

胶州湾海水中溶解氨基酸的研究*

陆田生 纪明侯

(中国科学院海洋研究所, 青岛 266071)

摘要 于1986年1月—11月用高效液相色谱法分析胶州湾10个站位表层和底层海水中溶解游离氨基酸(DFAA)的组成、含量的分布及其季节变化。结果表明,7个站位的表层海水中月平均总溶解游离氨基酸(TDFAA)含量范围为1.24—2.28 $\mu\text{mol/L}$ 。多数站位在2月份处于最低值(0.4 $\mu\text{mol/L}$),11月份达最高值(5.0 $\mu\text{mol/L}$)。所测氨基酸中, Glu, Gly, Arg, Leu, Orn, Ser等占优势。湾内东部几个站位表层水中DFAA含量明显地高于其他站位。各站位的溶解结合氨基酸(DCAA)含量一般都高于DFAA的含量,而且两者的氨基酸组成也有差异。几个站位的底层水中的TDFAA含量,除个别外,一般都低于表层。室内实验表明,DFAA最易受生物过程的影响。

关键词 反相高效液相色谱(HPLC)法 溶解游离氨基酸(DFAA) 溶解结合氨基酸(DCAA) 总溶解游离氨基酸(TDFAA) 胶州湾

海水中溶解氨基酸(DAA)是生物活动的产物,它们在海域中的含量和分布与初级生产力的水平有着密切的关系。本文报告胶州湾海水中溶解氨基酸[包括溶解游离氨基酸(DFAA)和溶解结合氨基酸(DCAA)]含量的分布、季节变化,表层和底层海水中的含量,以期为研究中国近海水域初级生产力的水平提供科学依据。

1 实验水样与方法

1.1 采水站位和水样保存 1986年1月底、2月底、4月中旬、5月底、7月初、8月初和11月底于10个站位(图1)采取了表层水;对于较深的站位如C₃, F₃和H₁站采了底层水。表层水用聚乙烯桶采取;底层水用5L Niskin采水器在离海底约2m深处采取。水样用铺一层玻璃纤维滤膜(Whatman GF/C, 约1 μm)的注射过滤器压滤。滤膜预先在500 $^{\circ}\text{C}$ 下灼烧6h。滤后的水样注入50mL聚乙烯瓶内,放于-20 $^{\circ}\text{C}$ 低温冰箱中保存至分析。分析用器皿都先用热铬酸液浸泡,再用稀盐酸浸泡24h。然后依次以重蒸馏水和Milli-Q高纯水冲洗,使用前再以样品水冲洗。

1.2 DFAA的分析 根据王玉君等(1989)改进的反相高效液相色谱法,分离和测定各氨基酸的邻苯二甲醛(OPA)的柱前荧光衍生物。分析偏差约10%。所用仪器为AAA系统液相色谱仪(Waters公司)。先后用的色谱柱为300 \times 4mm的 μ -Badpack 10 μm C₁₈柱(Water Associates)和125 \times 4mm 3 μ C₁₈柱(大连色谱技术开发公司)。

* 硕士论文的一部分。陆田生,男,出生于1954年9月,现在国外攻读博士后。

沈志良同志协助无机氮盐分析;王玉君和李烈英同志协助HPLC分析;杨鹤鸣同志协助DOC分析,在此谨志谢忱。

收稿日期:1993年8月18日,接受日期:1995年8月31日。

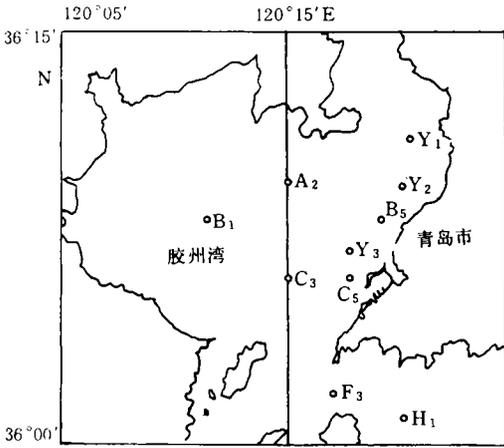


图1 胶州湾采水站位

Fig. 1 Sampling stations in Jiaozhou Bay, Qingdao

样中 CO_2 含量。采用改进后的苯酚-硫酸法(纪明侯等, 1983 a), 测 DCHO 含量。

1.5 颗粒有机物(POM)的分解 取青岛汇泉湾海水 83L 通过玻璃纤维滤膜(GF/C)抽滤。将滤膜上的颗粒物放入 1.5L 过滤的海水中。于室温下每小时通空气4次(每次 2 min), 使其自然分解。每天定时取样, 用同上滤膜抽滤。测定滤液中 DOC, DCHO 和 DFAA 含量。

