 또한 존재하므로 정확한 값을 얻기 위해서는 시료에 산처리 기법을 적용하여야 한다고 판단된다.

산을 이용한 전처리 기법은 주로 염산 (hydrochloric acid)을 활용하지만, 산처리 기법이 질소 및 황 안정동위원소비에 영향을 줄 수 있다 (Bunn *et al.*, 1995; Carabel *et al.*, 2006; Kim *et al.*, unpublished). 이러한 문제점을 보완하기 위해서 탄소 안정동위원소 분석용 시료는 산처리 기법을 적용하며, 질소 및 황 안정동위원소 분석용 시료는 전처리 기법을 적용하지 않은 시료를 활용한다 (Pinnegar *et al.*, 2001; Kim *et al.*, unpublished). 이러한 방법은 2번 이상의 분석이 필요하기 때문에 많은 분석 비용과 시간이 요구되지만, 정확한 자료를 얻기 위해서는 필요한 수순이다.

4. 시료내 지질제거

시료내의 지질함량은 탄소 안정동위원소비에 큰 영향을 끼치며 (McConnaughy and McRoy, 1979; Tieszen *et al.*, 1983), 생물의 부위별에 포함된 지방함량에 따라서 최대 9%까지 가벼워질 수 있다 (DeNiro and Epstein, 1977). 이러한 지방산 함량은 계절적으로, 먹이 풍부도 및 재생산기간 (Smyntek, 2006), 종의 차이 (Persson and Vrede, 2006)에 의해서 좌우된다. 그러므로 안정동위원

소비 분석을 위한 생물 시료내의 지질제거는 자료의 정확성을 향상시켜 줄 수 있다. 그러나 지질제거 방법은 질소 및 황 안정동위원소비의 값이 무거워지는 오류를 범할 수 있다(Smyntek, 2006; Sweeting *et al.*, 2006; Kim *et al.*, unpublished). 그러므로 시료의 질소 및 황 안정동위원소비 분석을 위해서는 지질제거 방법이 적용되지 않은 시료가 요구된다. 많은 연구자들이 이 문제를 해결하기 위하여 chloroform-methanol (Bligh and Dyer, 1959) 혹은 hexane-isopropanol (Radin, 1981) 방법을 활용하여 시료내의 지질을 추출한 후 분석한다. 반면에, 지질을 추출하지 않고 아래와 같은 방정식을 활용하여 탄소 안정동위원소비를 보정해주는 방법이 이용되기도 한다(Rau *et al.*, 1992; Kline and Willette, 2002).

$$\delta^{13}\text{C} = \delta^{13}\text{C} + 6\{-0.207 + 3.9/[1 + 287(1 + 1/(0.246\text{C}:\text{N} - 0.775))/93]\}$$

이러한 방법은 McConnaughey and McRoy (1979)에 의하여 처음 고안되어졌으며, 최근에는 생물종 및 지질함량에 따라서 다양한 변수가 고려된 연구가 진행되고 있다(Fry, 2002; Post *et al.*, 2007).

환경에서의 다양한 안정동위원소

1. 탄소 안정동위원소

탄소 안정동위원소는 대부분 ^{12}C (98.9%)와 ^{13}C (1.1%)의 형태로 존재하며, 미국 South Carolina 백악기 지층 Peedee 층에서 수집한 *Belemnitella americana* (cretaceous belemnite: 백악기의 전석)로부터 생성된 탄산칼슘을 사용하여 탄소 안정동위원소비를 측정한다(Craig, 1957). 탄소 안정동위원소비는 생물기원 메탄으로부터 동물의 조직, 식물 등에 이르기까지 그 범위가 100%까지 넓은 범위에 걸쳐 존재한다. 육상식물은 대기중의 CO_2 해양생물의 경우에는 해수에 녹아있는 용존무기탄소(DIC)가 전체적인 탄소 안정동위원소비의 변동에 영향을 미친다(Fry, 1988). 육상 식물의 경우에는, 대기중의 CO_2 를 이용한 광합성 기작의 차이로 인하여 식물의 탄소 안정동위원소비의 변동을 야기한다(Smith and Epstein, 1971). C_3 계열 식물(Calvin cycle: $-35 \sim -20\%$)과 C_4 계열 식물(Hatch-Slack cycle: $-18 \sim -7\%$)은 서로 다른 광합성 과정을 가지기 때문에 탄소 안정동위원소비의 차이를 가져오며(Sage and Monson, 1999), 광합성 과정에서 C_3 식물이 C_4 , CAM 계열 식물보다 심한 분별작용이 발생하기 때문에 탄소 안정동위원소비가 무거운 값을 나타

낸다(Farquhar, 1983). CAM (Crassulacean acid metabolism) 계열의 광합성 방식을 가지는 식물은($-22 \sim -10\%$)은 C_3 식물 및 C_4 식물과 탄소 안정동위원소비가 겹친다(O'Leary, 1988). 해양 생물의 경우에는 탄소 안정동위원소비가 $-18 \sim -30\%$ 로 다양하며, 고위도에 위치할수록 가벼운 값을 가진다(Rau *et al.*, 1982). 이처럼 광합성에 필요한 인자인 이산화탄소의 존재 형태의 차이로 인해서 육상 식물(가스상, CO_2)과 해양 생물(용존상, HCO_3^-)의 탄소 안정동위원소비의 차이가 발생하며, 이를 활용하여 생태계내 유기물 기원 파악, 먹이사슬 연구 등이 이루어지고 있다(Maberly *et al.*, 1992).

2. 질소 안정동위원소

질소 안정동위원소는 대부분 ^{14}N (99.6%)와 ^{15}N (0.4%)의 형태로 존재하며, 가장 거대한 질소 저장고인 대기중의 질소(N_2)를 이용하여 질소 안정동위원소비를 측정한다(Mariotti, 1983). 대기중 질소의 안정동위원소비는 0%이며, 식물에 의한 생물학적 질소 고정(biological N_2 fixation) 과정중의 동위원소 분별은 매우 작아서 질소 안정동위원소비가 0%에 가깝다(Fry, 1988). 대기중의 질소를 이용하지 않는 식물은 질소 안정동위원소비가 다양한 범위를 나타내며, 암모늄(NH_4^+) 또는 질산염(NO_3^-) 등과 같은 질소원의 기원에 영향을 받는다. 질산화 과정은(Nitrification) 암모늄(ammonium)이 질화 박테리아에 의해 산화되어 아질산염(nitrate)을 거쳐 질산염(nitrate)으로 변화되는 것이다. 질소 저장고에 암모늄 이온의 농도 및 반응 속도 등에 따라서 최대 35%까지 분별작용이 나타난다(Binkley *et al.*, 1985). 탈질소 과정(Denitrification)은 질산염이 환원되어 아질산염, 산화질소 및 아산화질소를 거쳐 가스 상태의 질소로 된다. 이때 질소 안정동위원소비는 기질에 비해서 -20% 까지 가벼워진다(Perez *et al.*, 2000, 2001). 하버 제조법(Haber process)으로 만들어진 합성 비료의 경우 질소 안정동위원소비는 0%에 가까우며, 가축 분뇨에서 발생한 암모니아 화합물로 만들어진 합성 비료는 20~30%의 무거운 질소 안정동위원소비를 나타내고 있어서 이 차이를 이용한 질소 오염의 기원을 추적하는 연구가 진행되어졌다(Costanzo *et al.*, 2001).

3. 황 안정동위원소

황 원소는 ^{32}S , ^{33}S , ^{34}S , ^{36}S 의 4개의 동위원소가 존재하며 ^{32}S (95%), ^{34}S (4.2%)가 대부분의 비율로 존재하며, 자연계에 존재비가 높은 $^{34}\text{S}/^{32}\text{S}$ 의 비를 주로 사용한

다. 황 안정동위원소비는 CDT (Canyon Diablo troilite: 협곡 디아블로 운석중의 황철석 FeS)를 표준물질로 사용한다(Thode *et al.*, 1961). 황 안정동위원소비는 자연 상태에서 $-50\sim 50\%$ 의 범위를 나타내며, 열수구 지역은 $1\sim 8\%$ 의 범위를 나타낸다. 황 안정동위원소비의 변동은 주로 생물학적인 분별과정에 의하여 기인한다(Bottrell and Raiswell, 2000). 황 환원 박테리아에 의해서 황산염(SO_4^{2-})이 황화물(H_2S)로 변하는 화학적 작용을 통해서 기작과 생성물 사이에서 큰 분별작용을 일으키며, 결과적으로 황화물의 황 안정동위원소비는 -40% 까지 가벼워질 수 있다(Habicht and Canfield, 1997). 육상 및 해양 식물은 황산염을 흡수하는 과정에서 황 안정동위원소비의 미비한 분별작용을 나타내기 때문에 무산소 환경의 지시자로서 사용되기도 하며, 먹이사슬에서 해양기원 혹은 담수기원 황산염을 판별하는 데 사용된다(MacAvoy *et al.*, 1998).

