

# 考古資料의 殘存脂肪分析을 위한 現生試料의 데이터베이스 構築(I)

俞惠仙<sup>†</sup> · 尹銀英  
國立中央博物館 保存科學室

## Building a Database of Residual Lipid Analysis of the Present Creatures(I)

Heisun Yu<sup>†</sup> and Eunyeong Yun  
Conservation Science Lab., The National Museum of Korea

**요약** 고고 자료의 생물학적 원천을 파악하여 고대 사람들의 생활양식 등에 관한 정보를 알아내기 위하여 잔존지방분석법이 이용되고 있다. 이를 위해서는 우선 현생생물의 잔존지방분석 데이터베이스 구축이 선행되어야 한다. 본 연구에서는 현생시료인 소와 개의 일부를 채취하여 잔존지방분석을 실시하여 추후 수행될 고고 자료 분석의 기초자료로 이용하고자 하였다.

**Abstract** The residual lipid analysis has been used for finding out the information related to the life style of ancient people. In order to achieve this goal, it must be preceded by building a database of residual lipid analysis of the present creatures. In this study, we performed residual lipid analysis of a cow and a dog, which were the present samples. We hope the results of this study will be a primary reference for the future analysis of archaeological materials.

### I. 서 론

고고 자료의 연구방법으로서 잔존지방분석의 중요성과 이 분석방법을 통하여 얻을 수 있는 고고학적 정보의 다양성에 관하여는 이미 잘 알려져 있다.<sup>1)</sup> 이렇게 잔

존지방 분석결과가 유용한 정보로 사용될 수 있기 위해서는 분석하여 알고자 하는 생물종에 대한 표준시료의 데이터가 있을 경우에 가능하다. 특히 잔존지방분석에 있어서 표준시료의 정보는 미지시료를 직접 비교하여 종을 규명할 수 있는 중요한 자료이다. 그러므로 표준시료를 확보하여 분석자료를 축적하는 일은 잔존지방분석의 선행과제이다.

본 연구는 현생생물의 잔존지방분석 데이터베이스를 구축하여 고고 자료의 비교자료로 활용하는데 그 목적이 있다. 이를 위하여 우선 육상동물인 소와 개의 일부

<sup>†</sup>Corresponding author : Conservation Science Lab., The National Museum of Korea  
Tel : (02) 398-5146  
Fax : (02) 398-5164  
E-mail : heisun@hanmail.net

<sup>1)</sup> 李相洙, 安秉燦, 俞惠仙, 「부여농산리출토 등간 기름분석」, 考古學誌 9, pp.159-180, 한국고고미술연구소(1998)  
- 俞惠仙, 鄭英珠, 「법천리 4호분출토 생선뼈에 대한 잔존지방산분석(I)」, 『법천리(I)고적조사보고서』제 三十一冊, 국립중앙박물관(2000)  
- 俞惠仙, 鄭英珠, 「법천리출토 생선뼈에 대한 잔존지방산분석(II)」, 『박물관보존과학』 제2집, 국립중앙박물관(2000)  
- 俞惠仙, 安秉燦, 中野益男, 「나주 복암리 3호분 출토 유기물에 대한 잔존지방산분석」, 『나주복암리 3호분(분석)』, pp.116-129, 국립문화재연구소(2001)  
- 유혜선, 「고고 자료의 잔존지방분석 연구」, 경희대학교 대학원 박사학위논문(2003)

분을 분석시료로 선택하였다. 먼저 각 시료별로 전지질의 추출율을 조사하였고, 추출한 전지질을 메틸 유도체화 시킨 후 얇은막크로마토그래피(TLC, thin layer chromatography)법으로 스테롤과 지방산을 분리하고, 각각 기체크로마토그래피/질량분석법(gas chromatography/mass spectrometry, GC/MS) 및 기체크로마토그래피/불꽃이온화검출기(gas chromatography/flame ionization detector, GC/FID)법으로 이들의 조성과 함유량을 분석하였다.

본 연구결과는 앞으로 출토될 다양한 고고 자료로부터 당시의 생활양상 등을 파악할 수 있는 기초자료로 활용될 것이다.

## II. 분 석

### 1. 시료채취

현생의 육상동물인 소의 표피, 가죽<sup>2)</sup> 및 개의 살코기, 내장 등 총 4점을 분석시료로 선정하였다. 시료의 무게는 개의 내장(약 0.1 g)을 제외하고, 약 0.3 g 정도씩 채취하였다.