2 结果与讨论

2.1 表层海水中 DFAA 的含量 胶州湾 C_5 站 1986 年 1 月到同年 11 月 7 次采取的表层水中的 DFAA 含量见表 1。可以看出, C_5 站的 7 个月表层水中 DFAA 含量较高的为 Glu, Gly, Arg, Leu, Orn, Ser 等, 一般含量在 $0.1 \mu\text{mol/L}$ 以上, 其他种氨基酸多数低于 $0.02 \mu\text{mol/L}$, 有的甚至检测不出来(Pro 不能与 OPA 生成衍生物, Lys 的衍生物很不稳定。本文未加讨论)。在所测氨基酸中以中性者含量最高, 为氨基酸总含量的 55%; 碱性者(His, Arg, Orn)次之, 为 30%; 酸性者(Asp, Glu)最低, 为 15%。其测定结果与 Mopper 等(1979)对波罗的海海水的 DFAA 含量, Braven 等(1984)对英吉利海峡海水中 DFAA 含量所测结果(中性 > 碱性 > 酸性氨基酸含量)相似, 与纪明侯等(1983 b)对东海沉积物间隙水所测结果比较接近。胶州湾海水 DFAA 中 Glu, Gly, Arg, Leu, Ser 等所占组成比例较高, 因它们是构成硅藻细胞的主要成分。有些氨基酸如 Thr, Tyr, Phe 等虽在浮游植物体中含量较高, 但在海水中的含量却很低, 表明控制 DFAA 组成的因素除浮游植物的种类外, 还有这些植物的生理需求、异养生物的选择性吸收等因素。陆田生¹⁾等在对小角刺藻的培养实验中就发现在其不同生长阶段水体中占优势的游离氨基酸是不同的。在浮游植物和颗粒物中没有检出 Orn(纪明侯等, 1985, 1992), 但在表层水和间隙水中其含量都比较高(其组成 mol% > 10%)。这可能是由于 Arg 在异养生物代谢过程中脱脲而生成 Orn, 通常脲在海水中的含量是比较高的(Flynn et al., 1986)。

1) 陆田生等, 1993, 小角刺藻(*Chaetoceros minutissimus* Maker et pre-Lavr)生长过程中溶解游离氨基酸含量在海水中的变化, 海洋与湖沼(待发表)。

1.3 DCAA 的测定 DCAA 包括低分子量蛋白质、肽类等。取 5 ml 过滤后的水样注入于 450°C 焙烧过的安瓿瓶中, 于水浴中蒸发至干, 加入 1 mL 6 mol/L HCl, 充入纯 N_2 , 封管, 于 110°C 水解 24 h。开管后以 6 mol/L NaOH 溶液中和至 $\text{pH}=9.5$, 按上述测定 DFAA 的方法分析, 即为总合的 DFAA 含量。由此减去水样中 DFAA 含量即为 DCAA 含量。

1.4 溶解有机碳(DOC)和溶解碳水化合物(DCHO)的测定 根据杨鹤鸣等(1984)改进的“湿式氧化法”分析水

表 1 胶州湾 C₅ 站表层海水中 DFAA 的含量 ($\mu\text{mol/L}$) 的季节变异 (1986)
 Tab.1 Seasonal variation of contents ($\mu\text{mol/L}$) of DFAA in surface seawater
 at station C₅ of Jiaozhou Bay in 1986

