

수생태 환경 연구에 있어 안정동위원소의 활용과 전망

최보형 · 신경훈*

한양대학교 해양융합학과

Applications and Prospects of Stable Isotope in Aquatic Ecology and Environmental Study. Choi, Bohyung (0000-0001-6998-400X) and Kyung-Hoon Shin* (0000-0002-3169-4274) (Department of Marine Sciences and Convergent Technology, Hanyang University)

Abstract Stable isotope approach for aquatic ecology and environmental sciences has been introduced as very useful technique since 1980s and also has been applied to investigate various issues in aquatic ecology and environmental study last 10 years in Korea. Especially carbon and nitrogen isotope ratios have been mainly used to understand food web energy flow and ecosystem structure. In addition, nitrogen isotope ratio has been applied for nitrogen cycle and source identification as well as biomagnification studies. However, large temporal or spatial variations of nitrogen isotope ratio of primary producer have been found in many aquatic environments, and it is regarded as the critical problems to determine trophic level of aquatic animals. Recently, the compound specific isotope analysis of nitrogen within individual amino acids has been developed as an alternative method for trophic ecology. This article introduces the progress history of stable isotope application in aquatic ecology and environmental sciences, and also suggests new direction based on future prospects in stable isotope ecology and environmental study.

Key words: stable isotope analysis (SIA), compound-specific isotope analysis, amino acid, trophic position

안정동위원소를 활용한 수생태계 먹이망 구조 연구

생태계에서 기초생산자의 광합성에 의해 생성된 에너지가 상위 영양단계 생물에 전달되는 에너지 흐름은 생태계 구조를 이해하기 위한 가장 기초적인 정보로써, 보다 정확한 생태계 먹이망 구조 파악을 위해 위 내용물 분석법, 섭식 실험, 현장 관측, 안정동위원소비의 활용 등 다양한 연구방법이 활용되고 있다(Hyslop, 1980; Moens and Vincx, 1997; Ojeda and Munoz, 1999; Doi *et al.*, 2008). 특히 먹이

원에 비해 섭식자의 체내에 무거운 동위원소비가 일정한 비율로 축적되는 것으로 알려진 탄소 및 질소 안정동위원소는 다른 연구방법에 비하여 섭식자의 먹이원에 대해 긴 시간 동안 축적된 정보를 얻을 수 있다는 장점 때문에 많은 연구에 활용되고 있다(Fry, 1991; Vander zanden *et al.*, 1999a, b); Dubois *et al.*, 2007; Gal *et al.*, 2012). 이 중 탄소 안정동위원소비는 먹이원과 섭식자 사이에서 동위원소비의 차이가 작아 먹이원의 추적자로 수생태 연구에 활용이 가능하다(DeNiro and Epstein, 1978). 또한 생물의 영양단계(Trophic Level)에 따라 상대적으로 크고 일정한 안정동위원소비의 변화를 보이는 질소 안정동위원소비의 특성은 생태계 구성 생물의 영양단계를 나타낼 수 있는 것으로 알려졌다(DeNiro and Epstein, 1981; Minagawa and Wada, 1984). 따라서 탄소와 질소 안정동위원소비의 특성을 이용

Manuscript received 5 January 2018, revised 31 January 2018, revision accepted 2 March 2018
* Corresponding author: Tel: +82-31-400-5536, Fax: +82-31-416-6173, E-mail: shinkh@hanyang.ac.kr

하면 수생태계의 먹이망 구조와 에너지 흐름에 대한 정보를 획득할 수 있다(Fry and Sherr, 1989). 이에 따라 1991년 미국내 여러 하천과 호수 내에서 먹이원으로 가능성이 있는 식물플랑크톤 및 육상 식물과 다양한 섭식자의 탄소 및 질소 안정동위원소비의 범위가 보고된 이래(Fry, 1991) 다양한 수생태계의 먹이망 구조를 파악하기 위한 연구에 활용되고 있다. 예를 들어 저서성 섭식자의 탄소 안정동위원소비가 부유성 섭식자의 탄소 안정동위원소비에 비해 무겁게 나타나며, 따라서 같은 호수 내 먹이 연쇄를 통한 에너지 흐름이 저서성과 부유성 기반으로 구분될 수 있음이 확인되었다(France, 1995). 또한 외래종의 유입 이후 토속 어종의 탄소 및 질소 안정동위원소비의 변화를 통해 토속 종의 먹이원 및 영양단계가 외래종에 의해 영향을 받고 있는 것이 확인된 바 있다(Vander zanden *et al.*, 1999b).

2000년대 이후에는 다양한 먹이원과 섭식자의 탄소와 질소 안정동위원소비의 차이를 통계적으로 활용하여 각 먹이원의 기여도를 정량적으로 평가하고자 하는 동위원소 혼합 모델이 개발되었으며(Phillips and Gregg, 2005), 이후 R 패키지를 이용하여 좀더 정확한 먹이망 해석 모델이 소개되었다(Parnell *et al.*, 2010). 이러한 먹이 기여도의 정량적 평가는 다양한 수생태계 먹이망 연구에 적용되어 연안과 하천 및 호수 생태계에서 다양한 먹이원의 상대적 기여도를 정량적으로 파악하는 데 매우 유용하게 활용되고 있다(Doucette *et al.*, 2011; Vaslet *et al.*, 2012; Masclaux *et al.*, 2013). 더불어 최근에는 Phillips *et al.* (2012)에 의해 대상생물의 주 먹이원에 대한 사전지식, 적합한 안정동위원소 분별계수, 유사한 먹이원의 그룹화 등 안정동위원소 혼합모델을 생태계 내에 적용하기 위해 다양한 고려사항에 대한 논의가 보고된 바 있다.