### 2. 잔존지방분석을 위한 시료 전처리 및 유도체화 방법

앞 절의 시료 무게를 정확하게 측정하여 100 mL 비커에 각각 넣고  $\text{CHCl}_3/\text{CH}_3\text{OH}(2:1, v/v)$  혼합용액 20 mL를 가하였다. 초음파 세척기 안에 시료가 담긴 비커를 넣고 30분간 추출한 후 30분 방치하고 다시 30분간 추출한 다음, 추출용액은 마개가 있는 250 mL 삼각플라스크에 옮겨 보관하였다. 다시 1차 추출 후 남아있는 시료에  $\text{CHCl}_3/\text{CH}_3\text{OH}(2:1, v/v)$  혼합용액을 가한 후 앞서 기술한 방법에 따라 2회 반복 추출한 다음 추출액은 앞의 1차 추출용액과 합하였다. 초음파법에 의한 추출용액은 25 mm disk filters용 millpore glass filter 장치와 Sibata사의 circulating aspirator WJ-15를 사용하여 걸렀다. 거른 용액에  $\text{CHCl}_3/\text{CH}_3\text{OH}(2:1, v/v)$  혼합용액을 넣어 100 mL를 만들어 분별깔대기에 옮겨 담고, 유기용매층의 분리를 위하여 1%  $\text{BaCl}_2$  용액 25 mL를 가한 후 24시간 방치하였다. 유기 용매층인 아래층만을 빼낸 후 BUCHI사의 Rotavapor R-114와 Waterbath B-480을 사용하여 용액을 완전히 농축시킨 후 전지질의 무게를 달고, 전지질의 양과 추출회수율을 구하였다. 한편 전지질의 양이 10 mg 미만일 경우는  $\text{CH}_3\text{OH}(5\% \text{HCl})$  1 mL에 녹인 다음 125°C에서 3시간 반응시켜 유도체화

물을 생성하였다. 실온으로 냉각한 후  $\text{CHCl}_3$  용액 1 mL와 증류수 0.9 mL를 넣고, 잘 혼합한 후 원심 분리하였다. 수용액 층은 파스테르 피펫으로 제거하였고, 이 과정을 3회 반복하여 실시하였다. 이때 전지질의 양이 10 mg 이상일 경우 시료에 가해준  $\text{CH}_3\text{OH}(5\% \text{HCl})$ ,  $\text{CHCl}_3$  및 증류수의 양을 두 배로 하였다. 이렇게 해서 분리한 클로로포름 층을 완전히 증발 농축시킨 다음  $\text{CHCl}_3/\text{CH}_3\text{OH}(2:1, v/v)$  혼합용액 100  $\mu\text{L}$ 를 가하여 잔존지방 분석용 시료용액을 제조하였다.

### 3. 얇은 막 크로마토그래피에 의한 지방산과 스테롤의 분리

앞 절에서 제조한 시료용액 100  $\mu\text{L}$ 중 50  $\mu\text{L}$ 를 TLC판 위에 주입시켰다. 이때 지방산과 스테롤의 정확한 전개 위치를 알기 위하여 FAME 혼합 표준시료(No. 3)<sup>3)</sup> 및 스테롤 표준시료( $S_1$ )<sup>4)</sup> 용액을 각각 20  $\mu\text{L}$ 씩 함께 주입하였다. 다음 n-hexane/diethylether/acetic acid(80:30:1, v/v/v)의 혼합용액을 전개용매로 하여 유리제 전개조에서 분리시킨 후 용매를 증발시켰다. 다음 시료가 주입된 부분의 TLC판은 비닐랩을 덮어 외부 공기와의 접촉을 피하였고 표준시료가 주입된 부분은 그대로 둔 채 유리용기에 넣어  $\text{I}_2$  증기를 10초간 쏘였다. 이때 FAME와 스테롤 표준물질이 전개된 위치가 흑갈색으로 변하게 되며, 이때 연필을 이용하여 FAME와 스테롤의 위치를 표시하였다. 시료에서 FAME와 스테롤이 위치하는 부분을 스톱라를 이용하여 각각 오려낸 후 10 mL의 마개 있는 시험관에 넣고  $\text{CHCl}_3/\text{CH}_3\text{OH}(2:1, v/v)$  혼합용액 2 mL씩 가한 후 잘 흔들어 준 다음 2000 rpm에서 10분간 원심분리하였다. 상층용액은 미니칼럼을 이용하여 걸렸으며, 이 과정을 3회 반복하여 FAME와 스테롤을 정제하였다. 정제된 FAME와 스테롤은 회전 진공 증발기로 농축시킨 후  $\text{CHCl}_3/\text{CH}_3\text{OH}(2:1, v/v)$  혼합용액 100  $\mu\text{L}$ 에 녹였다.