4. 수소 및 산소 안정동위원소

수소는 ^1H (99.98%), ^2H (0.01%)의 2가지 형태의 안정동위원소로 존재하며, 산소는 3가지 형태지만 ^{16}O (99.7%)와 ^{18}O (0.2%)의 비가 많이 사용된다. 산소 및 수소 안정동위원소는 태평양에서 물을 수집·증류하여 제작한 VSMOW (Vienna Standard Mean Ocean Water)를 표준물질로 사용한다(Craig, 1957). 해수의 경우에 수소와 산소 안정동위원소비는 일정하게 0‰에 근접하며, 담수 혹은 빙산이 녹은 물이 섞이면 값의 변동을 가져온다. 물수소 및 산소 안정동위원소비는 증발과 응축의 과정을 거치면서 분별작용으로 인해 값의 변동을 가져오며 $\delta^2\text{H} = 8\delta^{18}\text{O} + 10\%$ 인 관계식을 성립시킨다. 이를 지구 순환수선(GMWL: Global Meteoric Water Line)이라 일컬으며(Dansgaard, 1964), 지역적이고 계절적인 변화가 뚜렷이 나타나고 있어서 강수의 산소, 수소 안정동위원소비를 예측하는 모델을 만들어 사용중이다(www.waterisotopes.org). 산소 및 수소 안정동위원소비는 온도효과(temperature effect), 계절효과(seasonal effect), 고도효과(altitude effect), 우량효과(amount effect) 등에 의해 영향을 받는다. 즉, 저위도로 갈수록, 고도가 높아질수록, 우량이 많을수록, 내륙으로 갈수록 안정동위원소비가 작아진다. 수소 안정동위원소비는 해수 0‰, 초생수 $-40\sim -80\%$, 순환수 $-50\sim 350\%$, 남극지방 $-500\sim 100\%$ 등으로 600% 이상의 편차를 보이며, 산소 안정동위원소비는 해수 0‰, 순환수 $-45\sim 10\%$, 현무암 8~9‰ 등으로 100% 정도의 비교적 적은 편차를 보인다(Gat *et al.*, 2001). 물을

흡수하는 식물의 경우에는, 수소 안정동위원소비의 생물학적인 분별작용이 거의 발생하지 않기 때문에 강수의 기원을 추적하는 기법으로 많이 활용되고 있다(Dawson and Ehleringer, 1993).

환경에서의 안정동위원소비 적용사례

1. 생태계 먹이사슬 연구

생태계 먹이사슬 내에서 섭식자들은 먹이원을 섭취할 때 탄소 안정동위원소비의 분별을 심하게 일으키지 않는다. DeNiro and Epstein (1978)은 섭식자의 탄소 안정동위원소비가 상대적으로 먹이원에 비해서 약 1‰ 정도 농축된다는 것을 밝혀내었다(평균 $0.8 \pm 1.1\%$, 범위 $-0.6\sim +2.7\%$) (Fig. 2). 그 결과, 섭식자의 체내의 탄소 동위원소비 조성은 섭취한 탄소의 조성에 거의 가까워 먹이 공급원을 추정하는데 이용할 수 있다. 하지만 섭식자의 탄소 안정동위원소비가 먹이원에 비해 평균적으로 1‰ 농축되는 경향은 생물 중 (Post, 2002) 및 서식 환경에 따라서 다양하게 나타나기도 한다(Vander Zanden and Rasmussen, 2001). 농축 정도가 거의 나타나지 않는 경우도 있으며(Focken and Becker, 1998; Post, 2002), 서식 환경에 따라서 담수(0.2‰), 연안(0.5‰), 근해(0.8‰), 외양(1.1‰) 등 다양한 경우도 보고되고 있다(France and Peters, 1997).

반면에, 질소 안정동위원소비의 경우, 섭식자는 소비자에 비해서 상대적으로 3~5‰ 농축되는 경향을 보이

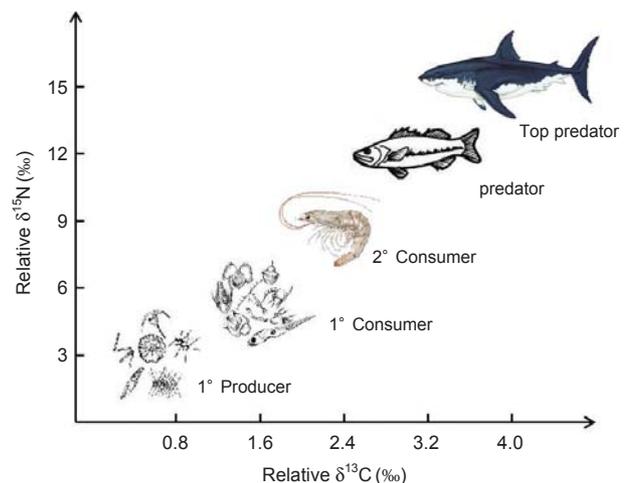


Fig. 2. Schematic food web in which $\Delta^{15}\text{N}$ and $\Delta^{13}\text{C}$ represent the trophic enrichment factor.

고 있다(평균 $3.0 \pm 2.6\%$, 범위 $-0.5 \sim 9.2\%$, DeNiro and Epstein, 1981; Minagawa and Wada, 1984). 이러한 농축 경향은 종과 서식환경에 따라 다양하지만(Vander Zanden and Rasmussen, 2001), 많은 문헌들이 실험실 및 현장 실험을 통해서 3~5% 정도로 거의 일치한다고 보고하고 있다(Post, 2002). 생물의 질소 안정동위원소비는 영양단계가 올라갈수록 더욱더 증가하며, 생물들이 우선적으로 가벼운 ^{14}N 이 결핍된 질소를 배출하기 때문에 먹이사슬내에서 질소 안정동위원소비가 무거워지는 경향을 보이는 것이다(DeNiro and Epstein, 1981; Minagawa and Wada, 1984). 이를 통해 생태계내에서 영양단계를 추적하는데 활용할 수 있다.

안정동위원소비를 활용한 먹이망 연구는 담수생태계(Fisher *et al.*, 2001; Jepsen and Winemiller, 2002), 연안생태계(Peterson *et al.*, 1985; Hughes *et al.*, 2000), 해양생태계(Fry, 1988; Davenport and Bax, 2002) 등에서 활발히 진행되고 있다. 또한, 국지적인 측면에서, Rau *et al.* (1991)는 극지방의 웨델해에서 생물의 탄소 안정동위원소비가 매우 가벼워지는 것을 관찰하기도 하였다. 갈색송어의 개체 발생학적인 먹이 변화(brown trout, Grey, 2001), 농어(dusky grouper, *Epinephilus marginatus*, Renones *et al.*, 2002), 곤들메기류(brook charr, Power *et al.*, 2002), 보리새우(opossum shrimp, Branstrator *et al.*, 2000), 이주하는 2년생 연어(migrating salmon smolts, Kline and Willette, 2002) 및 갯지렁이(deposit-feeding polychaetes, Hentschel, 1998) 등의 먹이 변화를 밝혀내었다. 그러나 일부 과학자들은 어류의 개체 크기와 탄소 및 질소 안정동위원소비가 높은 상관관계가 있음에도 불구하고(Guiger *et al.*, 2002), 개체발생학적인 먹이원 변화를 관찰하지 못하기도 하였다(Vander Zanden *et al.*, 1998). 호소수에서 새로운 종(외래종)의 침입으로 인한 먹이원 및 먹이망 구조의 변화는 안정동위원소 기법으로 오랫동안 연구되어져 왔다(Kidd *et al.*, 1999). 뿐만 아니라 송어들이 종족끼리 잡아먹을 수 있다는 연구(Harvey *et al.*, 2002)와 우기에는 육지기원 유기물이 건기에는 해양기원 유기물이 섬에서 서식하는 설치류와 초시류(Stapp *et al.*, 1999)에 의해 운반되어 진다는 연구도 진행되었다.

국내에서도 탄소와 질소 안정동위원소비를 활용한 먹이사슬 연구의 사례가 2000년대 이후로 다양하게 보고되고 있다. 연안지역에서 저서 미세조류의 중요성(Kang *et al.*, 2001) 및 저서 미세조류와 저서생물간의 관계(Kang *et al.*, 2003), 남해 연근해에서 서식하는 굴(*Crasostrea gigas*)의 먹이원 규명 연구(Yang *et al.*, 2009),

서식지의 차이에 따른 저서생물의 유기물 이용률의 변화(Yun *et al.*, 2006), 하구 갯벌에서 저서 무척추 동물의 유기물 기원 연구(Shin *et al.*, 2010), 부영양화 저수지에서 동물플랑크톤의 군집변동 연구(Lee *et al.*, 2010), 탐진강에 서식하는 어류의 먹이원 규명 연구(Gal *et al.*, 2012), 동물플랑크톤의 서식 환경에 따른 먹이원 변동 연구(Choi *et al.*, 2013) 등의 연구가 활발히 진행되고 있다.

2. 생물의 이동경로 연구

담수 및 해양기원 영양염 및 유기물들은 각각 그 기원이 다르기 때문에 탄소(Craig, 1953), 질소(Owens, 1987), 황(Mekhtiyeva *et al.*, 1976)의 안정동위원소비가 뚜렷한 특징을 보이고 있다(Peterson and Fry, 1987). 이러한 차이점으로 인하여 철새 혹은 회유어들의 이동경로를 파악할 수 있는 주요한 지시자로서 활용되고 있다. 예를 들어, 담수에서 포획된 강을 거슬러 올라가는 북극 곤들메기류 물고기(Anadromous Arctic charr, *Salvelinus alpinus*), 유럽산 목새송어속 갈색송어(brown trout), 민물송어(brook trout)들이 실은 해양에서부터 이주해 온 것이라는 것을 탄소(McCarthy and Waldron, 2000), 질소(Doucett *et al.*, 1999a), 황(Doucett *et al.*, 1999b) 안정동위원소비를 활용한 연구를 통하여 밝혀내었다. 또한 이주성 혹은 회유성 생물들인 열목어과 담수산 송어(whitefish) 및 북극청어(Arctic cisco, *Coregonus autumnalis*) (Hesslein *et al.*, 1991; Kline *et al.*, 1998), 바다표범(harbour seal, *Phoca vitulina*, Smith *et al.*, 1996, 지방산 분석을 병행함), 청어류(alsoisids, *Alosa* spp, MacAvoy *et al.*, 2000, 이골의 스트론튬 분석을 병행함), 철새성 조류(Lott *et al.*, 2003) 등이 이동중에 섭식한 먹이가 해양기원인지 혹은 담수기원인지에 관한 연구가 활발히 진행되었다.