국내 수생태계 먹이망 구조 연구에 안정동위원소비의 활용 사례

안정동위원소를 활용한 수생태계 먹이망 구조 연구는 1980년대 이후로 현재까지 전 세계적으로 널리 사용되고 있으며 그 사례가 지속적으로 증가하는 추세이다(Fig. 1A). 국내에서 안정동위원소비가 먹이망 구조 연구에 활용된 연구 사례는 해외에 비하여 매우 적은 것으로 나타났으나, 지난 10여 년간 점진적으로 증가하고 있다(Fig. 1B). 국내 주요 연구사례로는 2000년대 이후 연안생태계에서 일차생산자인 저서미세조류의 먹이원으로써의 중요성(Kang *et al.*, 2003), 연안 해초지 주변 저서생태계에 잘피(*Zostera marina*)의 먹이원 기여도 평가와 중형저서동

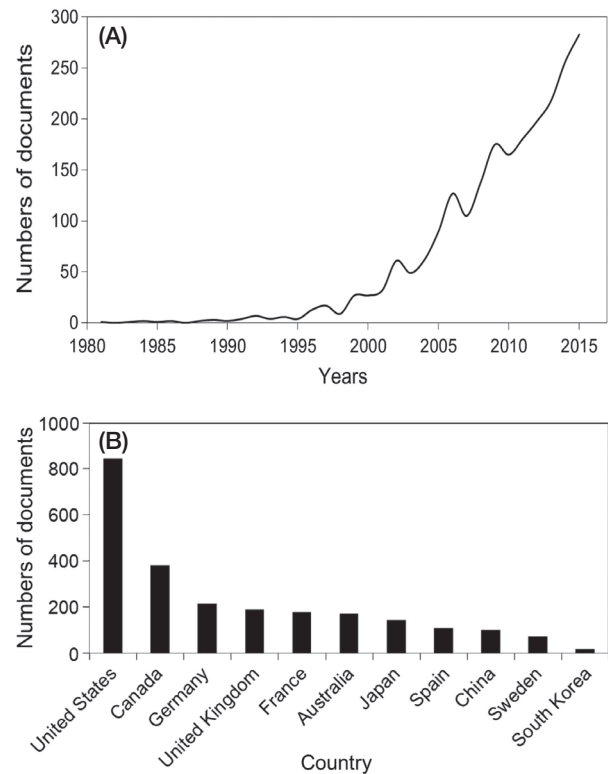


Fig. 1. Histogram of stable isotope approach for aquatic food web studies in all of the world (A) and the number of publication for each country (B). Data were collected from Scopus using the key phrases “stable isotope” and “food web”

물의 영양 생태적 연계성(Ha *et al.*, 2014), 독살 생태계 구조 연구(Jeong *et al.*, 2014), 조간대 갯벌의 먹이망 구조 연구(Kang *et al.*, 2016) 등 다양한 해양 생태계의 먹이망 구조 연구에서 탄소 및 질소 안정동위원소비가 활용되기 시작하였다. 또한 양식 굴과 멧게, 바지락 등 연안 양식생물의 먹이원을 추적하기 위한 방안으로 탄소 및 질소 안정동위원소 분석기법이 활용된 연구 사례가 있다(Kang *et al.*, 2009; Suh and Shin, 2013).

2010년 이후에는 국내에서 담수 생태계의 먹이망 구조 연구에도 안정동위원소비의 활용이 증가하기 시작하였다. 특히 탐진강의 먹이망 구조를 파악하기 위해 안정동위원소비를 활용하여 부착조류의 먹이원으로써의 중요성을 제시한 연구가 보고되었으며(Gal *et al.*, 2012), 이밖에 금강 하류에 서식하는 어류의 섭식 길드 파악(Yoon *et al.*, 2015), 농업용 저수지 먹이망에 대한 외부기원 유기물의 영향 파악(Kim *et al.*, 2014), 저수지의 동물플랑크톤의 먹이원 추적(Choi *et al.*, 2013) 등 다양한 연구가 진행된 바 있다. 또한 국내에서 안정동위원소비의 활용 빈도가 증가함에 따라 시료의 채집 및 전처리 과정, 해석 등과 같은 동

Table 1. summary of case studies on the carbon and nitrogen isotope ratio for aquatic ecology.

Ecosystem	Target	Highlight	Reference
Coast & estuary	Marco algae	Comparison of Food web structure in macroalgal meadow between southern and eastern coast	Kang <i>et al.</i> , 2007
	Seagrass	Food web structure of seagrass	Ha <i>et al.</i> , 2014
	Food web	Food web structure of Doksal ecosystem	Jeong <i>et al.</i> , 2014
	Invertebrate	Food web structure in the intertidal flat	Kang <i>et al.</i> , 2016
River & Stream	Epiphyte	Variation of carbon & nitrogen isotope ratio of epiphyte in northern Han river	Kang <i>et al.</i> , 2011
	Food web	Food web structure in the main and tributary of Tamjin river	Gal <i>et al.</i> , 2012
	Fish	Difference of carbon & nitrogen isotope ratio among fish species	Yoon <i>et al.</i> , 2015
Lake & reservoir	Zooplankton & Fish	Importance of attached zooplankton for fish as diet source	Choi <i>et al.</i> , 2012
	Zooplankton	Identification of diet resource for zooplankton in the small reservoir	Choi <i>et al.</i> , 2013
	Particular organic matter	Spatial and temporal variations in carbon and nitrogen isotope ratio of POM in Lake Paldang	Kim <i>et al.</i> , 2014
	Food web	Temporal variations in isotope ratios of consumers in reservoir	Kim <i>et al.</i> , 2014
	Food web	Variation of Food web by summer monsoon effect in Lake Paldang	Gal <i>et al.</i> , 2016
Mesocosm	Manila clam	Identification of diet resource for manila clam	Suh & Shin, 2013
	Zooplankton	Diet contribution estimation using SIAR	Chang <i>et al.</i> , 2016

위원소 활용방법에 대해 정리한 연구가 소개되기도 하였다(Kim *et al.*, 2013, 2016). 이들 연구에서는 안정동위원소 분석을 위한 시료의 보관과 건조, 생물 체내의 무기탄소 제거, 시료내 지질 제거 등 먹이망 구조 연구에서 필수적인 시료의 전처리 과정에 대한 기존의 연구들을 정리하여 국내 실정에 맞는 시료의 전처리 기법을 정리하였다. 또한 수생태계 먹이망 해석, 생물의 이동경로 파악, 유기물 기원 및 오염원 추적, 물질순환과정을 이해하기 위한 안정동위원소 추적자 활용 연구 등 다양한 연구 분야에 안정동위원소의 적용 방법을 소개함으로써 국내 연구자들을 위한 안정동위원소의 활용방안을 제시하였다. Chang *et al.* (2016)은 메소코즘 실험을 통하여 동물플랑크톤과 여러 먹이원의 탄소와 질소 안정동위원소비를 분석하고, 혼합모델을 활용하여 먹이원의 기여도를 정량적으로 파악하였으며, 향후 국내 안정동위원소 활용 연구에 혼합모델을 활용하는 방안을 제시하였다. 현재까지 보고된 국내에서 안정동위원소의 수생태 활용 연구 사례는 여전히 부족한 수준이지만, 다양한 연구 활용법이 소개되고 있으며, 이를 바탕으로 향후 국내에서 보다 많은 안정동위원소 활용 연구가 수준 높게 진행 될 수 있을 것으로 전망된다(Table 1).