### 4. GC/MS 및 GC/FID에 의한 지방산과 스테롤 분석

정제된 FAME와 스테롤 시료들을 각각 바이알에 담아 옮기고 자동시료 주입기로 1  $\mu\text{L}$ 씩 GC/MS에 주입하여 각 시료를 구성하고 있는 성분의 종류를 확인하였다. 각 화합물의 확인에 사용한 데이터베이스는 Wiley 및 NIST library를 이용하였다. 또한 GC/FID법으로 FAME 및 스테롤 성분의 함량을 분석하기 위하

<sup>2)</sup>두께 0.5 mm 정도로 표피부분과 지방층이 함께 붙어 있는 층을 말함.

<sup>3)</sup>palmitic acid(C16:0), stearic acid(C18:0), oleic acid(C18:1), linoleic acid(C18:2), linolenic acid(C18:3) 표준물질의 혼합용액

<sup>4)</sup>5 $\beta$ -coprostan-3-one(C<sub>27</sub>H<sub>46</sub>O), 5 $\beta$ -epicoprostanol(C<sub>27</sub>H<sub>48</sub>O), cholesterol(C<sub>27</sub>H<sub>46</sub>O), ergosterol(C<sub>28</sub>H<sub>44</sub>O), campesterol(C<sub>28</sub>H<sub>48</sub>O), stigmasterol(C<sub>29</sub>H<sub>48</sub>O),  $\beta$ -sitosterol(C<sub>29</sub>H<sub>50</sub>O) 표준물질의 혼합용액

여 먼저 FAME의 경우는 2개의 표준시료<sup>5)</sup>와 함께 분석 시료 1 μL씩을 차례로 시료주입구에 주입하여 기체크로마토그램을 얻었다. 지방산 혼합시료를 구성하고 있는 각 봉우리의 머무름시간에 log를 취한 값에 해당하는 탄소수를 비교하여 시료를 구성하고 있는 지방산의 종류를 검출하였다. 다음 위에서 얻은 기체크로마토그램의 각 지방산 함량을 백분율로 해석한 후 각 지방산에 따른 변환계수를 곱하여 몰(mol)%로 변환하였다.

### III. 결과 및 고찰

#### 1. 추출효율

각 시료에 대하여 전지질의 추출효율을 비교 조사함으로써 시료의 종류 및 특성과 관련된 정보를 얻을 수 있는 기본자료로 활용하고자 하였다.

본 연구에서는 현생의 육상동물인 소의 표피와 가죽 그리고 개의 살코기, 내장 등 총 4점의 시료에서 추출한 전지질의 무게 및 추출회수율을 조사하여 Table 1에 그 결과를 수록하였다. 이때 사용한 추출용액은 CHCl<sub>3</sub>/CH<sub>3</sub>OH(2:1, v/v) 혼합용액이었다. 소 가죽의 추출회수율은 1.71%로 지방이 혼합되었을 경우의 회수율인 3.43%에 비하여 낮은 값을 갖는다. 이와 같은 결과는 지방에 전지질의 양이 많이 포함되어 있기 때문으로 생각된다. 개의 경우는 살코기(4.73%)가 내장(2.52%)에 비하여 높은 추출회수율을 나타내고 있는 것으로 보아 살

코기에 전지질의 함유량이 높다는 사실을 추측할 수 있었다.