氨基酸	采水日期 (月.日)							平均 ($\mu\text{mol/L}$)
	01.29	02.24	04.17	05.28	07.03	08.07	11.29	
Asp	0.072	0.033	0.078	0.066	0.032	0.051	0.068	0.057
Glu	0.115	0.057	0.081	0.107	0.060	0.262	0.243	0.132
Asn	0.022	+	+	+	0.003	0.066	0.015	0.015
Ser	0.085	0.037	0.198	0.060	0.065	0.103	0.082	0.090
Gln	0.026	+	+	+	+	0.016	0.062	0.015
His	0.060	0.055	0.079	0.073	0.050	0.118	0.009	0.063
Thr	0.017	+	0.005	0.055	0.002	0.006	+	0.012
Gly	0.180	0.037	0.191	0.150	0.090	0.157	0.113	0.131
Arg	0.212	0.042	0.209	0.151	0.012	0.017	0.427	0.153
Ala	0.085	0.024	0.098	0.054	0.045	0.093	0.046	0.064
Tyr	0.020	0.017	0.021	0.002	0.018	0.019	0.016	0.016
Met	0.177	0.009	0.188	0.162	0.028	+	+	0.080
Val	0.152	0.024	0.162	+	0.029	0.010	0.017	0.056
Phe	0.013	0.015	0.009	0.007	+	0.005	+	0.007
Ile	0.117	0.022	0.106	0.056	0.022	0.041	0.015	0.054
Leu	0.204	0.018	0.113	0.115	0.116	0.380	0.057	0.143
Orn	0.058	0.031	0.273	0.338	+	0.270	0.107	0.154
TDFAA 含量 ($\mu\text{mol/L}$)	1.615	0.421	1.811	1.396	0.567	1.614	1.277	1.244
酸性 (%)	11.6	21.3	8.8	12.1	16.2	19.4	24.3	15.2
碱性 (%)	20.4	30.5	31.0	40.2	11.3	25.1	42.5	29.8
中性 (%)	68.0	48.2	60.2	47.7	72.5	55.5	33.2	55.0

+ 示 $<0.002 \mu\text{mol/L}$ 。

2.2 表层海水中 TDFAA 和 DIN 含量的季节变化 在 1986 年 1 月至 11 月 7 个月份中, 胶州湾 7 个站位表层海水中的 TDFAA 含量平均范围为 $1.24—2.28 \mu\text{mol/L}$ (图 2, 原始数据省略)。大多数站位 2 月份处于最低值, 一般低于 $1.0 \mu\text{mol/L}$, 如 C₅ 和 B₅ 站只有 $0.4 \mu\text{mol/L}$ 。4 月份的 C₃, C₅, F₃ 或 5 月份的 Y₃, Y₂, B₁ 站上升为高值, 达 $2—4 \mu\text{mol/L}$ 。7, 8 月份又降低。大多数站在 11 月份处于最高值, 有的站高达 $5 \mu\text{mol/L}$ 。

如将 10 个站位各月份的月平均值以图 3 表示, TDFAA 含量的月平均值在 2 月份为最低, $0.76 \mu\text{mol/L}$, 11 月份为最高, $3.21 \mu\text{mol/L}$ 。DIN (溶解无机氮之和) 含量基本上与 TDFAA 含量的变化趋势相一致。这种季节性变化, 显然与浮游生物群落消长有着密切关系。与 Braven 等 (1984) 对于英吉利海峡测定的 TDFAA 月平均含量在 $1.4—3.7 \mu\text{mol/L}$ 之间的结果相近。夏季含量低, 冬季高。Braven 等认为, 夏季

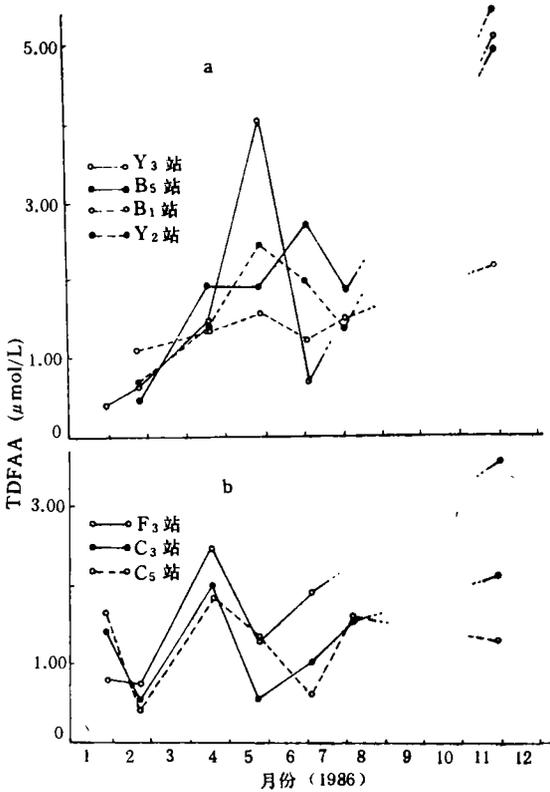


图2 胶州湾7个站位表层水7个月份TDFAA含量季节变化

Fig. 2 Seasonal variation of TDFAA contents in surface seawater at seven stations of Jiaozhou Bay
a. Y₃, Y₂, B₁, B₅ 站; b. F₃, C₃, C₅ 站.