국지적인 작은 지역내의 범위에서도 동위원소비의 차이는 존재한다. 호소수내에서도 유기물 기원이 다르다면, 탄소(자생기원, 외부기원) 및 질소(질산염 기원: 탈질, 비료, 퇴비 등) 안정동위원소비의 차이가 뚜렷하기 때문에 에너지 및 영양염 동화율에 따라서 그곳에 서식하는 생물들의 거동 등을 밝혀낼 수 있다. 예를 들어, Takai and Sakamoto (1999)와 Maruyama *et al.* (2001)는 일본 Biwa 호에서 서로 다른 종인 메기(catfish, *Silurus biwaensis*)와 망둥어(landlocked goby)의 안정동위원소비 차이를 이용하여 그들의 이동경로가 서로 다르다는 것을 밝혀내었다. 또한, Lee *et al.* (2002)는 대만 연안에서 야생 및

키워서 풀어놓은 전복(abalone, *Haliotis diversicolor*)의 이동경로를 파악하였고, Hobson *et al.* (1994)은 북태평양 지역에서 연안과 해안 사이를 이동하는 바닷새의 먹이섭식 경로를 연구하였다. 안정동위원소 기법은 발트해에서(Baltic sea) 초년생 청어(herring, *Clupea harengus*), 유럽산 작은 청어(sprat, *Sprattus sprattus*), 빙어(smelt, *Osmerus eperlanus*), 농어(pikeperch, *Stizostedion lucioperca*) 등의 이동경로를 밝히는 데에도 큰 기여를 하였다(Hansson *et al.*, 1997). 또한, 캘리포니아의 걸프만 인근 섬에서 서식하는 잡식성 사슴쥐(mice, *Peromyscus maniculatus*)가 섬 내부가 아닌 연안지역의 저서생물을 섭식한다는 내용을 안정동위원소비 기법을 이용하여 밝혀내었다(Stapp and Polis, 2003).

물의 수소 안정동위원소비는 전 세계적으로 지형학적 구분이 뚜렷하게 나타나기 때문에(latitude, altitude, continental effect) 강수의 수소 안정동위원소비를 활용하여 전세계적인 수문학적인 물의 순환 연구가 가능하며, 이를 기반으로 'Isoscape'를 만들어(Bowen and Revenaugh, 2003) 동물들의 이동경로 연구에 다양하게 활용되고 있다(Hobson *et al.*, 2004; Bowen *et al.*, 2005). 예를 들어, 조류의 깃털의 수소 안정동위원소비는 섭식하는 물의 수소 안정동위원소비를 반영하기 때문에 북미지역에서 철새의 이동경로 연구에 활용되었다(Chamberlain *et al.*, 1997; Hobson and Wassenaar, 1997). 유럽 지역의 경우에는 각국의 위도 차이가 적기 때문에 수소 안정동위원소비를 활용한 이동경로 추적에 어려움이 있다(Hobson *et al.*, 2004). 그럼에도 불구하고, 유럽지역에서 조류의 깃털과 부리의 수소 안정동위원소비를 활용하여 조류의 이동경로 연구가 진행되었으며(Bearhop *et al.*, 2005), C₃ 계열 식물이 우점하는 지역 혹은 C₄ 식물이 우점하는 지역의 차이로 인해 발생하는 탄소 안정동위원소비의 변화를 이용하여 조류의 거주지역을 밝혀내기도 하였다(Neto *et al.*, 2006). 또한, 제왕나비(Monarch butterfly)의 수소 안정동위원소비 및 지형적인 'Isoscape'를 비교하여 미국의 동부지역을 횡단한다는 사실을 밝혀내었다(Hobson *et al.*, 1995). 그러나 지구 온난화 및 지속적인 기후 변화의 영향으로 강수의 수소 안정동위원소비의 변화를 야기하여 조류 깃털의 수소 안정동위원소비와 차이가 관찰되기도 하였다(Wunder and Norris, 2008). 국외에서는 안정동위원소비를 활용한 생물의 이동 경로 연구가 활발히 진행되고 있지만, 국내에서는 이를 활용한 연구가 미흡한 실정이다. 그러나 조류의 발목에 전자기기를 부착하거나 위의 내용물을 통하여 이동 경로를 파악하는 연구가 진행되고 있다.

3. 유기물의 기원 및 오염원 추적 연구

수생태계내에서 높은 영양단계에 있는 생물은 먹이사슬을 통한 오염물질의 축적이 잘 이루어져 있어서, 질소 안정동위원소비와 수은(Cabana and Rasmussen, 1994; Power *et al.*, 2002; Kim *et al.*, 2012) 및 유기오염계 화합물(Kidd *et al.*, 1998) 같은 오염물질과 높은 상관관계를 발견하기도 하였다. 이러한 결과를 바탕으로 예측가능한 모델링을 개발하여 높은 영양단계에 위치한 섭식자와 비슷한 위치의 외래 유입종의 체내 오염물질의 농도를 비교하는 연구가 진행되기도 하였다(Swanson *et al.*, 2003). 그러나 질소 안정동위원소비와 유기오염 물질 농도간의 높은 상관관계는, 때때로 pH(Greenfield *et al.*, 2001)와 같은 환경 요소들로 인하여 변이를 가져오는 경우도 있다. 또한 생물 체내의 친지성 오염물질농도(Power *et al.*, 2002) 또는 오염물질의 체내 제거속도(Broman *et al.*, 1992)에 의해서도 질소 안정동위원소비와 유기오염 물질 농도와의 관계에 영향을 미친다.

질소 안정동위원소비는 수생태계내에서 질산염의 유입 및 거동을 연구함에 있어서 매우 효율적이다. 강을 거슬러 올라가는 연어(Kline *et al.*, 1990; Chaloner *et al.*, 2002), 청어(MacAvoy *et al.*, 2000, 2001), 바닷새(Stapp *et al.*, 1999)들에 의해 운반되어지는 해양기원 영양염 및 유기물들이 하천, 호수, 연안, 육지 등의 생태계에 보조 에너지로서 공급된다는 것이 밝혀졌다. 질소 안정동위원소비를 이용하여 인간의 활동에 의하여 수생태계에 미치는 영향도 연구되어지고 있다. 인간이 만든 하수, 오물 등은 일반적으로 자연에서 생성되어진 유기물보다 질소 안정동위원소비가 상대적으로 무겁기 때문(Heaton, 1986; Lake *et al.*, 2001)에 이에 영향을 받은 연안 및 외양의 생물들의 안정동위원소비가 농축되어 발견되어지기도 한다(Estep and Vigg, 1985; Hansson *et al.*, 1997; Wayland and Hobson, 2001; Lee *et al.*, 2013). 식물성 플랑크톤을 주요 먹이원으로 하는 이매패류들은 외부기원 유기물의 질소 안정동위원소비 변동을 반영하며(Fry, 1999; Lake *et al.*, 2001; Seo *et al.*, 2013), 주변 거주지의 인구 밀집도와 높은 상관성이 있다(Cabana and Raasmussen, 1996). 유출 펄프 공장(Wayland and Hobson, 2001), 생선 찌꺼기(Anderson *et al.*, 1999), 양식공장(Yamada *et al.*, 2003) 등에서 나오는 폐수, 오수들이 각각 고유의 안정동위원소비를 가지고 있기 때문이다. 홍수 혹은 비료의 용출로 수로에 들어간 질산염은(~8%) 상대적으로 대기로부터 기원한 질소 혹은 합성 비료(~0%)보다 무거운 질소 안정동위원소 값을 가지기 때

문에 오염물질의 기원을 밝힐 수 있다(Peterson and Fry, 1987).

생물들이 성장에 필요한 2가지 혹은 그 이상의 에너지 기원을 가지고 있을 때, 동위원소 혼합모델(mixing model)은 그 기원들의 상대적인 기여도를 판별하는데 사용이 되었다. 예를 들어, 알을 낳기 위해 대서양 연어(Pacific salmon, *Oncorhynchus* spp., Kline *et al.*, 1990) 혹은 청어류(MacAvoy *et al.*, 2000)들이 강으로 회유하였을 때, 해양기원의 먹이원과 강 기원의 먹이기원이 어느정도 어류들에게 기여하는지를 혼합모델을 사용하여 밝혀내었다. 또한 동위원소 혼합모델은 외부기원 유기물 및 영양염이 하안으로 어느정도 유입되는지를 판별하는데 이용되어졌으며(Wayland and Hobson, 2001), 다양한 먹이원들이 어류(Genner *et al.*, 1999; Gal *et al.*, 2012), 하루살이(mayflies, *Baetis* spp., Hershey *et al.*, 1993), 가재(crayfish, *Oronectes* sp., Whitley and Rabeni, 1997), 저서생물(invertebrates, Hart and Lovvorn, 2002; Kang *et al.*, 2003), 이매패류(manlia clam, Seo *et al.*, 2013)들에게 기여하는 정도를 판별하는 기법으로 널리 사용되어 왔다.

다중 동위원소 혼합모델(Multiple-isotope mixing model)은 유기물이 단일 먹이원으로부터 동일한 비율의 탄소와 질소를 얻는다는 암시적 가정 때문에 비판받아 왔다(Phillips, 2001; Phillips and Gregg, 2001). 더군다나 혼합모델은 먹이원이 중복된 동위원소비를 가지거나 높은 변이성 때문에 사용하지 못하는 경우도 종종 발생하였다(France, 1995b).

담수생태계에서 외부기원물질(allochthonous: terrestrial source)과 자생기원물질(autochthonous: phytoplankton source)이 생산성에 어느 정도 기여하는지를 판별하기 위해 혼합모델이 적용되어지기도 하였다(Cloern *et al.*, 2002).