#### 2. 스테롤함유량

콜레스테롤 및 시토스테롤 등과 같은 스테롤류의 함유량으로부터 시료의 원천이 동물 또는 식물에서 기인된 것인지를 확인할 수 있다. 본 연구에서는 시료의 원천이 동물성이라는 것을 알고 있어 스테롤류의 분석에 큰 의미가 없지만 각 시료에 대한 스테롤류의 성향을 살펴보고자 분석을 실시하였고, 그 결과를 Table 2에 수록하였다. 예상한 바와 같이 콜레스테롤의 함유량이 모두 90% 이상 높게 나왔으며, No. 1(소가죽)시료에서 스티그마스테롤이 검출되었고, 특히 No. 4(개의 내장) 시료의 경우는 시토스테롤과 에피코프로스타놀이 검출되는 특징을 나타내고 있는데, 에피코프로스타놀은 동물의 내장에 들어 있는 스테롤로 알려져 있다.

#### 3. 지방산함유량

각 시료의 지방산의 조성을 확인하기 위하여 GC/MS 법으로 분석한 결과 C14:0을 비롯하여 C16:0, C16:1, C18:0, C18:1, C18:2, C18:3, C20:1, C20:4 등 총 9종을 확인하였다. 각 지방산의 총이온크로마토그램(TIC)을 Fig. 1~4에 나타내었고, No. 3시료의 m/z를 Fig. 5~13에 나타내었다. 그리고 지방산의 함유량을 조사하기 위하여 FAME 표준시료와 함께 GC/FID법으로 분석하여 얻어진 지방산 함유량(mol%)을 Table 3에 수록하

Table 1. The weight and extraction recovery of total lipids

Sample No.	Species	Weight of sample (g)	Weight of total lipid (g)	Extraction recovery (%)
1	cow	skin	0.2861	1.71
2		leather	0.2946	3.43
3	dog	meat	0.2958	4.73
4		intestines	0.0994	2.52

Table 2. Analytical results of sterols

Sample No.	Composition (%)					
	Epicoprostanol	Cholesterol	Campesterol	Stigmasterol	β-sitosterol	chole/sito
1	-	91.95	0.17	1.24	-	∞
2	-	96.77	0.18	-	-	∞
3	-	96.15	0.33	-	-	∞
4	0.22	97.47	0.23	-	1.01	96.50

<sup>5)</sup>FAME의 표준시료는 앞에서 언급한 No. 3와 No. 28을 이용하였다.

No. 28은 palmitic acid(C16:0), stearic acid(C18:0), oleic acid(C18:1), linoleic acid(C18:2), linolenic acid(C18:3), eicosatetraenoic acid(C20:4), eicosapentaenoic acid(C20:5), docosahexaenoic acid(C22:6) 표준물질의 혼합용액

**Table 3. Composition of fatty acids**

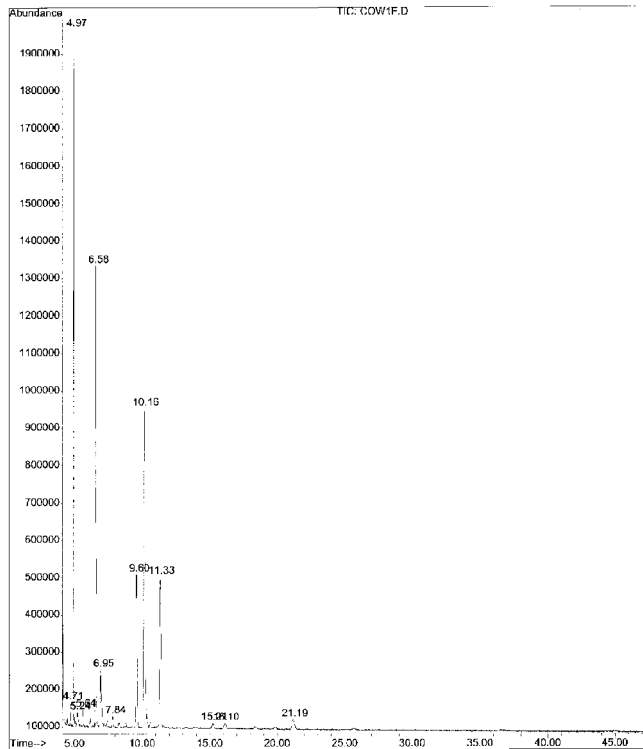
Fatty acids	Composition (mol%)			
	1	2	3	4
C14:0	10.53	2.46	4.06	2.51
C16:0	25.00	23.14	27.58	39.83
C16:1	5.31	8.90	7.52	3.68
C18:0	11.37	6.69	8.84	16.15
C18:1	30.08	53.23	32.22	16.42
C18:2	15.01	4.16	17.49	9.30
C18:3	-	-	1.13	-
C20:1	0.77	0.91	-	-
C20:4	1.92	0.51	1.16	12.11