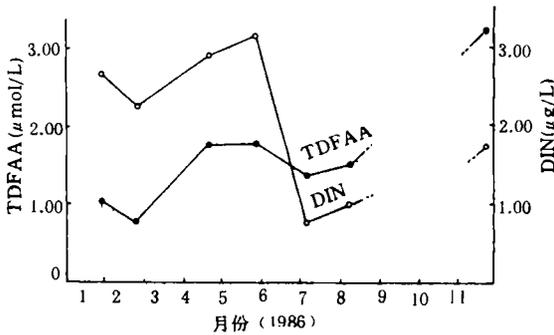


图3 胶州湾各站位表层水中TDFAA和DIN含量的月平均值季节变化

Fig. 3 Seasonal variation of monthly average contents of TDFAA and DIN in surface seawater at different stations of Jiaozhou Bay (DIN includes NO₃⁻-N, NO₂⁻-N and NO₄⁻-N)

浮游生物大量繁殖, 吸收多, 而冬季生物活动弱, 吸收少的缘故。陆田生等¹⁾在培养小角刺藻实验中发现, 在其开始指数生长期, 培养液中TDFAA含量迅速下降, 而到后期由于藻体大量死亡, 其在培养液中的含量很快又升高。与胶州湾1980—1981年资料(郭玉洁等, 1992; 肖贻昌等, 1992)相对照, 湾内1, 2月份浮游植物大量繁殖, 对水体中DFAA的吸收较大, 因而DFAA含量降低较快, 至4, 5月份浮游植物处于低潮, 有些藻体因衰老和死亡而释放出较多DFAA, 水体中TDFAA含量因而增至高值; 6月份浮游植物群落又出现一小高峰, 而且6, 7月份浮游动物又大量繁殖, 对水体中DFAA的吸收又增加, 因此7, 8月份测得的TDFAA值比4, 5月份为低; 11月份浮游动物、植物数量都处于低值, 生物体分解生成的DFAA值也最高。

2.3 表层海水中DFAA, DIN和DOC含量之间的关系 胶州湾1

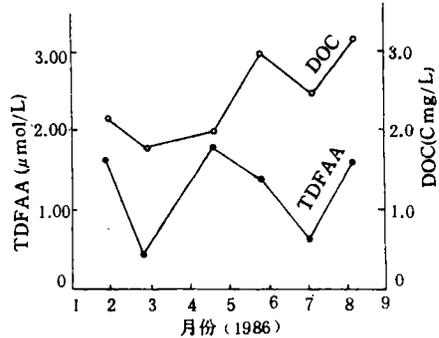


图4 胶州湾C₅ 站位表层水TDFAA与DOC含量的月平均值季节变化

Fig. 4 Seasonal variation of monthly average contents of TDFAA and DOC in surface seawater at C₅ station of Jiaozhou Bay

1) 陆田生等, 1993, 小角刺藻(*Chaetoceros minutissimus* Maker et pre-Lavr)生长过程中溶解游离氨基酸含量在海水中的变化。

— 11 月份表层海水中 TDFAA 含量与 DIN 含量的月平均值季节变化成正相关关系 (图 3)。浮游植物繁殖快的月份, TDFAA 和 DIN 含量迅速被消耗而降低; 在藻体群落衰亡分解的季节 TDFAA 和 DIN 就增高。C₃ 站位表层海水中 TDFAA 与 DOC 含量的季节变化见图 4。除个别月份外, 两者的变化趋势基本一致。

2.4 表层海水中 TDFAA 含量的分布 各站位表层水中 TDFAA 含量的月平均值见图 5。站位是从湾东北部 Y₁ 经济中心 C₃ 和湾口 F₃ 而直向湾外 H₁。可看出, 青岛市