예를 들어, 하천에서 생물들의 탄소 기원을 결정하는 모델 방정식은 다음과 같다(Fry and Sherr, 1984; Junger and Planas, 1994; Doucett *et al.*, 1996).

$$\% \text{ allochthonous} = \frac{(\delta^{13}\text{C}_{\text{fish}} - \delta^{13}\text{C}_{\text{autochthonous}} - f_x)}{(\delta^{13}\text{C}_{\text{allochthonous}} - \delta^{13}\text{C}_{\text{autochthonous}})} \times 100$$

여기서 f 는 영양농축 계수(trophic enrichment factor, 일반적으로 0~1‰, DeNiro and Epstein, 1978; Post, 2002), x 는 생물의 영양위치, $\delta^{13}\text{C}_{\text{allochthonous}}$ 와 $\delta^{13}\text{C}_{\text{autochthonous}}$ 는 각각 외부기원(terrestrial leaf matter) 및 자생기원(in-stream algae)의 대표적인 탄소 안정동위원소비 값이다(end member).

서로 다른 동위원소비를 가지는 2가지의 먹이원이 존재할때, 저서생물(Junger and Planas, 1994; Doucett *et al.*, 1996a; Hury *et al.*, 2001) 및 어류(Perry *et al.*, 2003) 등의 먹이원을 성공적으로 밝혀낸 연구가 이루어졌다. 그러나 다양한 먹이원이 존재하는 경우에는 생물종 및 서식지의 위치에 따라서 좌우되므로(Zah *et al.*, 2001) 먹이원을 정확히 찾지 못하는 경우도 보고되었다(France, 1995c). 또한, 유기물 기원, 먹이기원 또는 영양염 기원을 추적하는 연구를 수행함에 있어서 하나의 안정동위원소비 뿐만 아니라 다양한 안정동위원소비(C, N, S, O, H)를 같이 활용한다면 더 많은 자료를 제공받을 수 있다(France, 1997; Leite *et al.*, 2002).

4. 안정동위원소 라벨링 기법

안정동위원소 라벨링 기법은 원소의 화학적 변화과정을 연구하거나 혹은 무기물에서 유기물로 변환되어 만들어지는 새로운 생성물질에 관한 연구들에 많이 응용되고 있다. 이러한 추적자 원소들은 자연 상태에서 방사붕괴를 하지 않으며 환경에 무해하고 사용함에 있어서 특별한 자격증이 요구되지 않는다는 장점이 있지만, 가격이 상당히 높은 단점이 있다.

예를 들어, 질소 라벨링 기법은 서로 다른 기원으로부터 오는 영양염을 구분하기가 불명확할때, 안정동위원소 라벨링 기법(^{15}N 을 농축하는 기술)을 적용한 추적자 실험 기법이 많이 활용되었다. 툰드라 강(Peterson *et al.*, 1997), 열대우림지역(Merriam *et al.*, 2002), 대초원의 하천수(Evans-White *et al.*, 2001), 하구지역(Hughes *et al.*, 2000) 등의 지역에서 질소 순환 연구가 추적자 실험($^{15}\text{NH}_4^+$, $^{15}\text{NO}_3^-$)을 통하여 이루어졌다. 또한, 아미노산을 동위원소적으로 라벨링하여 유기물에게 섭취시킨 후 체내로의 동화율을 측정하는 연구에 활용되기도 하였다(Epp *et al.*, 2002). 탄소 라벨링 기법은 주로 생물이 새로이 생성하는 유기물질에 관한 연구(1차 생산성, Lee *et al.*, 2008) 혹은 식물의 성장능력 평가(Kim *et al.*, 2008; Nayar *et al.*, 2009) 등의 연구에 활용되어진다. 또한, 하천생태계에서 1차 생산자들을 라벨링하여 소비자들의 먹이 기여도를 연구하였고(Witte *et al.*, 2003), 라벨링된 탄소 유기물을 활용하여 심해저 저서 생물들 사이의 물질순환을 연구하였다(Parkyn *et al.*, 2005).

그 밖에 물의 산소와 수소 안정동위원소를 라벨링하여(DLW: doubly labeled water), 동물의 에너지 신진대사 연구 혹은 물의 섭취와 배출 등에 관한 연구가 이루어지고 있다. 동물에게 라벨링된 물을 섭취시킨 후 혈액

시료내의 수소 안정동위원소비 분석을 통해 하루동안 물의 섭취와 배출량을 알아낼 수 있으며, 체내의 물과 배출하는 이산화탄소의 산소 안정동위원소 분석을 통해 에너지 효율량을 구할 수 있다(Sparling *et al.*, 2008). 이러한 DLW 기법은 조류의 이동경로를 추적하고 생태계내에서 에너지의 순환 연구에 활용되기 한다(Kvist *et al.*, 2001).

연구 방향

안정동위원소 기법은 유기물의 기원을 추적하고, 육상 및 수생태계에서 먹이망의 구조를 밝히고, 동물의 이동경로를 밝히는 등 다양한 분야에서 적용되고 있다. 선진 외국에서는 1950년대 초반부터 다양한 연구 분야에서 안정동위원소비를 활용한 연구가 활발히 진행되었지만, 국내에서는 기기를 보유한 외국기관에 시료를 의뢰하여 연구가 진행되었기 때문에 연구분야의 진척이 상당히 더디었다. 그러나 1990년대에 들어서서 안정동위원소 분석기가 도입된 후에는 국내 분석기술의 수준이 높아지면서 C, N, S, O, H 등의 원소를 활용하여 지구과학, 환경과학, 식품학 및 법의학 분야에서 활발한 연구가 진행되고 있다. 그러나 이러한 기법은 화합물의 총 원소에 대한 분석만이 가능하였기 때문에, 극미량에 대한 성분 분석이 어려워 복잡한 환경변화를 설명하기에는 부족한 단점이 있었다. 최근에는 이러한 부분을 보완하기 위해 가스크로마토그래프(GC)와 안정동위원소 질량분석기(IRMS)를 결합한 성분별 동위원소 분석기술(CSIA: Compound Specific Isotope Analysis)이 발달하고 있다. GC-IRMS 기기는 복합성분물질을 성분별로 분리하여 안정동위원소비를 측정할 수 있으며, 미량 시료에 대한 정성 및 정량 분석이 가능하기 때문에 식품의 원산지 판별 및 수문학 연구(Weber *et al.*, 1997; Wang *et al.*, 2002), 생태계 먹이망 연구(Pel *et al.*, 2004; O'Brien *et al.*, 2005; Chamberlain *et al.*, 2006), 유기오염물질의 오염원 추적 연구(Wilcke *et al.*, 2002; Sun *et al.*, 2003; Kuder *et al.*, 2005), 가스하이드레이트의 메탄생성 연구(Crossman *et al.*, 2005; Yang *et al.*, 2011; Lee *et al.*, 2013) 등의 연구에 많이 활용되고 있다. 이와 같이 선진 외국에서는 이미 GC-IRMS가 환경과학, 식품학, 의학, 법의학 분야에서 수많은 기관 및 대학 연구소들이 적극 활용되고 있지만 국내에서는 국립환경과학원, 한국기초과학지원 연구원, 국립과학수사 연구소, 해양경찰청, 한국해양과학기술원, 한양대학교 해양환경융합과 등 일부

기관 및 연구소에서 기기를 보유하고 연구가 진행중인 상태이다. 추후 국내 연구자들이 EA-IRMS 연구 분야뿐만 아니라 GC-IRMS 연구분야를 적극 홍보하여 유기화합물이 기원, 오염원 추적 등의 국내 관련 분야의 연구 영역을 확대하여 널리 활용되기를 기대한다.

적 요

안정동위원소 분석기법(SIA)은 생태학 및 환경학적 측면에서 유기물의 기원 추적 및 생지화화학적 문제를 해결함에 있어서 유용하기 때문에 그 사용이 꾸준히 증가되고 있다. C, N, S, H, O 등의 원소는 모두 하나 이상의 동위원소를 가지고 있으며, 동위원소 조성비는 질량 분석기를 이용하여 매우 정밀하게 측정할 수 있다. 이러한 동위원소 조성비는 물리적, 화학적, 생물학적 반응을 통한 분별작용으로 인하여 예측 가능한 방식으로 변경된다. 더 나아가 안정동위원소 기법은 생태와 환경 학문에서 유기물의 기원을 밝히고, 생태계내 먹이망 구조를 밝히고, 영양염 등의 질산염 순환을 이해하고, 동물의 이동경로를 밝히고, 오염원을 추적하는 등 매우 강력한 도구로서 사용할 수 있다. 그러므로 생태학 및 환경학 분야에서 안정동위원소의 활용이 매우 유용하다.

사 사

본 연구는 2013년도 국립환경과학원 박사후 연수과정 지원 사업에 의해 이루어진 것임.