었다. 결과에 의하면 C14:0은 모든 시료에서 검출되었으며, 특히 소의 표피(No. 1) 시료에서 10.53%의 높은

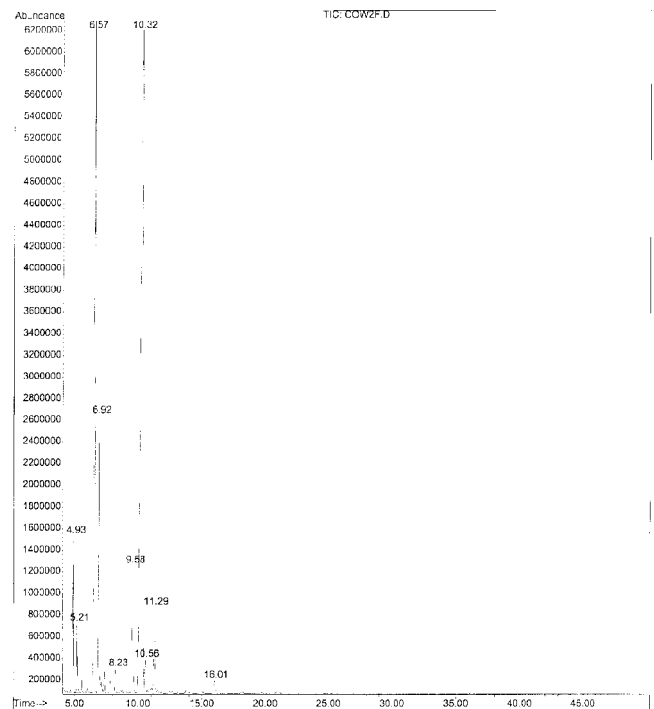
함량을 보이고 있다. C16:0은 No. 1~3에서 23~27%의 함량을 보이고 있고, No. 4의 경우는 이들보다 높은 39.83%의 함유량을 나타내고 있다. C18:1의 경우는 No. 2에서 53.23%로 다른 시료(16~32%) 보다 높은 함유량을 나타내고 있다. 또한 C18:3은 1.13%로 높은 함량은 아니지만 시료 No. 3에서만 검출되었다. 그리고 C20:4는 특히 No. 4에서 12.11%로 높은 함량 분포를 보이는 특징을 나타내고 있다.

이상과 같은 결과는 앞으로 수행될 고고 자료의 잔존지방분석을 위한 기초 데이터베이스로서 고고 자료의 원천을 밝히는데 많이 이용될 수 있을 것으로 기대된다.

File : C:\HPCHEM\2\DATA\COW1F.D  
 Operator : y.h.s.  
 Acquired : 30 Jul 2003 13:31 using AcqMethod MSPAME  
 Instrument : GC/MS Ins  
 Sample Name: cow skin  
 Misc Info :  
 Vial Number: 2

**Fig. 1. Total ion chromatogram of sample No. 1.**

File : C:\HPCHEM\2\DATA\COW2F.D  
 Operator : y.h.s.  
 Acquired : 30 Jul 2003 14:26 using AcqMethod MSPAME  
 Instrument : GC/MS Ins  
 Sample Name: cow skin&meat  
 Misc Info :  
 Vial Number: 3

**Fig. 2. Total ion chromatogram of sample No. 2.**

File : C:\HPCHEM\2\DATA\DOG3F.D  
 Operator : y.h.s.  
 Acquired : 30 Jul 2003 15:22 using AcqMethod MSFAME  
 Instrument : GC/MS Ins  
 Sample Name: dog meat  
 Misc Info :  
 Vial Number: 4