질소 안정동위원소비를 이용한 수생태계 주요 생물의 영양단계 파악 연구

생태계 구조 연구에서 질소 안정동위원소비는 생물의

영양단계, 즉 생태적 지위를 나타내는 자료로서의 활용도가 매우 높다. 특히 하천 및 호수 생태계의 먹이사슬 길이(Food chain length, FCL)의 변화는 수생태계 구성원의 변화를 의미하기 때문에 먹이사슬 길이의 변화는 다양한 생태 구조의 특성에 영향을 미치며, 또한 최상위 섭식자의 오염물질 농축에 영향을 미치기 때문에 과거부터 많은 관심을 받는 연구 분야로, 일차생산력과 같은 먹이생물의 자원량, 생태계 크기, 다양한 교란 작용 등에 영향을 받는 것으로 알려져 있다(Post, 2002). 최근에는 질소 안정동위원소비를 활용하여 특정 생물 및 최상위 영양단계 생물의 생태적 지위를 파악하고, 이를 이용하여 먹이사슬 길이에 대한 정보를 획득하여 다양한 환경 요인과 비교하고자 하는 연구가 진행된 바 있다. 예를 들어 Post *et al.* (2000)은 먹이사슬의 길이(Food chain length, FCL)는 생태계 군집구조의 중요한 성격으로써 생태계 구조 연구에 필수적이며, 생태계의 크기가 먹이사슬의 길이를 결정하는 가장 중요한 요소임을 주장한 바 있다. 또한 생태계의 기초생산력에 의한 먹이사슬 길이의 변동성(Doi *et al.*, 2009), 섭식자에 대한 먹이 가용성이 먹이사슬 길이에 미치는 영향(McHugh *et al.*, 2010) 등에 관한 연구에서 질소 안정동위원소비를 이용하여 산출한 영양단계가 활용되었다.

질소 안정동위원소비를 활용한 수생태계 영양단계에 대한 정보를 제공하고, 이를 활용한 생태계 해석 연구는 국외에서 매우 다양하게 진행되고 있는 반면, 국내에서 질소 안정동위원소비의 활용은 비점오염원의 추적 연구(Hong *et al.*, 2001) 및 먹이망 구조 파악 연구(Kang *et al.*, 2007;

Gal *et al.*, 2012) 등으로 제한되어있다.

질소 안정동위원소비를 통한 생물의 영양단계 정보는 생태계 구조에 대한 해석뿐만 아니라 오염물질의 이동경로를 파악하는 데 활용되기도 한다. 예를 들어 수은, 잔류성 유기오염물질(Persistence Organic Pollutants, POPs) 등의 생물 축적(Biomagnification)을 판단하기 위해 생물의 질소 안정동위원소비를 분석하여 영양단계를 추정하고 이를 각 생물의 오염물질의 농도와 비교한 연구 예시는 매우 다양하다. 이러한 연구방법은 국내에서도 활용된 바 있다. 예를 들어 Kim *et al.* (2012)은 마산만 저서동물의 탄소 및 질소 안정동위원소비와 수은의 농도를 비교하여 저서 생태계에서 수은의 생물 축적을 확인한 바 있으며, Byun *et al.* (2013)은 서해안에 서식하는 생물을 대상으로 다양한 POPs에 대한 생물 농축 과정을 판단하기 위해 질소 안정동위원소비를 활용하였다. 반면에 최근까지 국내 담수 생태계에서 질소 안정동위원소비를 활용하여 오염물질의 생물 축적 과정을 연구한 사례는 거의 없다.

영양단계 산정 연구를 위한 아미노산의 질소 안정동위원소비 분석기법의 도입

질소 안정동위원소비를 활용하여 산출하는 생물의 영양단계는 생태계 내에서 먹이원의 질소 안정동위원소비에 비해 비교적 일정하게 무거워지는 섭식자의 질소 안정동위원소비를 활용하며, 따라서 먹이원과 섭식자의 질소 안정동위원소비의 차이는 영양단계에 따른 안정동위원소 분별 계수(Trophic discrimination factor, TDF)로 불리우며, 다음과 같은 식을 활용하여 생물의 영양단계를 산출할 수 있다.

$$\text{Trophic Position (영양단계)} = (\delta^{15}\text{N}_{\text{Sample}} - \delta^{15}\text{N}_{\text{Primary producer}}) / \text{TDF} + 1 \quad (1)$$

현재까지 전 세계적으로 가장 널리 사용되고 있는 TDF는 1984년 Minagawa and Wada ($3.4 \pm 1.1\%$)에 의해 제안되었다. 그러나 2000년 이후로 질소 안정동위원소를 활용한 다양한 생물의 영양단계 연구로부터 생물 종에 따른 TDF와 기초생산자의 질소 안정동위원소비의 시공간적 변동성에 의해 그 신뢰성에 문제가 제기 되고 있는 상황이다(Chikaraishi *et al.*, 2009). 다양한 연구에서 TDF가 생물 종 간(Vander zanden and Rasmussen, 2001; Post, 2002; Dubois *et al.*, 2007), 생체 시료의 부위별(Reich *et al.*, 2008), 먹이질에 따른 차이가 있을 수 있음이 알려졌다(Robbins *et al.*, 2005). 또한, 다양한 생태계에서 기초생

산자의 질소 안정동위원소비의 시공간적 변동에 의해 상위 생물의 영양단계 추정에 오류가 발생할 수 있는 것으로 알려졌다(Rolff, 2000; Hannides *et al.*, 2009). 특히, 기초생산자의 질소 안정동위원소비의 시공간적 변동은 국내에서도 확인되었는데, Kim *et al.* (2014)의 연구에서 팔당호의 입자성 유기물의 질소 안정동위원소비는 계절과 정점에 따라 2.0~13.5%의 범위를 나타내는 것으로 확인되었으며, 북한강에서 채집된 부착조류의 질소 안정동위원소비는 -2.1~7.1%의 범위를 보이는 것으로 확인되었다(Kang *et al.*, 2011). 이러한 질소 안정동위원소비를 활용한 영양단계의 불확실성에 대한 연구 사례들은 결과적으로 이를 극복하기 위한 새로운 연구방법에 대한 필요성을 제기하게 되었다.