REFERENCES

- Anderson, R.J., A.J. Smit and G.J. Levitt. 1999. Upwelling and fish-factory waste as nitrogen sources for suspended cultivation of *Gracilaria gracilis* in Saldanha Bay, South. *Hydrobiologia* **398/399**: 455-462.
- Bearhop, S., W. Fiedler, R.W. Furness, S.C. Votier, S. Waldron, J. Newton, G.J. Bowen, P. Bethod and K. Fransworth. 2005. Assortative mating as a mechanism for rapid evolution of a migratory divide. *Science* **310**: 502-504.
- Binkley, D., P. Sollins and W.B. McGill. 1985. Natural abundance of nitrogen-15 as a tool for tracing alder-fixed nitrogen. *Soil Science Society of America Journal* **49**: 444-447.
- Bligh, E.G. and W.J. Dyer. 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian Journal of Bioche-*

- mistry **37**: 911-917.
- Bosley, K.L. and S.C. Wainright. 1999. Effects of preservatives and acidification on the stable isotope ratios (^{15}N : ^{14}N , ^{13}C : ^{12}C) of two species of marine animals. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science* **56**: 2181-2185.
- Bottrell, S.H. and R. Raiswell. 2000. Sulphur isotopes and microbial sulphur cycling in sediments. p. 96-104. *In: Microbial Sediments* (Riding, R.E. and S.M. Awramik, eds.). Springer-Verlag, Berlin.
- Bowen, G.J. and J. Revenaugh. 2003. Interpolating the isotopic composition of modern meteoric precipitation. *Water Resources Research* **39**: 1299.
- Bowen, G.J., L.I. Wassenaar and K.A. Hobson. 2005. Application of stable hydrogen and oxygen isotopes to wildlife forensic investigations at global scales. *Oecologia* **143**: 337-348.
- Branstrator, D.K., G. Cabana, A. Mazumder and J.B. Rasmussen. 2000. Measuring life-history omnivory in the opossum shrimp, *Mysis relicta*, with stable nitrogen isotopes. *Limnology and Oceanography* **45**: 463-467.
- Broman, D., C. Naf, C. Rolff, Y. Zebuhr, B. Fry and J. Hobbie. 1992. Using ratios of stable nitrogen isotopes to estimate bioaccumulation and flux of polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins (PCDDs) and dibenzofurans (PCDFs) in two food chains from the northern Baltic. *Environmental Toxicology and Chemistry* **11**: 331-345.
- Bunn, S.E., N.R. Loneragan and M.A. Kempster. 1995. Effects of acid washing on stable isotope ratios of C and N in penaeid shrimp and seagrass: implications for food-web studies using multiple stable isotopes. *Limnology and Oceanography* **40**: 622-625.
- Cabana, G. and J.B. Rasmussen. 1994. Modelling food chain structure and contaminant bioaccumulation using stable nitrogen isotopes. *Nature* **372**: 255-257.
- Cabana, G. and J.B. Rasmussen. 1996. Comparison of aquatic food chains using nitrogen isotopes. *Proceeding of the National Academy of Science U.S.A.* **93**: 10844-10847.
- Carabel, S., E. Godinez-Dominguez, P. Verisimo, L. Fernandez and J. Freire. 2006. An assessment of sample processing methods for stable isotope analyses of marine food webs. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* **336**: 254-261.
- Carabel, S., P. Verisimo and J. Freire. 2009. Effects of preservatives on stable isotope analyses of four marine species. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* **82**: 348-350.
- Chaloner, D.T., K.M. Martin, M.S. Wipfli, P.H. Ostrom and G.A. Lamberti. 2002. Marine carbon and nitrogen in southeastern Alaska stream food webs: evidence from artificial and natural streams. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science* **59**: 1257-1265.
- Chamberlain, C.P., J.D. Blum, R.T. Holmes, X. Feng, T.W. Sherry and G.R. Graves. 1997. The use of isotope tracers for identifying populations of migratory birds. *Oecologia* **109**: 132-141.
- Chamberlain, P.M., I.D. Bull, H.I.J. Black, P. Ineson and R.P. Evershed. 2006b. Collembolam trophic preferences determined using fatty acid distributions and compound-specific stable carbon isotope analysis. *Soil Biology and Biochemistry* **38**: 1275-1281.
- Choi, J.Y., G.H. La, S.K. Kim, K.S. Jung and G.J. Joo. 2013. Zooplankton community distribution in aquatic plants zone - influence of epiphytic rotifers and cladocerans in accordance with aquatic plants cover and types. *Korean Journal of Ecology and Environment* **46**(1): 86-93
- Cloern, J.E., E.A. Canuel and D. Harris. 2002. Stable carbon and nitrogen isotope composition of aquatic and terrestrial plants of the San Francisco Bay estuarine system. *Limnology and Oceanography* **47**: 713-729.
- Coplen, T.B., C. Kendall and J. Hopple. 1983. Comparison of stable isotope reference samples. *Nature* **302**: 236-238.
- Costanzo, S.D., M.J. O'Donohue, W.C. Dennison, N.R. Loneragan and M. Thomas. 2001. A new approach for detecting and mapping sewage impacts. *Marine Pollution Bulletin* **42**: 149-156.
- Craig, H. 1953. The geochemistry of the stable carbon isotopes. *Geochimica et Cosmochimica Acta* **3**: 53-92.
- Craig, H. 1957. Isotopic standards for carbon and oxygen and correction factors for mass-spectrometric analysis of carbon dioxide. *Geochimica et Cosmochimica Acta* **12**: 133-149.
- Crossman, Z.M., P. Ineson and R.P. Evershed. 2005. The use of ^{13}C labelling of bacterial lipids in the characterisation of ambient methane-oxidising bacteria soils. *Organic Geochemistry* **36**: 769-778.
- Dansgaard, W. 1964. Stable isotopes in precipitation. *Tellus* **16**: 436-438.
- Davenport, S.R. and N.J. Bax. 2002. A trophic study of a marine ecosystem off southeastern Australia using stable isotopes of carbon and nitrogen. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science* **59**: 514-530.
- Dawson, T.E. and J.R. Ehleringer. 1993. Isotopic enrichment of water in the "woody" tissues of plants: Implications for plant water source, water uptake and other studies which use the stable isotopic composition of cellulose. *Geochimica et Cosmochimica Acta* **57**: 3487-3492.
- Dawson, T.E. and P.D. Brooks. 2001. Fundamentals of stable isotope chemistry and measurement. p. 1-18. *In: Stable Isotope Techniques in the Study of Biological Processes and Functioning of Ecosystems* (Unkovich, M., J. Pate, A. McNeill and D.J. Gibbs, eds.). Kluwer Academic Publishers, Dordrecht.
- DeNiro, M.J. and S. Epstein. 1977. Mechanism of carbon isotope fractionation associated with lipid synthesis. *Science* **197**: 261-263.
- DeNiro, M.J. and S. Epstein. 1978. Influence of the diet on the distribution of carbon isotopes in animals. *Geochimica et*

- Cosmochimica Acta* **42**: 495-506.
- DeNiro, M.J. and S. Epstein. 1981. Influence of the diet on the distribution of nitrogen isotopes in animals. *Geochimica et Cosmochimica Acta* **45**: 341-351.
- Doucett, R.R., G. Power, D.R. Barton, R.J. Drimmie and R.A. Cunjak. 1996. Stable isotope analysis of nutrient pathways leading to Atlantic salmon. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science* **53**: 2058-2066.
- Doucett, R.R., W. Hooper and G. Power. 1999a. Identification of anadromous and nonanadromous brook trout and their progeny in the Tabusintac River, New Brunswick, by means of multiple-stable-isotope analysis. *Transaction of the American Fisheries Society* **128**: 278-288.
- Doucett, R.R., M. Power, G. Power, F. Caron and J.D. Reist. 1999b. Evidence for anadromy in a southern relict population of Arctic charr from North America. *Journal of Fish Biology* **55**: 84-93.
- Epp, M.A., D.A. Ziemann and D.M. Schell. 2002. Carbon and nitrogen dynamics in zero-water exchange shrimp culture as indicated by stable isotope tracers. *Aquaculture Research* **33**: 839-846.
- Estep, M.L.F. and S. Vigg. 1985. Stable carbon and nitrogen isotope tracers of trophic dynamics in natural populations and fisheries of the Lahontan Lake system, Nevada. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science* **42**: 1712-1719.
- Evans-White, M., W.K. Dodds, L.J. Gray and K.M. Fritz. 2001. A comparison of the trophic ecology of the crayfishes (*Oronectes nais* (Faxon) and *Oreonectes neglectus* (Faxon)) and the central stoneroller minnow (*Campostoma anomalum* (Rafinesque)): omnivory in a tallgrass prairie stream. *Hydrobiologia* **462**: 131-144.
- Fanelli, E., J.E. Cartes., V. Papiol., P. Rumolo and M. Sprovieri. 2010. Effects of preservation on the $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ values of deep sea macrofauna. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* **395**: 93-97.
- Farquhar, G.D. 1983. On the nature of carbon isotope discrimination in C_4 species. *Australian Journal of Plant Biology* **32**: 293-303.
- Fisher, S.J., M.L. Brown and D.W. Willis. 2001. Temporal food web variability in an upper Missouri River backwater: energy origination points and transfer mechanisms. *Ecology of Freshwater Fish* **10**: 154-167.
- Focken, U. and K. Becker. 1998. Metabolic fractionation of stable carbon isotopes: implications of different proximate compositions for studies of the aquatic food webs using $\delta^{13}\text{C}$ data. *Oecologia* **115**: 337-343.
- France, R. 1995b. Critical examination of stable isotope analysis as a means for tracing carbon pathways in stream ecosystems. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science* **52**: 651-656.
- France, R. 1995c. Critical examination of stable isotope analysis as a means for tracing carbon pathways in stream ecosystems. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science* **52**: 651-656.
- France, R.L. and R.H. Peters. 1997. Ecosystem differences in the trophic enrichment of ^{13}C in aquatic food webs. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science* **54**: 1255-1258.
- Fry, B. and E.B. Sherr. 1984. $\delta^{13}\text{C}$ measurements as indicators of carbon flow in marine and freshwater ecosystems. *Contributions in Marine Science* **27**: 13-47.
- Fry, B. 1988. Food web structure on Georges Bank from stable C, N, and S isotopic compositions. *Limnology and Oceanography* **33**: 1182-1190.
- Fry, B. 1999. Using stable isotopes to monitor watershed influences on aquatic trophodynamics. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science* **56**: 2167-2171.
- Fry, B., S.R. Silva, C. Kendall and R.K. Anderson. 2002. Oxygen isotope corrections for online $\delta^{34}\text{S}$ analysis. *Rapid Communications in Mass Spectrometry* **16**: 854-858.
- Gal, J.G., M.S. Kim., Y.J. Lee., J.W. Seo and K.H. Shin. 2012. Foodweb of aquatic ecosystem within the Tamjin river through the determination of carbon and nitrogen stable isotope ratios. *Korean Journal of Limnological Society* **45**(2): 242-251.
- Gat, J., W.G. Mook and H.A.J. Meijer. 2001. Environmental Isotopes in the Hydrological Cycle: Principles and Applications. Volume II: Atmospheric Water. International Atomic Energy Agency, <http://www.iaea.or.at/programmes/ripc/ih/volumes/volumes.htm>.
- Genner, M.J., G.F. Turner, S. Barker and S.J. Hawkins. 1999. Niche segregation among Lake Malawi cichlid fishes? Evidence from stable isotope signatures. *Ecology Letters* **2**: 185-190.
- Greenfield, B.K., T.R. Hrabik, C.J. Harvey and S.R. Carpenter. 2001. Predicting mercury levels in yellow perch: use of water chemistry, trophic ecology, and spatial traits. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science* **58**: 1419-1429.
- Grey, J. 2001. Ontogeny and dietary specialization in brown trout (*Salmo trutta* L.) from Loch Ness, Scotland, examined using stable isotopes of carbon and nitrogen. *Ecology of Freshwater Fish* **10**: 168-176.
- Guiger, K.R.R.A., J.D. Reist, M. Power and J.A. Babaluk. 2002. Using stable isotopes to confirm the trophic ecology of Arctic charr morphotypes from Lake Hazen, Nunavut, Canada. *Journal of Fish Biology* **60**: 348-362.
- Habicht, K.S. and D.E. Canfield. 1997. Sulfur isotope fractionation during bacterial sulfate, reduction in organic-rich sediments. *Geochimica et Cosmochimica Acta* **61**: 5351-5361.
- Hansson, S., J.E. Hobbie, R. Elmgren, U. Larsson, B. Fry and S. Johansson. 1997. The stable nitrogen isotope ratio as a marker of food-web interactions and fish migration. *Ecology* **78**: 2249-2257.
- Hart, E.A. and J.R. Lovvorn. 2002. Interpreting stable isotopes from macroinvertebrate foodwebs in saline wetlands. *Lim-*