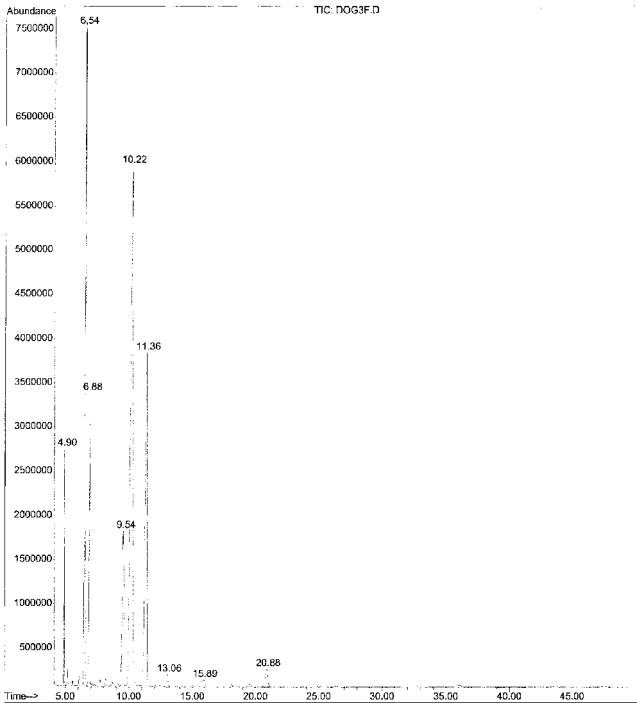


Fig. 3. Total ion chromatogram of sample No. 3.

File : C:\HPCHEM\2\DATA\DOG4F.D  
 Operator : y.h.s.  
 Acquired : 30 Jul 2003 16:17 using AcqMethod MSFAME  
 Instrument : GC/MS Ins  
 Sample Name: dog organ  
 Misc Info :  
 Vial Number: 5

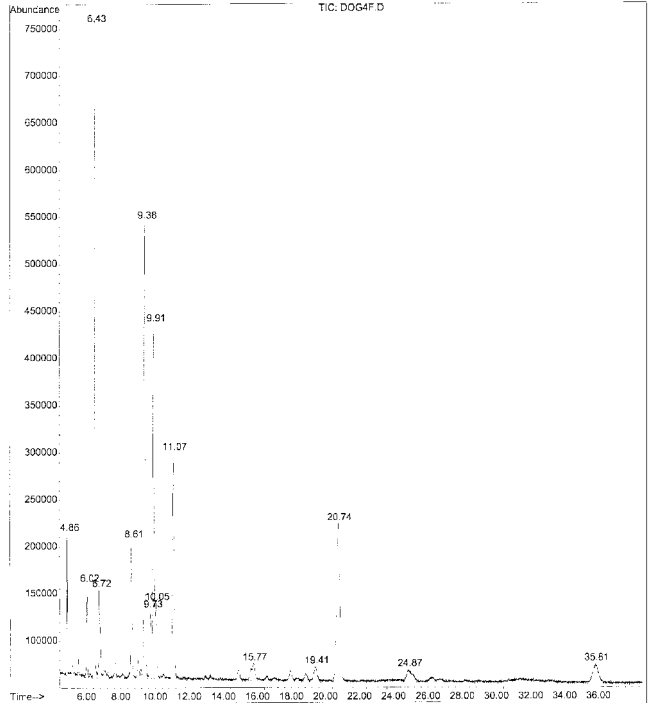


Fig. 4. Total ion chromatogram of sample No. 4.

File : C:\HPCHEM\2\DATA\DOG3F.D  
 Operator : y.h.s.  
 Acquired : 30 Jul 2003 15:22 using AcqMethod MSFAME  
 Instrument : GC/MS Ins  
 Sample Name: dog meat  
 Misc Info :  
 Vial Number: 4

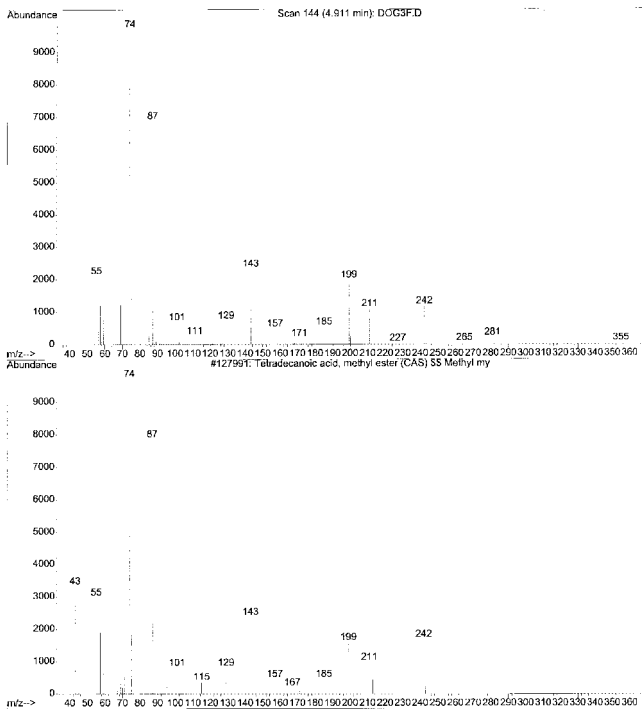


Fig. 5. Mass spectrum of tetradecanoic acid (C14:0).