최근 수생태계 연구에서 정확한 영양단계 산출을 위한 방법으로 아미노산의 질소 안정동위원소 분석 기법 활용이 크게 주목을 받고 있다. Macko *et al.* (1997)의 연구에 의해 가스크로마토그래피와 안정동위원소 질량분석기를 활용한 개별 아미노산의 질소 안정동위원소 분석 기법이 최초로 보고 되었으며, 이후 McClelland and Montoya (2002)의 연구에서 아미노산은 영양단계에 따른 질소 안정동위원소비의 변화를 보이는 아미노산과 차이가 나타나지 않는 아미노산으로 구분되는 것으로 확인되었다. 이러한 질소 안정동위원소비의 특성에 따라 개별 아미노산은 질소 안정동위원소비의 변화를 보이는 “trophic” 아미노산과 변화가 없는 “source” 아미노산으로 명명되었다(McCarthy *et al.*, 2007). 또한 개별 아미노산의 질소 안정동위원소비의 특성은 생물 체내에서 각 아미노산의 대사과정에 의한 차이에 기인하는 것으로 밝혀졌다. 즉 trophic 아미노산은 탈아민화 과정에서 아민기의 질소가 분리될 때 질소 안정동위원소 분별작용이 매우 큰 것에 비해 source 아미노산의 대사과정에는 아민기와 관련된 반응이 일어나지 않기 때문에 안정동위원소 분별작용에 의한 동위원소비의 차이가 매우 작거나 없는 것으로 확인되었다(Chikaraishi *et al.*, 2007). 따라서 질소 안정동위원소비 분별 특성이 다른 두 그룹의 아미노산들을 활용한 영양단계 산출에 활용 가능 여부에 대한 연구가 논의되었으며, 여러 연구에서 보다 정확하게 영양단계를 추정하기 위한 trophic 아미노산과 source 아미노산의 최적의 쌍을 결정하기 위한 시도가 이루어진 결과, 페닐알라닌과 글루타민산의 질소 안정동위원소비가 가장 적합한 것으로 밝혀졌다(McCarthy *et al.*, 2007; Popp *et al.*, 2007; Hannides *et al.*, 2009). 결과적으로 Chikaraishi *et al.* (2009)에 의해 수생태계에서 단일 섭식자의 페닐알라닌과 글루타민산의 질소 안정동위원소비를 활용한 영양단계 산출식이 제안되었다(Fig. 2, 식 2).

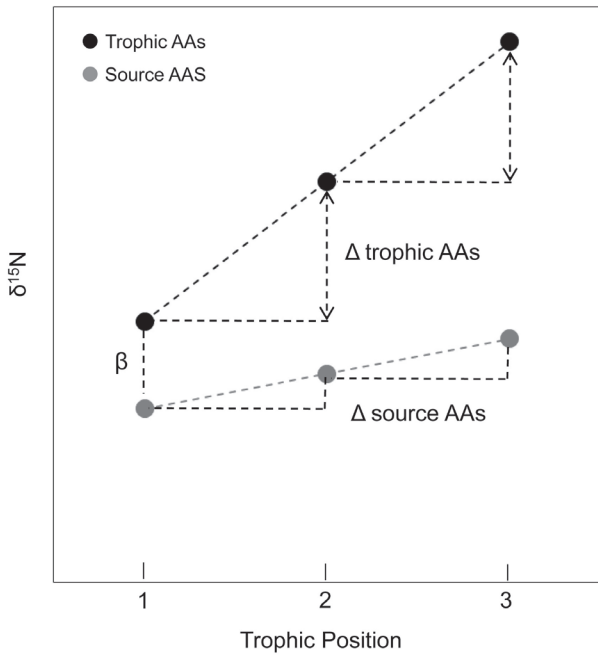


Fig. 2. Schematic explanation of variation in the nitrogen isotope ratio of amino acids (AAs), modified from the illustration of Chikaraishi *et al.* (2007).

$$TP_{Glu/Phe} = [(\delta^{15}N_{Glu} - \delta^{15}N_{Phe} - \beta) / TDF] + 1 \quad (2)$$

위 식에서 β는 기초생산자의 페닐알라닌과 글루타민산의 질소 안정동위원소비 차이로, 수생조류의 경우 3.4‰의 값을 가지며, TDF는 Chikaraishi *et al.* (2009)에 의해 밝혀진 값(7.6‰)이 사용되고 있다.

아미노산의 질소 안정동위원소비를 활용한 영양단계 산출기법의 가장 큰 장점은 한 생체 내에서 먹이원의 질소 안정동위원소비에 대한 정보와 영양단계 정보를 모두 확보할 수 있는 것이다. 이는 먹이원의 질소 안정동위원소비의 변동성으로부터 독립적인 영양단계를 파악할 수 있어, 기존의 총 조직(bulk tissue) 내의 질소 안정동위원소비를 활용한 영양단계 산출에서 야기되는 단점을 보완할 수 있다(Fig. 3). 특히 우리나라의 하천과 호수, 연안과 같이 기초생산자에 대한 질소원의 변화가 큰 수생태계에서 아미노산의 질소 안정동위원소비를 활용한 영양단계 산출 기법은 매우 유용할 수 있다. 또한 아미노산의 질소 안정동위원소비를 활용한 영양단계 산출식의 TDF가 기존의 영양단계 계산(식 1)에 비해 크기 때문에 TDF의 변동에 의한 영양단계의 오차범위도 줄어들 것으로 보고되었다. 예를 들어 Bowes and Thorp (2015)의 연구에서는 배양실험을 통해 이론적으로 영양단계가 정확한 생물의 질소 안정동위원소비를 활용하여 영양단계를 추정하였을 때 기존의

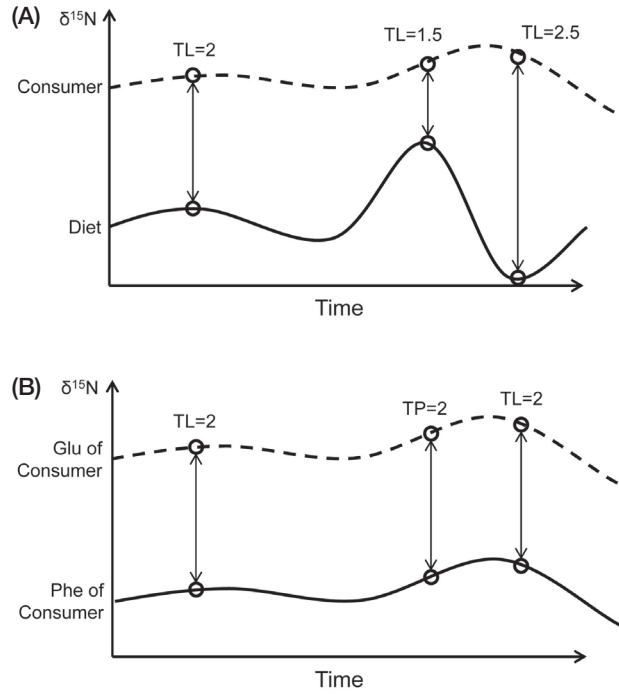


Fig. 3. Comparison of temporal variations of the trophic level (TL) estimated by using nitrogen isotope ratio of bulk tissue (A) and individual amino acids (B). Glu and Phe indicate Glutamic acid and Phenylalanine, respectively.