- nology and Oceanography* **47**: 580-584.
- Harvey, C.J., P.C. Hanson, T.E. Essington, P.B. Brown and J.F. Kitchell. 2002. Using bioenergetics models to predict stable isotope ratios in fishes. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science* **59**: 115-124.
- Heaton, T.H.E. 1986. Isotopic studies of nitrogen pollution in the hydrosphere and atmosphere: a review. *Chemical Geology* **59**: 87-102.
- Hentschel, B.T. 1998. Intraspecific variations in $\delta^{13}\text{C}$ indicate ontogenetic diet changes in deposit-feeding polychaetes. *Ecology* **79**: 1357-1370.
- Hershey, A.E., J. Pastor, B.J. Peterson and G.W. Kling. 1993. Stable isotopes resolve the drift paradox for Baetis mayflies in an Arctic river. *Ecology* **74**: 2315-2325.
- Hesslein, R.H., M.J. Capel, D.E. Fox and K.A. Hallard. 1991. Stable isotopes of sulfur, carbon, and nitrogen as indicators of trophic level and fish migration in the Lower Mackenzie River Basin. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science* **48**: 2258-2265.
- Hobson, K.A. and H.E. Welch. 1992. Determination of trophic relationship within a high Arctic marine food web using $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ analysis. *Marine Ecology Progress Series* **84**: 9-18.
- Hobson, K.A., J.F. Piatt and J. Pitocchelli. 1994. Using stable isotopes to determine seabird trophic relationships. *Journal of Animal Ecology* **63**: 786-798.
- Hobson, K.A., H.L. Gibbs and M.L. Gloutney. 1997. Preservation of blood and tissue samples for stable-carbon and stable-nitrogen isotope analysis. *Canadian Journal of Zoology* **75**: 1720-1723.
- Hobson, K.A. and L.I. Wassenaar. 1997. Linking breeding and wintering grounds of neotropical migrant songbirds using stable hydrogen isotopic analysis of feathers. *Oecologia* **109**: 142-148.
- Hobson, K.A., L.I. Wassenaar and O.R. Taylor. 1999. Stable isotopes (δD and $\delta^{13}\text{C}$) are geographic indicators of natal origins of Monarch butterflies in eastern North America. *Oecologia* **120**: 397-404.
- Hobson, K.A., G.J. Bowen, L.I. Wassenaar, Y. Ferrand and H. Lormee. 2004. Using stable hydrogen and oxygen isotope measurements of feathers to infer geographical origins of migrating European birds. *Oecologia* **141**: 477-488.
- Hughes, J.E., L.A. Deegan, B.J. Peterson, R.M. Holmes and B. Fry. 2000. Nitrogen flow through the food web in the oligohaline zone of a New England estuary. *Ecology* **81**: 433-452.
- Hurny, A.D., R.H. Riley, R.G. Young, C.J. Arbuckle, K. Peacock and G. Lyons. 2001. Temporal shift in contribution of terrestrial organic matter to consumer production in a grassland river. *Freshwater Biology* **46**: 213-226.
- Jackson, D., D.D. Harkness, C.F. Mason and S.P. Long. 1986. *Spartina anglica* as a carbon source for salt-marsh invertebrates: a study using ^{13}C . *Oikos* **46**: 163-170.
- Jacob, U., K. Mintenbeck, T. Brey, R. Knust and K. Beyer. 2005. Stable isotope food web studies: a case for standardized sample treatment. *Marine Ecology Progress Series* **287**: 251-253.
- Jepsen, D.R. and K.O. Winemiller. 2002. Structure of tropical river food webs revealed by stable isotope ratios. *Oikos* **96**: 46-55.
- Junger, M. and D. Planas. 1994. Quantitative use of stable carbon isotope analysis to determine the trophic base of invertebrate communities in a boreal forest lotic system. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science* **51**: 52-61.
- Kaehler, S. and E.A. Pakhomov. 2001. Effects of storage and preservation on the $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ signatures of selected marine organisms. *Marine Ecology Progress Series* **219**: 299-304.
- Kang, C.K., J.B. Kim, P.Y. Lee, and J.S. Hong. 2001. The importance of intertidal benthic autotrophs to the Kwangyang Bay (Korea) food webs: $\delta^{13}\text{C}$ analysis. *Journal of the Korean Society and Oceanography* **36**: 109-123.
- Kang, C.K., J.B. Kim, K.S. Lee, J.B. Kim, P.Y. Lee and J.S. Hong. 2003. Trophic importance of benthic microalgae to macrozoobenthos in coastal bay systems in Korea: dual stable C and N isotope analyses. *Marine Ecology Progress Series* **259**: 79-92.
- Kidd, K.A., D.W. Schindler, R.H. Hesslein and D.C.G. Muir. 1998. Effects of trophic position and lipid on organochlorine concentrations in fishes from subarctic lakes in Yukon Territory. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science* **55**: 869-881.
- Kidd, K.A., M.J. Paterson, R.H. Hesslein, D.C.G. Muir and R.E. Hecky. 1999. Effects of northern pike (*Esox lucius*) additions on pollutant accumulation and food web structure, as determined by $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$, in a eutrophic and an oligotrophic lake. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science* **56**: 2193-2202.
- Kim, M.S., Y.J. Lee, S.H. Shin and S.J. Hwang. 2008. A study on vertical distribution and origin of particulate organic matter in Shingu reservoir in pre-monsoon and post-monsoon period - application of carbon and nitrogen stable isotope ratio. *Korean Journal of Ecology and Environment* **46(S)**: 27-34.
- Kim, E.H., H.J. Kim, K.H. Shin, M.S. Kim, S.R. Kundu, B.G. Lee and S.H. Han. 2012. Biomagnification of mercury through the benthic food webs of a temperate estuary - masan bay, Korea. *Environmental Toxicology and Chemistry* **31(6)**: 1254-1263.
- Kim, M.S., J.H. Hwang, B.K. Kim, W.S. Lee and S.Y. Lee. 2013. Sample preparation effects on stable C, N, S isotope values. Unpublished.
- Kline, T.C. Jr., J.J. Goering, O.A. Mathisen, P.H. Poe and P.L. Parker. 1990. Recycling of elements transported upstream by runs of Pacific salmon: 1. $\delta^{15}\text{N}$ and $\delta^{13}\text{C}$ evidence in Sashin Creek, Southeastern Alaska. *Canadian Journal of*