File : C:\HPCHEM\2\DATA\DOG3F.D  
 Operator : y.h.s.  
 Acquired : 30 Jul 2003 15:22 using AcqMethod MSFAME  
 Instrument : GC/MS ins  
 Sample Name: dog meat  
 Misc Info :  
 Vial Number: 4

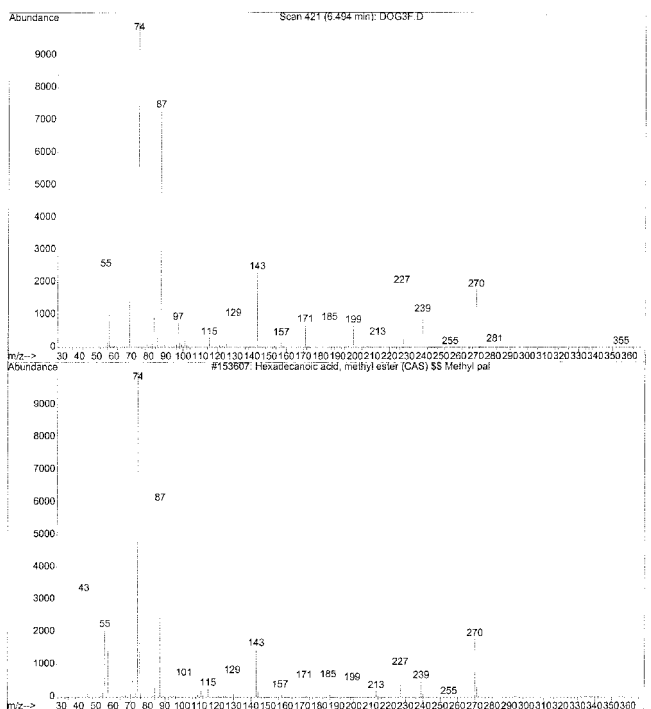


Fig. 6. Mass spectrum of hexadecanoic acid (C16:0).

File : C:\HPCHEM\2\DATA\DOG3F.D  
 Operator : y.h.s.  
 Acquired : 30 Jul 2003 15:22 using AcqMethod MSFAME  
 Instrument : GC/MS Ins  
 Sample Name: dog meat  
 Misc Info :  
 Vial Number: 4

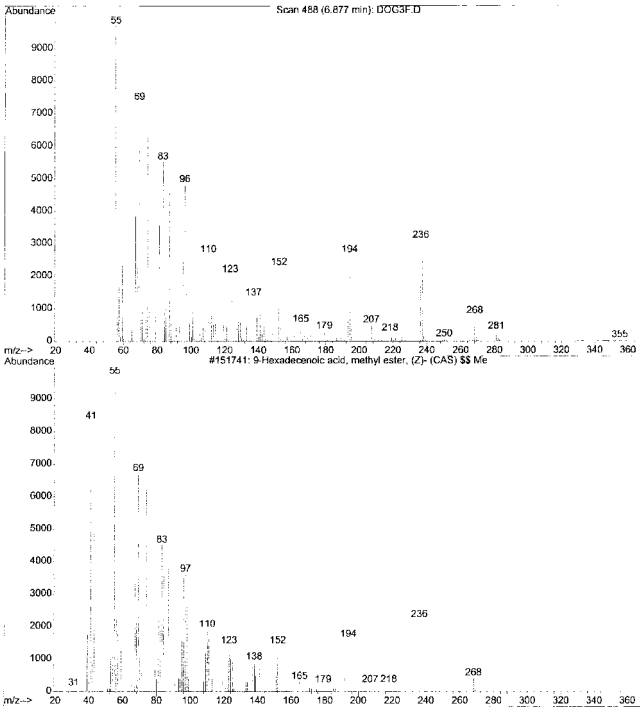


Fig. 7. Mass spectrum of hexadecenoic acid (C16:1).