총 조직 내의 질소 안정동위원소비를 활용한 영양단계(식 1)의 오차범위(0.5)보다 아미노산의 질소 안정동위원소비를 활용한 영양단계(식 2)의 오차범위(0.2 이하)가 매우 작은 것으로 확인되었다. 최근 Chikaraishi *et al.* (2015)의 연구에서는 시료의 부위에 따른 차이가 거의 없음을 보고되어, 더욱 다양한 환경의 수생태계 주요 생물 종에 대한 영양단계를 추정할 수 있을 것으로 기대되고 있다.

아미노산의 질소 안정동위원소비를 활용한 생물의 영양단계에 대한 정보를 획득하는 것은 오염물질의 생물 축적 연구에도 활용가치가 매우 높을 것으로 전망된다. 예를 들어 Sackett *et al.* (2015)의 연구에서는 수은의 생물 축적을 파악하기 위하여 아미노산의 질소 안정동위원소에서 영양단계의 정보를 추적하여 이를 활용하여 수은의 생물축적 계수를 산정하는 데 성공하였다. 현재까지 생물 축적 연구에 아미노산의 질소 안정동위원소비가 활용된 연구 사례는 매우 드물지만, 향후 활발한 연구가 진행될 수 있을 것으로 전망된다.

아미노산의 질소 안정동위원소비를 활용한 생물의 영양단계 산출은 수생태계 뿐만 아니라 육상생태계의 생물에도 적용이 가능한 것으로 보고되었다. 육상식물의 경우, 리그닌 합성과정에서 페닐알라닌의 질소 안정동위원소 분별

작용이 생겨 β 값이 수생태계와 다르기 때문에 새로운 산출 식이 활용 가능한 것으로 보고되었다(식 3, Chikaraishi *et al.*, 2010).

$$TP_{C3plant} = [(\delta^{15}N_{Glu} - \delta^{15}N_{Phe} + 8.4) / 7.6] + 1 \quad (3)$$

하천의 경우, 육상식물 잔해의 유입이 많기 때문에 이를 고려할 필요성이 있어 수생 조류와 육상 식물의 기여도에 따른 식이 요구되어, Ishikawa *et al.* (2014)의 연구에서는 페닐알라닌의 질소 안정동위원소비를 이용하여 먹이원의 기여도를 평가하고, 이를 고려한 β 값을 영양단계 산출에 활용한 바 있다. 또한 수생조류와 C3식물의 페닐알라닌의 질소 안정동위원소비가 유사한 경우, 총 조직 내의 탄소 안정동위원소비를 활용하여 기초생산자의 먹이원 기여도를 파악하고 이를 활용하여 β 값을 추정하여 영양단계 산출에 활용이 가능하며, 이러한 방식을 통해 잘피 군락에서 식하는 섭식동물의 영양단계를 파악하는 연구가 국내에서 최초로 진행된 바 있다(Choi *et al.*, 2017). 현재까지 아미노산의 질소 안정동위원소비의 활용 사례는 다양한 유용성에도 불구하고 분석기법의 어려움과 고가의 분석 비용으로 인해 일부 연구자들에 의해 제한적으로 진행되고 있으나 향후 국내 하천 및 호수 생태계에서 생물의 영양단계를 파악하고 FCL을 산정하는 연구 등에서 아미노산의 질소 안정동위원소비의 활용 가능성은 매우 높을 것으로 기대된다.

다양한 수생태계 연구에 아미노산의 질소 안정동위원소비의 활용 전망

아미노산의 질소 안정동위원소는 생물의 영양단계 추정 연구뿐만 아니라, 다른 연구 분야에서의 활용 방안에도 대해서도 논의가 된 바 있다. 예를 들어, 알라닌, 아스파탁산, 글루타민산, 이소류신, 류신, 프롤린 등과 같은 trophic 아미노산의 질소 안정동위원소의 평균 편차를 활용하여 수층 및 퇴적물 내에서 중속박테리아에 의한 유기물 분해 정도를 파악할 수 있는 정보를 확보할 수 있는 것으로 보고되었다(McCarthy *et al.*, 2007). 최근에는 이를 활용하여 해양(Batista *et al.*, 2014) 및 호수 퇴적물(Carstens *et al.*, 2013)에서 퇴적물 내 유기물에 대한 미생물의 기여도를 파악하고자 하는 연구가 시도 된 바 있다. 실제로 퇴적물에는 다양한 복합 기질과 유기물이 존재하기 때문에 아미노산의 질소 안정동위원소비 분석을 위해서는 정제과정을 거쳐야 하는 분석기법의 어려움이 있고(Takano *et al.*, 2010) 퇴적물 내 질소의 안정동위원소는 퇴적 후 변화에 민감하기 때문에 해석의 어려움이 있다(Batista *et al.*, 2014). 이러한 문

제점에 의해 현재까지 퇴적물 내 유기물의 아미노산 질소 안정동위원소비의 활용에 대한 연구 사례는 아주 적은 편이지만, 향후 분석 시료 처리법 및 분석 기기의 발전을 통하여 퇴적물 내에서 아미노산의 질소 안정동위원소비 분석이 수월해 진다면, 퇴적물 내에서 미생물에 의한 유기물의 분해 및 재합성 과정 등에 대한 다양한 정보를 획득할 수 있을 것으로 기대되고 있다.