- Fisheries and Aquatic Science* **47**: 136-144.
- Kline, T.C. Jr., W.J. Wilson and J.J. Goering. 1998. Natural isotope indicators of fish migration at Prudhoe Bay, Alaska. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science* **55**: 1494-1502.
- Kline, T.C. Jr. and T.M. Willette. 2002. Pacific salmon (*Oncorhynchus* spp.) early marine feeding patterns based on $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ and $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ in Prince William Sound, Alaska. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science* **59**: 1626-1638.
- Kuder, T., J.T. Wilson, P. Kaiser, R. Kolhatkar, P. Philp and J. Allen. 2005. Enrichment of stable carbon and hydrogen isotopes during anaerobic biodegradation of MTBE: microcosm and field evidence compound-specific stable isotope analysis is used to characterize microcosm and field anaerobic biodegradation of MTBE. *Environmental Science and Technology* **39**: 213-220.
- Kvist, A., A. Lindstrom, M. Green, T. Piersma and G.H. Visser. 2001. Carrying large fuel loads during sustained bird flight is cheaper than expected. *Nature* **413**: 730-732.
- Lake, J.L., R.A. McKinney, F.A. Osterman, R.J. Pruell, J. Kid-don, S.A. Ryba and A.D. Libby. 2001. Stable nitrogen isotopes as indicators of anthropogenic activities in small freshwater systems. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science* **58**: 870-878.
- Lee, Y.-C., H.H. Kuo and Y.G. Chen. 2002. Discrimination and abundance estimation of wild and released abalone *Haliotis diversicolor* using stable carbon and oxygen isotope analysis in north-eastern Taiwan. *Fisheries Science* **68**: 1020-1028.
- Lee, D.H., J.H. Kim, J.J. Bahk, H.Y. Cho, J.H. Hyun and K.H. Shin. 2013. Geochemical signature related to lipid biomarkers of ANMEs in gas hydrate-bearing sediments in the Ulleung Basin, East Sea (Korea). *Marine and Petroleum Geology*, in press.
- Lee, Y.J., M.S. Kim, K.H. Shin and S.J. Hwang. 2008. An application of ^{13}C tracer for the determination of primary productivity and fatty acid production rate in Shingu reservoir. *Korean Journal of Limnological Society* **41**(S): 21-26.
- Lee, Y.J., J.K. Kim, Y.Y. Jung and B.C. Kim. 2010. Isotopic differences among zooplankton taxa and seasonal variation of zooplankton community coexisting with mucrocystis. *Korean Journal of Limnological Society* **43**(1): 1-10.
- Lee, Y.J., B.K. Jeong., Y.S. Shin, S.H. Kim and K.H. Shin. 2013. Determination of the origin of particulate organic matter at the estuary and Yngsan river using stable isotope ratios. *Korean Journal of Ecology and Environment* **46**(2): 175-184.
- Leite, R.G., C.A.R.M. Araujo-Lima, R.L. Victoria and L.A. Martinelli. 2002. Stable isotope analysis of energy sources for larvae of eight fish species from the Amazon floodplain. *Ecology of Freshwater Fish* **11**: 56-63.
- Lott, C.A., T.D. Meehan and J.A. Heath. 2003. Estimating the latitudinal origins of migratory birds using hydrogen and sulfur isotopes of feathers: influence of marine prey base. *Oecologia* **134**: 505-510.
- Maberly, S.C., J.A. Raven and A.M. Johnston. 1992. Discrimination between ^{12}C and ^{13}C by marine plants. *Oecologia* **91**: 481-492.
- MacAvoy, S.E., S.A. Macko and G.C. Garman. 1998. Tracing marine biomass into tidal freshwater ecosystems using stable sulfur isotopes. *Naturwissenschaften* **85**: 544-546.
- MacAvoy, S.E., S.A. Macko, S.P. McIninch and G.C. Garman. 2000. Marine nutrient contributions to freshwater apex predators. *Oecologia* **122**: 568-573.
- MacAvoy, S.E., S.A. Macko and G.C. Garman. 2001. Isotopic turnover in aquatic predators: quantifying the exploitation of migratory prey. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science* **58**: 923-932.
- Mariotti, A. 1983. Atmospheric nitrogen is a reliable standard for natural ^{15}N abundance measurements. *Nature* **303**: 685-687.
- Maruyama, A., Y. Yamada, M. Yuma and R. Rusuwa. 2001. Stable nitrogen and carbon isotope ratios as migration tracers of a landlocked goby, *Rhinogobius* sp. (the orange form), in the Lake Biwa water system. *Ecological Research* **16**: 697-703.
- McCarthy, I.D. and S. Waldron. 2000. Identifying migratory *Salmo trutta* using carbon and nitrogen stable isotope ratios. *Rapid Communication in Mass Spectrometry* **14**: 1325-1331.
- McConnaughey, T. and C.P. McRoy. 1979. Food-web structure and the fractionation of carbon isotopes in the Bering Sea. *Marine Biology* **53**: 257-262.
- McKinney, C.R., J.M. McCrea, S. Epstein, H.A. Allen, H.C. Urey. 1950. Improvements in mass spectrometers for the measurement of small differences in isotope abundance ratios. *Review of Scientific Instrument* **21**(8): 724-730.
- Mekhtiyeva, V.L., R.G. Pankina and Y.Y. Gavrillov. 1976. Distribution and isotopic compositions of forms of sulfur in water, animals and plants. *Geokhimiya* **9**: 1419-1426.
- Merriam, J.L., W.H. McDowell, J.L. Tank, W.M. Wollheim, C.L. Crenshaw and S.L. Johnson. 2002. Characterizing nitrogen dynamics, retention and transport in a tropical rainforest using an in situ ^{15}N addition. *Freshwater Biology* **47**: 143-160.
- Minagawa, M. and E. Wada. 1984. Stepwise enrichment of ^{15}N along food chains: further evidence and the relation between $\delta^{15}\text{N}$ and animal age. *Geochimica et Cosmochimica Acta* **48**: 1135-1140.
- Nayar, S., G.J. Collings, D.J. Miller, S. Bryans and A.C. Cheshire. 2009. Uptake and allocation of inorganic carbon by the temperate seagrasses *Posidonia* and *Amphibolis*. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* **373**: 87-95.
- Neto, J.M., J. Newton, A.G. Gosler and C.M. Perrins. 2006.

- Using stable isotope analysis to determine the winter moult extent in migratory birds: the complex moult of Savi's warblers *Locustella luscinioides*. *Journal of Avian Biology* **37**: 117-124.
- Ng, J.S.S., T.C. Wai and G.A. Williams. 2007. The effects of acidification on the stable isotope signatures of marine algae and molluscs. *Marine Chemistry* **103**: 97-102.
- O'Brien, D.M., C.L. Boggs and M.L. Fogel. 2005. The amino acids used in reproduction by butterflies: A comparative study of dietary sources using compound-specific stable isotope analysis. *Physiological and Biochemical Zoology* **78**: 819-827.
- O'Leary, M.H. 1988. Carbon isotopes in photosynthesis. *BioScience* **38**: 328-336.
- Owens, N.J.P. 1987. Natural variations in ^{15}N in the marine environment. *Advances in Marine Biology* **24**: 389-451.
- Park, M.P., S.Y. Park, D.J. Kang, S.L. Li, J.Y. Kim, C.O. Jo, J.I. Kim and K.R. Kim. 2013. Preparation of pure CO_2 standard gas from calcium carbonate for stable isotope analysis. *Journal of the Korean Society of Oceanography* **18**: 40-46.
- Parkyn, S.M., J.M. Quinn, T.J. Cox and N. Broekhuizen. 2005. Pathways of N and C uptake and transfer in stream food webs: an isotope enrichment experiment. *Journal of the North American Benthological Society* **24**: 955-975.
- Pel, R., V. Floris and H. Hoogveld. 2004. Analysis of planktonic community structure and trophic interactions using refined isotopic signatures determined by combining fluorescence-activated cell sorting and isotope-ratio mass spectrometry. *Freshwater Biology* **49**: 546-562.
- Perez, T., S.E. Trumbore, S.C. Tyler, E.A. Davidson, M. Keller and P.B. de Camargo. 2000. Isotopic variability of N_2O emissions from tropical forest soils. *Global Biogeochemical Cycles* **14**: 525-535.
- Perez, T., S.E. Trumbore, S.C. Tyler, P.A. Matson, I. Maston, T. Oritz-Monasterio, T. Rahn and D.W.T. Griffith. 2001. Identifying the agricultural imprint on the global N_2O budget using stable isotopes. *Journal of Geophysical Research. Atmospheres* **106**: 9869-9878.
- Perry, R.W., M.J. Bradford and J.A. Grout. 2003. Effects of disturbance on contribution of energy sources to growth of juvenile chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) in boreal streams. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science* **60**: 390-400.
- Petersen, S. and K. Anger. 1997. Chemical and physiological changes during the embryonic development of the spider crab, *Hyas araneus* L. (Decapoda: *Majidae*). *Comparative Biochemistry and Physiology-Part B* **117B**: 299-306.
- Peterson, B.J., R.W. Howarth and R.H. Garritt. 1985. Multiple stable isotopes used to trace the flow of organic matter in estuarine food webs. *Science* **227**: 1361-1363.
- Peterson, B.J. and B. Fry. 1987. Stable isotopes in ecosystem studies. *Annual Review of Ecology systematics* **18**: 293-320.
- Peterson, B.J., M. Bahr and G.W. Kling. 1997. A tracer investigation of nitrogen cycling in a pristine tundra river. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science* **54**: 2361-2367.
- Phillips, D.L. 2001. Mixing models in analyses of diet using multiple stable isotopes: a critique. *Oecologia* **127**: 166-170.
- Phillips, D.L. and J.W. Gregg. 2001. Uncertainty in source partitioning using stable isotopes. *Oecologia* **127**: 171-179.
- Pinnegar, J.K., N. Campbell and N.V.C. Polunin. 2001. Unusual stable isotope fractionation patterns observed for fish host-parasite trophic relationships. *Journal of Fish Biology* **59**: 494-503.
- Post, D.M. 2002. Using stable isotopes to estimate trophic position: models, methods, and assumptions. *Ecology* **83**: 703-718.
- Post, D.M., M.W. Doyle, J.L. Sabo and J.C. Finlay. 2007. The problem of boundaries in defining ecosystem: A potential landmine for uniting geomorphology and ecology. *Geomorphology* **89**: 111-126.
- Power, M., G.M. Klein, K.R.R.A. Guiguer and M.K.H. Kwan. 2002. Mercury accumulation in the fish community of a sub-Arctic lake in relation to trophic position and carbon sources. *Journal of Applied Ecology* **39**: 819-830.
- Radin, N.S. 1981. Extraction of tissue lipids with a solvent of low toxicity. *Methods in Enzymology* **27**: 5-7.
- Rau, G.H., R.E. Sweeney and I.R. Kaplan. 1982. Plankton $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ratio changes with latitude: differences between northern and southern oceans. *Deep-Sea Research* **29**: 1035-1039.
- Rau, G.H., A.J. Mearns, D.R. Young, R.J. Olson, H.A. Schafer and I.R. Kaplan. 1983. Animal $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ correlates with trophic level in pelagic food webs. *Ecology* **64**: 1314-1318.
- Rau, G.H., T.L. Hopkins and J.J. Torres. 1991. $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ and $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ in Weddell Sea invertebrates: implications for feeding diversity. *Marine Ecology Progress Series* **77**: 1-6.
- Rau, G.H., D.G. Ainley, J.L. Bengston, J.J. Torres and T.L. Hopkins. 1992. $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ and $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ in Weddell Sea birds, seals, and fish: implications for diet and trophic structure. *Marine Ecology Progress Series* **84**: 1-8.
- Renones, O., N.V.C. Polunin and R. Goni. 2002. Size related dietary shifts of *Epinephelus marginatus* in a western Mediterranean littoral ecosystem: an isotope and stomach content analysis. *Journal of Fish Biology* **61**: 122-137.
- Sage, R.F., M. Li and R.K. Monson. 1999. The taxonomic distribution of C_4 photosynthesis. p. 551-584. In: C_4 plant biology (Sage, R.F. and R.K. Monson, eds.). San Diego, CA: Academic Press.
- Sarakinos, H.C., M.L. Johnson and M.J. Vander Zanden. 2002. A synthesis of tissue-preservation effects on carbon and nitrogen stable isotope signatures. *Canadian Journal of Zoology* **80**: 381-387.
- Schimel, D.S. 1993. Theory and application of tracers. Academic