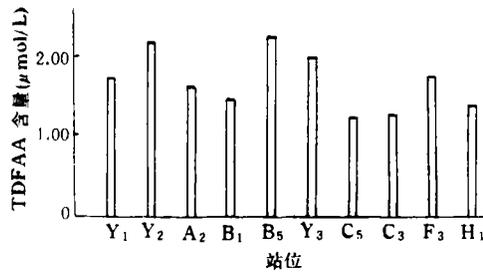


图5 胶州湾各站位表层水TDFAA含量的月平均值

Fig. 5 Monthly average content of TDFAA in surface seawater at different stations of Jiaozhou Bay

区海岸几个站如 Y₂, B₅ 和 T₂ 的表层水中, DFAA 含量明显地高于月平均值, 如 11 月份都高达约 5 μmol/L。因为这几个站位离市区近, 有大量生活和工业用水排入海中, 浮游生物大量生长, 其排泄物和碎屑分解产物也增多。另外, 这几个站位水深较浅, 在波浪、潮汐运动下, 底层腐化的有机质也易被带到表层。湾口 F₃ 站的 TDFAA 含量经常高于湾内一些站位。因潮汐带来的海水移动, 使湾内富有机质的海水混合到湾口; 此处生物群落数量少, 对有机质的消耗也少, 故此处的 TDFAA 值稍高。

2.5 表层和底层海水中 TDFAA 含量的分布 胶州湾不同月份几个站位表层和底层水中的 TDFAA 含量的比较见表 2。可以看出, 表层水中 TDFAA 含量一般比底层为高。这都与当时当地浮游生物群落分布的不均匀性有关。

表 2 胶州湾几个站位表层和底层海水中的 TDFAA 含量 (μmol/L) (1986)

Tab. 2 TDFAA contents (μmol/L) in surface and bottom seawaters at different stations of Jiaozhou Bay in 1986

采水日期 (月·日)	01.19		05.28			07.01			11.28		
站 位	C ₃	F ₃	C ₃	F ₃	H ₁	C ₃	F ₃	H ₁	C ₃	F ₃	H ₁
表层水	1.399	0.747	0.560	1.275	1.425	1.027	1.911	0.788	2.164	3.599	2.040
底层水	0.661	0.617	0.443	1.307	0.909	0.664	0.434	0.998	4.487	1.869	1.918

注: 平均水深, C₃, 17 m; F₃, 35 m; H₁, 38 m。

2.6 表层海水中 DFAA 和 DCAA 的含量分布 1986 年 5 月从胶州湾 5 个站位采取表层水样测定了 DFAA 含量和 DCAA 含量, 见表 3。DCAA 含量一般高于 DFAA 含量, DCAA/DFAA 比值一般为 2—6。这与 Garrasi 等 (1979) 对北海近岸、斯堪纳维亚陆架、挪威海及西北大西洋海水中的 DCAA/DFAA 比值测定结果 (1—4) 大致相似。而 Dawson 等 (1978) 对波罗的海测得的比值达到 10。差别如此之大, 有待探讨。通常 DCAA 含量的季节变化比较明显, 因为不象 DFAA 那样周转迅速 (Williams, 1975)。

DCAA 的组成中 Asp, Glu, Ala, Ser 是占优势的氨基酸, 其中酸性氨基酸占总 DCAA 的 40% 左右; 碱性者为 10% — 15% 左右; 中性者为 50% 左右。如 Met, Phe, Try 等含硫和苯环的氨基酸在 DFAA 中都测不出, 而在 DCAA 中却增加了。与 Garrasi 等 (1979) 测得的 DCAA 组成大致相同。总之, DCAA 与 DFAA 的组成是不同的。

表 3 胶州湾 1986 年 5 月 5 个站表层水中 DFAA 和 DCAA 含量 ($\mu\text{mol/L}$)

Tab.3 DFAA and DCAA contents ($\mu\text{mol/L}$) seawater at five stations of Jiaozhou Bay on May, 1986