질소 안정동위원소 분석기법은 수생태계 내에서 질소의 기원을 추적하기 위한 방법으로도 사용되어진 바 있으며(Shell *et al.*, 1998; Watanabe *et al.*, 2009), 국내에서도 농촌 기원 질소원의 하천으로의 유입(Hong *et al.*, 2001), 하천에 서식하는 부착조류에 대한 질소원의 변화 추적(Kang *et al.*, 2011) 등의 연구에 활용된 바 있다. 최근에는 질소원의 추적자로서 먹이원과 섭식자 사이의 질소 안정동위원소비가 매우 작은 차이를 나타내는 source 아미노산의 활용 가능성에 대한 연구가 진행되고 있다. 예를 들어 다양한 생물에서 source 아미노산 중 가장 많이 활용되는 페닐알라닌의 질소 안정동위원소비를 분석하여 질소원에 대한 정보를 파악한 연구 사례들이 보고된 바 있다(e.g. mussel, Vokhshoori *et al.*, 2010; blue pin tuna, Lorrain *et al.*, 2015). 특히 국내 수생태 환경은 계절적인 질소 기원의 변화가 크기 때문에, 질소원의 배경 안정동위원소비 값을 정확하게 파악하는 것은 수생태계 먹이망 구조 및 영양단계 추정 연구에 매우 중요한 과제로 여겨진다. 따라서 아미노산의 질소 안정동위원소비를 활용한 배경 질소원의 안정동위원소비 파악 연구는 향후 국내 수생태 환경을 이해하기 위해 대단히 중요한 기초 자료를 제공할 수 있을 것으로 사료된다. 또한 최근에는 먹이원의 분류군(육상식물, 식물플랑크톤, 균류, 박테리아 등)에 따라 필수 아미노산의 탄소 안정동위원소비의 분포 특성에 차이가 있으며, 먹이원과 섭식자간 안정동위원소 분별작용이 거의 없는 것이 확인되었으며, 이를 활용한 섭식자의 먹이원 추적연구가 가능할 것으로 밝혀졌다(Larsen *et al.*, 2012; McMahon *et al.*, 2016). 아미노산의 탄소 안정동위원소비는 분석기법의 어려움에 의해 현재까지는 활용 사례가 매우 제한적이지만, 향후 더욱 정밀하고 정확한 수생태계 먹이망 구조를 파악하기 위한 연구기법으로써 유용하게 활용 될 것으로 전망되고 있다.

적 요

안정동위원소비는 전 세계적으로 수생태 환경 연구에서 매우 활발하게 적용되고 있는 분야로서, 국내에서도 2000

년대 이후 담수 및 연안 생태계의 먹이망 구조 연구 등 다양한 연구에서 활용되고 있다. 최근에는 기존의 총 조직 내의 안정동위원소 분석기법의 한계점을 인지하고 보완하기 위한 방안으로 아미노산의 질소 안정동위원소 분석 기법이 개발되었으며, 이를 활용한 다양한 연구 사례들이 보고됨에 따라 수생태 연구의 활용범위가 급격히 확대되고 있다. 아미노산의 질소 안정동위원소 분석기법의 기술적인 접근성의 한계에 의해 현재까지 국내에서 수생태계 연구를 위해 아미노산의 질소 안정동위원소비를 활용한 연구는 제한적인 실정이지만, 국내 다양한 하천 및 호수 그리고 연안의 환경 변화 특성을 고려할 때, 향후 수생태 환경 연구에 있어 그 유용성과 활용 가치가 대단히 높을 것으로 전망된다.

사 사

이 논문은 2015년 해양수산부 재원으로 한국해양과학기술진흥원의 지원을 받아 수행된 연구임(아미노산 질소 안정동위원소비를 이용한 해양 유입 질소 기원 및 거동 연구, 통합형 수산물 감식 정보센터 구축을 위한 실용기술 개발).

REFERENCES

- Batista, F.C., A.C. Ravelo, J. Crusius, M.A. Casso and M.D. McCarthy. 2014. Compound specific amino acid $\delta^{15}\text{N}$ in marine sediments: A new approach for studies of the marine nitrogen cycle. *Geochimica et Cosmochimica Acta* **142**: 553-569.
- Bowes, R.E. and J.H. Thorp. 2015. Consequences of employing amino acid vs. bulk-tissue, stable isotope analysis: a laboratory trophic position experiment. *Ecosphere* **6**(1): 1-12.
- Carstens, D., M.F. Lehmann, T.B. Hofstetter and C.J. Schubert. 2013. Amino acid nitrogen isotopic composition patterns in lacustrine sedimenting matter. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, **121**: 328-338.
- Chang, K.H., D.I. Seo, S.M. Go, S. Masaki, G.S. Nam, J.Y. Choi, M.S. Kim, K.S. Jeong, G.H. La and H.W. Kim. 2016. Feeding behavior of crustaceans (cladocera, copepoda and ostracoda): food selection measured by stable isotope analysis using R package SIAR in mesocosm experiment. *Korean Journal of Ecology and Environment* **49**: 279-288.
- Chikaraishi, Y., N.O. Ogawa and N. Ohkouchi. 2010. Further evaluation of the trophic level estimation based on nitrogen isotopic composition of amino acids, p. 37-51. *In*: Earth, life, and isotopes (Ohkouchi, N., I. Tayasu and K. Koba, eds.). Kyoto Univ. Press.
- Chikaraishi, Y., S.A. Steffan, N.O. Ogawa, N.F. Ishikawa, Y. Sasaki, M. Tsuchiya and N. Ohkouchi. 2014. High-resolution food webs based on nitrogen isotopic composition of amino acids. *Ecology and Evolution* **4**(12): 2423-2449.
- Chikaraishi, Y., Y. Kashiyama, N.O. Ogawa, H. Kitazato and N. Ohkouchi. 2007. Metabolic control of nitrogen isotope composition of amino acids in macroalgae and gastropods: implications for aquatic food web studies. *Marine Ecology Progress Series* **342**: 85-90.
- Choi, J.Y., G.H. La, K.S. Jeong, S.K. Kim, K.H. Chang and G.J. Joo. 2012. Classification by zooplankton inhabit character and freshwater microbial food web: importance of epiphytic zooplankton as energy source for high-level predator. *Korean Journal of Limnology* **45**(4): 444-452.
- Choi, J.Y., S.K. Kim, S.W. Hong, K.S. Jeong, G.H. La and G.J. Joo. 2013. Zooplankton Community Distribution and Food Web Structure in Small Reservoirs: Influence of Land Uses around Reservoirs and Littoral Aquatic Plant on Zooplankton. *Korean Journal of Ecology and Environment* **46**(3): 332-342.
- DeNiro, M.J. and S. Epstein. 1978. Influence of diet on the distribution of carbon isotopes in animals. *Geochimica et Cosmochimica Acta* **42**(5): 495-506.
- DeNiro, M.J. and S. Epstein. 1981. Influence of diet on the distribution of nitrogen isotopes in animals. *Geochimica et Cosmochimica Acta* **45**(3): 341-351.
- Doi, H., K. Chang, Y. Obayashi, M. Yoshihara, M. Shime, T. Yamamoto, Y. Nishibe and S.I. Nakano. 2008. Attached microalgae contribute to planktonic food webs in bays with fish and pearl oyster farms. *Marine Ecology Progress Series* **353**: 107-113.
- Doi, H., K.H. Chang, T. Ando, I. Ninomiya, H. Imai and S.I. Nakano. 2009. Resource availability and ecosystem size predict food-chain length in pond ecosystems. *Oikos* **118**(1): 138-144.
- Doucette, J.L., B. Wissel and C.M. Somers. 2011. Cormorant-fisheries conflicts: stable isotopes reveal a consistent niche for avian piscivores in diverse food webs. *Ecological Applications* **21**(8): 2987-3001.
- Dubois, S., B. Jean-Louis, B. Bertrand and S. Lefebvre. 2007. Isotope trophic-step fractionation of suspension-feeding species: implications for food partitioning in coastal ecosystems. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* **351**(1): 121-128.
- France, R.L. 1995. Differentiation between littoral and pelagic food webs in lakes using stable carbon isotopes. *Limnology and Oceanography* **40**(7): 1310-1313.
- Fry, B. and E.B. Sherr. 1989. $\delta^{13}\text{C}$ measurements as indicators of carbon flow in marine and freshwater ecosystems. *In Stable isotopes in ecological research*, Springer 196-229.
- Fry, B. 1991. Stable isotope diagrams of freshwater food webs.