- Press, San Diego.
- Seo, Y.J. and K.H. Shin. 2013. Size-related and seasonal diet of the manlia clam (*Ruditapes philippinarum*), as determined using dual stable isotopes, *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, in press.
- Serrano, O., L. Serrano, M.A. Mateo, I. Colombini, L. Chelazzi, E. Gagnarli and M. Fallaci. 2008. Acid washing effect on elemental and isotopic composition of whole beach arthropods: implications for food web studies using stable isotopes. *Acta Oecologica* **34**: 89-96.
- Shin, W.S. and Y.D. Lee. 2010. Spatial characteristic in food sources for benthic invertebrates in an estuary tidal flat - carbon and nitrogen stable isotope analyses. *Journal of the Korean Society for Marine Environmental Engineering* **13**(1): 53-59.
- Smith, B.N. and S. Epstein. 1971. Two categories of $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ratios for higher plants. *Plant Physiology* **47**: 380-384.
- Smith, R.J., K.A. Hobson, H.N. Koopman and D.M. Lavigne. 1996. Distinguishing between populations of fresh- and salt-water harbour seals (*Phoca vitulina*) using stable-isotope ratios and fatty acid profiles. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science* **53**: 272-279.
- Smyntek, P.M. 2006. Tracing organic matter production and essential nutrients through lake food webs using stable isotopes. Ph.D. thesis State University of New York College of Environmental Science and Forestry.
- Søreide, J. E., T. Tamelander, H. Hop, K.A. Hobson and I. Johansen. 2006. Sample preparation effects on stable C and N isotope values: a comparison of methods in Arctic marine food web studies. *Marine Ecology Progress Series* **328**: 17-28.
- Sparling, C.E., D. Thompson, M.A. Fedak, S.L. Gallon and J.R. Speakman. 2008. Estimating field metabolic rates of pinnipeds - doubly labeled water gets the seal of approval. *Functional Ecology* **22**: 245-254.
- Stapp, P., G.A. Polis and F. Sanchez Pinero. 1999. Stable isotopes reveal strong marine and El Nino effects on island food webs. *Nature* **401**: 467-469.
- Stapp, P. and G.A. Polis. 2003. Marine resources subsidize insular rodent populations in the Gulf of California, Mexico. *Oecologia* **134**: 496-504.
- Sun, C., C.E. Snape, C. McRae and A.E. Fallick. 2003. Resolving coal and petroleum-derived polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in some contaminated land samples using compound-specific stable carbon isotope ratio measurements in conjunction with molecular fingerprints. *Fuel* **82**: 2017-2023.
- Swanson, H.K., T.A. Johnston, W.C. Leggett, R.A. Bodaly, R.R. Doucett and R.A. Cunjak. 2003. Trophic positions and mercury bioaccumulation in rainbow smelt (*Osmerus mordax*) and native forage fishes in northwestern Ontario lakes. *Ecosystems* **6**: 289-299.
- Sweeting, C.J., N.V.C. Polunin and S. Jennings. 2006. Effects of chemical lipid extraction and arithmetic lipid correction on stable isotope ratios of fish tissues. *Rapid Communication in Mass Spectrometry* **20**:595-601.
- Takai, N. and W. Sakamoto. 1999. Identification of local populations of Lake Biwa catfish *Silurus biwaensis* in Japan on the basis of $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ analyses. *Canadian Journal of Zoology* **77**: 258-266.
- Thode, H.G., J. Monster and H.B. Dunford. 1961. Sulphur isotope geochemistry. *Geochimica et Cosmochimica Acta* **25**: 159-174.
- Tieszen, L.L., T.W. Boutton, K.G. Tesdahl and N.A. Slade. 1983. Fractionation and turnover of stable carbon isotopes in animal tissues: implications for $\delta^{13}\text{C}$ analysis of diet. *Oecologia* **57**: 32-37.
- Tuck, I.D., A.C. Taylor, R.J.A. Atkinson, M.E. Gramitto and C. Smith. 1997. Biochemical composition of Nephrops norvegicus: changes associated with ovary maturation. *Marine Biology* **129**: 505-511.
- Urey, H.C. 1947. The thermodynamic properties of isotopic substances. *Journal of the Chemical Society* **1947**: 562-581.
- Vander Zanden, M.J., M. Hulshof, M.S. Ridgway and J.B. Rasmussen. 1998. Application of stable isotope techniques to trophic studies of age-0 smallmouth bass. *Transactions of the American Fisheries Society* **127**: 729-739.
- Vander Zanden, M.J. and J.B. Rasmussen. 2001. Variation in $\delta^{15}\text{N}$ and $\delta^{13}\text{C}$ trophic fractionation: implications for aquatic food web studies. *Limnology and Oceanography* **46**: 2061-2066.
- Wang, Z., K. Li, M. Sigouin, L. Sigouin and L. Menard. 2002. Characterization and source identification of hydrocarbons in water samples using multiple analytical techniques. *Journal of Chromatography A* **971**: 173-184.
- Wayland, M. and K.A. Hobson. 2001. Stable carbon, nitrogen, and sulphur isotope ratios in riparian food webs on rivers receiving sewage and pulp mill effluents. *Canadian Journal of Zoology* **79**: 5-15.
- Weber, D., H. Kexel and H.L. Schmidt. 1997. ^{13}C -pattern of natural glycerol : orgin and practical importance. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **45**: 2042-2046.
- Whitledge, G.W. and C.F. Rabeni. 1997. Energy sources and ecological role of crayfishes in an Ozark stream: insights from stable isotopes and gut analysis. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science* **54**: 2555-2563.
- Wilcke, W., M. Krauss and W. Amelung. 2002. Carbon isotope signature of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs): evidence for different sources in tropical and temperate environments? *Environmental Science and Technology* **36**: 3530-3535.
- Witte, U., F. Wenzhofer, S. Sommer, A. boetius, P. Heinz, N. Aberle, M. Sand, A. Cremer, W.R. Abraham, B.B. Jorgensen and O. Pfannkuche. 2003. In situ experimental evidence of the fate of a phytodetritus pulse at the abyssal sea floor. *Nature* **424**: 763-766.

- Wunder, M.B. and D.R. Norris. 2008. Analysis and design for isotope-based studies of migratory animals. p. 144. In: Tracking Animal Migration with Stable Isotopes (Hobson, K.A. and L.I. Wassenaar, eds.). Amsterdam: Academic Press.
- Yamada, Y., H. Yokoyama, Y. Ishihi and M. Azeta. 2003. Historical feeding analysis in fish farming based on carbon and nitrogen stable isotope ratio in sediment. *Fisheries Science* **69**: 213-215.
- Yang, J.Y. and K.H. Shin. 2009. Identification of the food sources-metabolism of the Pacific Oyster *Crassostrea gigas* using carbon and nitrogen stable isotopic ratios. *Korean Journal of Environmental Biology* **27**(3): 279-284.
- Yang, J.Y., K.H. Chung, Y.K. Jin and K.H. Shin. 2011. Characterizing lipid biomarkers in methanotrophic communities of gas hydrate-bearing sediments in the Sea of Okhotsk. *Marine and Petroleum Geology* **28**(10): 1884-1898.
- Yokoyama, H., A. Tamaki, K. Harada, K. Shimoda, K. Koyama and Y. Ishihi. 2005. Variability of diet-tissue isotopic fractionation in estuarine macrobenthos. *Marine Ecology Progress Series* **296**: 115-128.
- Yun, S.G., B.S. Yoon, D.G. Paik and C.K. Kang. 2006. The origin of organic matters utilized by soft bottom macrozoobenthos in Tongyeong. *Journal of Korea Fishery Society* **39**(S): 189-197.
- Zah, R., P. Burgherr, S.M. Bernasconi and U. Uehlinger. 2001. Stable isotope analysis of macroinvertebrates and their food sources in a glacier stream. *Freshwater Biology* **46**: 871-882.