氨基酸	C ₃		Y ₁		B ₅		Y ₃		H ₁	
	DFAA	DCAA								
Asp	0.019	0.485	0.110	0.166	0.134	0.178	0.216	0.632	0.051	0.537
Glu	0.056	0.654	0.232	0.380	0.172	0.407	0.472	0.821	0.282	0.950
Asn	0.003	- *	0.016	-	+	-	0.033	-	0.016	0.004
Ser	0.027	0.251	0.372	0.165	0.040	0.117	0.876	-	0.071	0.249
Gln	0.005	-	0.014	-	0.007	-	0.190	-	0.012	-
His	0.027	0.110	0.043	0.004	0.090	+	0.261	0.412	0.115	0.029
Thr	-	0.107	0.058	-	0.057	-	0.096	-	0.014	0.106
Gly	0.076	0.291	0.274	0.020	0.209	0.028	0.654	-	0.158	0.217
Arg	0.020	0.241	0.233	0.032	0.251	+	0.281	0.065	0.134	0.141
Ala	0.021	0.299	0.065	0.277	0.050	0.153	0.290	0.662	0.059	0.402
Tyr	0.007	0.123	0.049	0.012	0.051	0.012	0.167	0.127	0.029	0.127
Try	-	0.014	-	0.013	-	-	-	0.027	-	0.099
Met	0.018	0.204	0.031	0.148	0.173	0.068	0.003	0.280	0.136	0.167
Vai	0.011	0.027	0.141	0.037	0.152	-	0.038	0.026	-	0.047
Phe	0.008	0.215	0.036	0.106	0.018	0.114	0.092	0.158	0.024	0.207
Ile	0.010	0.302	0.078	0.021	0.097	0.069	0.072	0.397	0.090	0.247
Leu	0.201	0.045	0.214	-	0.169	0.068	0.091	0.159	0.114	0.209
Orn	0.051	+	0.323	0.084	0.247	0.134	0.171	0.115	0.120	+
TDFAA 和 DCAA 含量	0.560	3.368	2.289	1.465	1.917	1.348	4.003	3.881	1.425	3.738
酸性 (%)	13.4	33.8	14.9	37.3	16.0	43.4	17.2	37.4	23.4	39.8
碱性 (%)	17.5	10.4	16.0	8.2	30.7	9.9	17.8	14.5	25.9	4.5
中性 (%)	69.1	55.8	69.1	54.5	53.3	46.7	65.0	48.1	50.7	55.7
DCAA/TDFAA	6.0		0.6		0.7		1.0		2.6	

注: + 示 $<0.002 \mu\text{mol/L}$; - 示未测出。

2.7 颗粒有机物分解中 DOC, DCHO, DFAA 的变化 在海水中, 颗粒物含有蛋白质、氨基酸、碳水化合物、脂类物质等。它们在细菌的分解下能转化成溶解态物质。在实验室中观察的颗粒物分解中 DOC, DCHO 和 TDFAA 含量的变化结果见图 6。整个分解过程可分为两个阶段。前一阶段 (3 天以前), 由于浮游生物大量分泌可溶物质,

水中 DOC, DCHO 和 TDFAA 含量很快增加。后一阶段因颗粒物中微生物可分解部分已很少,剩下的主要为相对稳定物质,并且细菌活动也消耗相当量可溶物质,因此,水体中 DOC, DCHO 和 TDFAA 含量降低。各单个 DFAA 含量的时间变化(图略)与 TDFAA 的变化趋势相似,除 Orn 含量在 3 日突增外,其余 DFAA 都在 1 天内猛增,第 2 天即开始下降,至第 5 天降至低值。在分解过程中,各种有机物释出和消耗的速率不一样, DFAA 的变化最快。这也说明,胶州湾海水中 DOC 与 DFAA 含量季节变化不相一致的原因之一。王荣华等¹⁾指出,颗粒物的分解产物 DOC 与 DCHO 的生成动力学符合二级反应的特征。本研究对颗粒物分解产物 DOC 和 DFAA 含量变化表明,分解前 4 天是符合二级反应的。

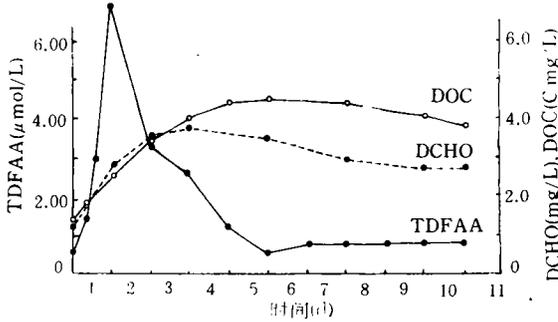


图6 颗粒有机物分解过程中DOC、DCHO和TDFAA含量的变化

Fig. 6 Variation of DOC, DCHO and TDFAA contents in the decomposition course of particulate organic matter