- Ecology* **72**(6): 2293-2297.
- Gal, J.K., G. Ock, H.K. Park and K.H. Shin. 2016. The effect of summer monsoon on pelagic and littoral food webs in a large regulated reservoir (Lake Paldang, Korea): A stable isotope approach. *Journal of Freshwater Ecology* **31**(3): 327-340.
- Gal, J.K., M.S. Kim, Y.J. Lee, J. 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 Limnology* **45**: 242-251.
- Ha, S., W.K. Min, D.S. Kim and K.H. Shin. 2014. Trophic importance of meiofauna to polychaetes in a seagrass (*Zostera marina*) bed as traced by stable isotopes. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom* **94**(1): 121-127.
- Hannides, C.C., B.N. Popp, M.R. Landry and B.S. Graham. 2009. Quantification of zooplankton trophic position in the North Pacific Subtropical Gyre using stable nitrogen isotopes. *Limnology and Oceanography* **54**(1): 50-61.
- Hong, Y.J., S.K. Jin and S.G. Hong. 2001. Identification of the sources of nitrate using stable isotope mass ratio in rural watersheds. *Journal of the Korean Society of Agricultural Engineers* **43**: 120-128.
- Ishikawa, N.F., Y. Kato, H. Togashi, M. Yoshimura, C. Yoshimizu, N. Okuda and I. Tayasu. 2014. Stable nitrogen isotopic composition of amino acids reveals food web structure in stream ecosystems. *Oecologia* **175**(3): 911-922.
- Jeong, S.J., M.S. Yoon, C.R. Lee, J.K. Ahn, H.S. Noh and J.B. Jeong. 2014. Assessing the ecological function of Doksal in Taeanhaean National park. *Journal of National Park Research* **5**: 68-75.
- Kang, C.K., E.J. Choy, H.S. Song, H.J. Park, I.S. Soe, Q. Jo and K.S. Lee. 2007. Isotopic determination of food sources of benthic invertebrates in two different macroalgal habitats in the Korean coasts. *The Sea Journal of the Korean Society of Oceanography* **12**: 380-389.
- Kang, C.K., E.J. Choy, Y.S. Kim and H.J. Park. 2009. $\delta^{13}\text{C}$ evidence for the Importance of local benthic producers to fish nutrition in the inner bay systems in the southern coast of Korea. *The Sea Journal of the Korean Society of Oceanography* **14**: 56-62.
- Kang, J.I., J. Kim and S.D. Lee. 2011. Studies on stream ecosystem in the Bukhan River using stable isotopes. *Journal of Wetlands Research* **13**: 515-522.
- Kang, S., B. Choi, Y. Han and K.H. Shin. 2016. Ecological importance of benthic microalgae in the intertidal mud flat of Yeongheung Island; application of stable isotope analysis (SIA). *Korean Journal of Ecology and Environment* **49**: 80-88.
- Kim, E., H. Kim, K.H. Shin, M.S. Kim, S.R. Kundu, B.G. Lee and S. 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.M. Kim, J.Y. Hwang, B.K. Kim, H.S. Cho, S.J. Youn, S.Y. Hong, O.S. Kwon and W.S. Lee. 2014. Determination of the origin of particulate organic matter at the lake Paldang using stable isotope ratio ($\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{15}\text{N}$). *Korean Journal of Ecology and Environment* **47**(2): 127-134.
- Kim, M.S., J.Y. Hwang, O.S. Kwon and W.S. Lee. 2013. Analytical Methodology of Stable Isotopes Ratios: Sample Pretreatment, Analysis and Application. *Korean Journal of Ecology and Environment* **46**(4): 471-487.
- Kim, M.S., W.S. Lee, K. Suresh Kumar, K.H. Shin, W. Robarge, M. Kim and S.R. Lee. 2016. Effects of HCl pretreatment, drying, and storage on the stable isotope ratios of soil and sediment samples. *Rapid Communications in Mass Spectrometry* **30**(13): 1567-1575.
- Kim, M.S., Y.J. Lee, K.G. An, B.H. Kim, S.J. Hwang and K.H. Shin. 2014. Allochthonous organic matter contribution to foodweb in Shingu agricultural reservoir after rainfall period. *Korean Journal of Ecology and Environment* **47**(1): 53-61.
- Larsen, T., M.J. Wooller, M.L. Fogel and D.M. O'Brien. 2012. Can amino acid carbon isotope ratios distinguish primary producers in a mangrove ecosystem? *Rapid Communications in Mass Spectrometry* **26**(13): 1541-1548.
- Lorrain, A., B.S. Graham, B.N. Popp, V. Allain, R.J. Olson, B.P. Hunt, M. Potier, B. Fry, F. Galván-Magaña, C.E.R. Menkes and S. Kaehler. 2015. Nitrogen isotopic baselines and implications for estimating foraging habitat and trophic position of yellowfin tuna in the Indian and Pacific Oceans. *Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography* **113**: 188-198.
- Macko, S.A., M.E. Uhle, M.H. Engel and V. Andrusevich. 1997. Stable nitrogen isotope analysis of amino acid enantiomers by gas chromatography/combustion/isotope ratio mass spectrometry. *Analytical Chemistry* **69**(5): 926-929.
- Masclaux, H., M.E. Perga, M. Kagami, C. Desvillettes, G. Bourdier and A. Bec. 2013. How pollen organic matter enters freshwater food webs. *Limnology and Oceanography* **58**(4): 1185-1195.
- McCarthy, M.D., R. Benner, C. Lee and M.L. Fogel. 2007. Amino acid nitrogen isotopic fractionation patterns as indicators of heterotrophy in plankton, particulate, and dissolved organic matter. *Geochimica et Cosmochimica Acta* **71**(19): 4727-4744.
- McClelland, J.W. and J.P. Montoya. 2002. Trophic relationships and the nitrogen isotopic composition of amino acids in plankton. *Ecology* **83**(8): 2173-2180.
- McHugh, P.A., A.R. McIntosh and P.G. Jellyman. 2010. Dual influences of ecosystem size and disturbance on food chain length in streams. *Ecology Letters* **13**(7): 881-890.
- McMahon, K.W. and M.D. McCarthy. 2016. Embracing variability in amino acid $\delta^{15}\text{N}$ fractionation: mechanisms, implications, and applications for trophic ecology. *Eco-*

- sphere* **7**(12): e01511.
- McMahon, K.W., S.R. Thorrold, L.A. Houghton and M.L. Berumen. 2016. Tracing carbon flow through coral reef food webs using a compound-specific stable isotope approach. *Oecologia* **180**(3): 809-821.
- 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**(5): 1135-1140.
- Moens, T. and M. Vincx. 1997. Observations on the Feeding Ecology of Estuarine Nematodes. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom* **77**(1): 211-227.
- Ojeda, F.P. and A.A. Munoz. 1999. Feeding selectivity of the herbivorous fish *Scartichthys viridis*: effects on macroalgal community structure in a temperate rocky intertidal coastal zone. *Marine Ecology Progress Series* **184**: 219-229.
- Parnell, A.C., R. Inger, S. Bearhop and A.L. Jackson. 2010. Source partitioning using stable isotopes: coping with too much variation. *PLoS One* **5**(3): e9672.
- Phillips, D.L., R. Inger, S. Bearhop, A.L. Jackson, M.J.W. Moore, A.C. Parnell, B.X. Semmens and E.J. Ward. 2014. Best practices for use of stable isotope mixing models in food-web studies. *Canadian Journal of Zoology* **92**(10): 823-835.
- Phillips, D.L., S.D. Newsome and J.W. Gregg. 2005. Combining sources in stable isotope mixing models: alternative methods. *Oecologia* **144**(4): 520-527.
- Popp, B.N., B.S. Graham, R.J. Olson, C.C. Hannides, M.J. Lott, G.A. LópezIbarra, F. Galvan-Magana and B. Fry. 2007. Insight into the trophic ecology of yellowfin tuna, *Thunnus albacares*, from compound-specific nitrogen isotope analysis of proteinaceous amino acids. *Terrestrial Ecology* **1**: 173-190.
- Post, D.M., M.L. Pace and N.G. Hairston Jr. 2000. Ecosystem size determines food-chain length in lakes. *Nature* **405**(6790): 1047-1079.
- Post, D.M. 2002. Using stable isotopes to estimate trophic position: models, methods, and assumptions. *Ecology* **83**(3): 703-718.
- Reich, K.J., K.A. Bjorndal and C.M. Del Rio. 2008. Effects of growth and tissue type on the kinetics of ^{13}C and ^{15}N incorporation in a rapidly growing ectotherm. *Oecologia* **155**(4): 651-663.
- Robbins, C.T., L.A. Felicetti and M. Sponheimer. 2005. The effect of dietary protein quality on nitrogen isotope discrimination in mammals and birds. *Oecologia* **144**(4): 534-540.
- Rolff, C. 2000. Seasonal variation in $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ of size-fractionated plankton at a coastal station in the northern Baltic proper. *Marine Ecology Progress Series* **203**: 47-65.
- Sackett, D.K., J.C. Drazen, C.A. Choy, B. Popp and G.L. Pitz. 2015. Mercury sources and trophic ecology for Hawaiian Bottomfish. *Environmental Science & Technology* **49**(11): 6909-6918.
- Schell, D.M., B.A. Barnett and K.A. Vinette. 1998. Carbon and nitrogen isotope ratios in zooplankton of the Bering, Chukchi and Beaufort seas. *Marine Ecology Progress Series* **162**: 11-23.
- Suh, Y.J. and K.H. Shin. 2013. Size-related and seasonal diet of the manila clam (*Ruditapes philippinarum*), as determined using dual stable isotopes. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* **135**: 94-105.
- Takano, Y., Y. Kashiyama, N.O. Ogawa, Y. Chikaraishi and N. Ohkouchi. 2010. Isolation and desalting with cation-exchange chromatography for compound-specific nitrogen isotope analysis of amino acids: application to biogeochemical samples. *Rapid Communications in Mass Spectrometry* **24**(16): 2317-2323.
- Vander Zanden, M. and J.B. Rasmussen. 1999a. Primary consumer $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ and the trophic position of aquatic consumers. *Ecology* **80**(4): 1395-1404.
- Vander Zanden, M.J. and J.M. Casselman, J.B. Rasmussen. 1999b. Stable isotope evidence for the food web consequences of species invasions in lakes. *Nature* **401**(6752): 464-467.
- Vaslet, A., D.L. Phillips, C. France, I.C. Feller and C.C. Baldwin. 2012. The relative importance of mangroves and seagrass beds as feeding areas for resident and transient fishes among different mangrove habitats in Florida and Belize: evidence from dietary and stable-isotope analyses. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* **434**: 81-93.
- Vokhshoori, N.L. and M.D. McCarth. 2014. Compound-specific $\delta^{15}\text{N}$ amino acid measurements in littoral mussels in the California upwelling ecosystem: a new approach to generating baseline $\delta^{15}\text{N}$ isoscapes for coastal ecosystems. *PLoS One* **9**(6): e98087.
- Watanabe, S., M. Kodama and M. Fukuda. 2009. Nitrogen stable isotope ratio in the manila clam, *Ruditapes philippinarum*, reflects eutrophication levels in tidal flats. *Marine Pollution Bulletin* **58**(10): 1447-1453.
- Yoon, J.D., S.H. Park, K.H. Chang, J.Y. Choi, G.J. Joo, G.S. Nam, J. Yoon and M.H. Jang. 2015. Characteristics of fish fauna in the lower Geum River and identification of trophic guilds using stable isotopes analysis. *Korean Journal of Environmental Biology* **33**(1): 34-44.