3 结语

胶州湾 7 个站位的表层海水中月平均 TDFAA 含量范围为 1.24 — 2.28 $\mu\text{mol/L}$ 。含量较高的 DFAA 为 Glu, Gly, Arg, Leu, Orn, Ser 等。DFAA 含量中以中性氨基酸最多,碱性者次之,酸性者最少。胶州湾各站位表层水中 TDFAA 含量一般 2 月份为最低,11 月份最高,变异范围在 0.393 — 5.390 $\mu\text{mol/L}$ 之间。湾东部靠市区海岸的几个站位的 DFAA 含量明显高于其他站位。表层海水中 TDFAA 含量一般高于底层水,个别站位则相反。各站位的 DCAA 含量一般高于 DFAA 的含量。对海水颗粒有机物的分解实验表明, DFAA 是海洋环境中最容易受生物过程影响的溶解有机物。

参 考 文 献

- 王玉君等, 1989, 海洋科学, 2: 43 — 47。
 纪明侯等, 1983a, 海洋湖沼通报, 2: 40 — 44。
 纪明侯等, 1983 b, 海洋科学, 6: 23 — 25。
 纪明侯等, 1985, 海洋学报, 7: 598 — 604。
 纪明侯等, 1992, 胶州湾生态学和生物资源, 科学出版社(北京), 99 — 107。
 肖贻昌等, 1992, 胶州湾生态学和生物资源, 科学出版社(北京), 170 — 203。
 杨鹤鸣等, 1984, 海洋科学, 1: 27 — 30。
 郭玉洁等, 1992, 胶州湾生态学和生物资源, 科学出版社(北京), 136 — 169。

1) 王荣华、纪明侯, 1994, 胶州湾溶解碳水化合物组分的研究, 海洋与湖沼。(待发表)

- Braven, J. et al., 1984, *Chem. Ecol.*, **2**: 11—21.
- Dawson, R. et al., 1978, *Mar. Chem.*, **6**: 27—40.
- Flynn, K. J. et al., 1986, *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **34**: 281—304.
- Garrasi, C. et al., 1979, *Mar. Chem.*, **8**: 11—85.
- Mopper, K. et al., 1982, *Limnol. Oceanogr.*, **27**: 336—347.
- Williams, P. J. LeB., 1975, *Chemical Oceanography*, Academic Press (London), pp. 301—364.

STUDIES ON DISSOLVED AMINO ACIDS IN SEAWATER OF JIAOZHOU BAY

Lu Tiansheng, Ji Minghou

(*Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, Qingdao 266071*)

Abstract The distribution and seasonal variation of dissolved free amino acids (DFAA) in the surface and bottom seawater of Jiaozhou Bay at ten stations from Jan. to Nov. in 1986 were investigated using reverse-phase HPLC method.

The monthly average contents of total dissolved free amino acids (TDFAA) in surface seawater at seven station from Jan. to Nov. range from 1.24 to 2.28 $\mu\text{mol/L}$. Most stations exhibit the lowest values (0.4 $\mu\text{mol/L}$) in Feb., generally lower than 1.0 $\mu\text{mol/L}$. The highest value (5.0 $\mu\text{mol/L}$) always appears in Nov.

Among all DFAAs determined, Glu, Gly, Arg, Leu, Orn and Ser are the most dominant amino acids. The average contents of neutral, basic and acidic amino acids to total amino acids in surface seawater at C_5 station are 55%, 30% and 15%, respectively. The DFAA contents in eastern stations of Jiaozhou Bay near the coast of the city give much higher values in surface seawater than in other stations.

The contents of dissolved combined amino acids (DCAA) are generally higher than those of TDFAA and both compositions of amino acids are somewhat different. The TDFAA contents in the bottom water are usually lower than those in surface water.

The decomposition experiment of particulate organic matter (POM) shows that in the course of decomposition, the DFAA and DCAA are firstly and dominantly released and easily influenced by biological process.

Key words Reverse-phase HPLC method Dissolved free amino acid (DFAA) Dissolved combined amino acid (DCAA) Total dissolved free amino acid (TDFAA) Jiaozhou Bay