File : C:\HPCHEM\2\DATA\DOG3F.D  
 Operator : y.h.s.  
 Acquired : 30 Jul 2003 15:22 using AcqMethod MSFAME  
 Instrument : GC/MS Ins  
 Sample Name: dog meat  
 Misc Info :  
 Vial Number: 4

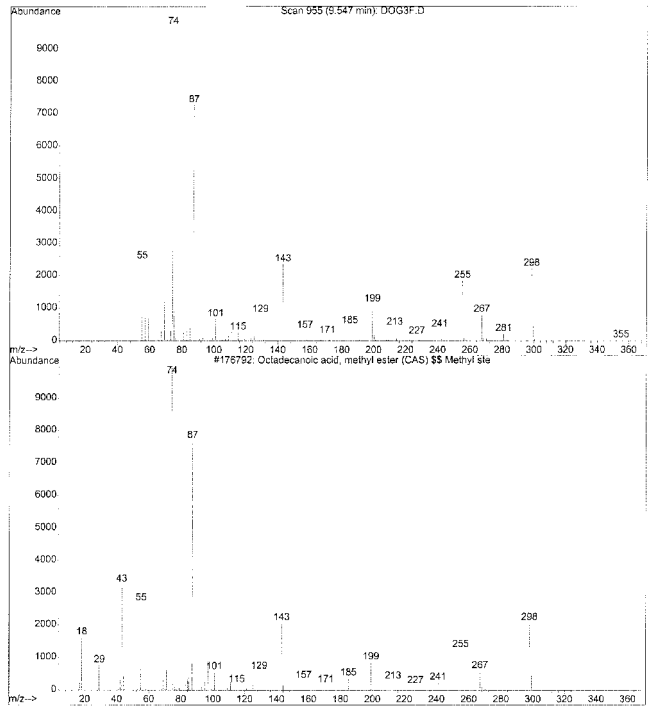


Fig. 8. Mass spectrum of octadecanoic acid (C18:0).

File : C:\HPCHEM\2\DATA\DOG3F.D  
 Operator : y.h.s.  
 Acquired : 30 Jul 2003 15:22 using AcqMethod MSFAME  
 Instrument : GC/MS Ins  
 Sample Name: dog meat  
 Misc Info :  
 Vial Number: 4

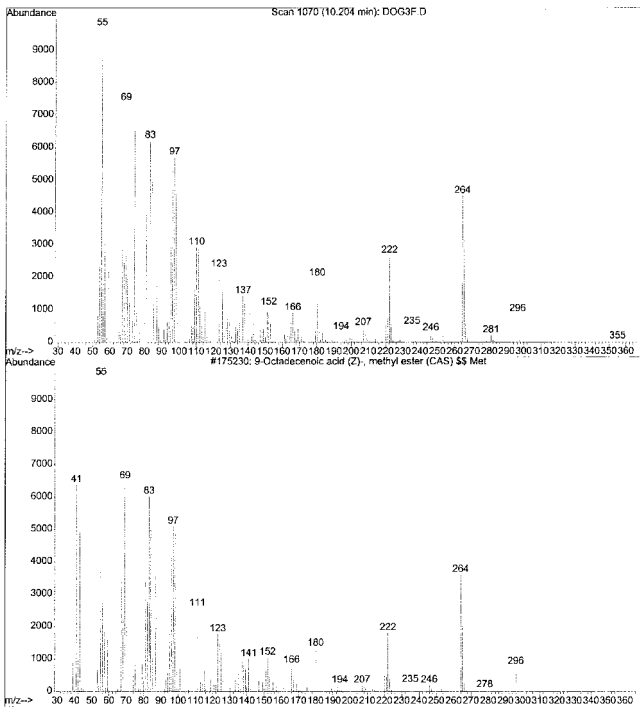


Fig. 9. Mass spectrum of octadecenoic acid (C18:1).

File : C:\HPCHEM\2\DATA\DOG3F.D  
 Operator : y.h.s.  
 Acquired : 30 Jul 2003 15:22 using AcqMethod MSFAME  
 Instrument : GC/MS Ins  
 Sample Name: dog meat  
 Misc Info :  
 Vial Number: 4

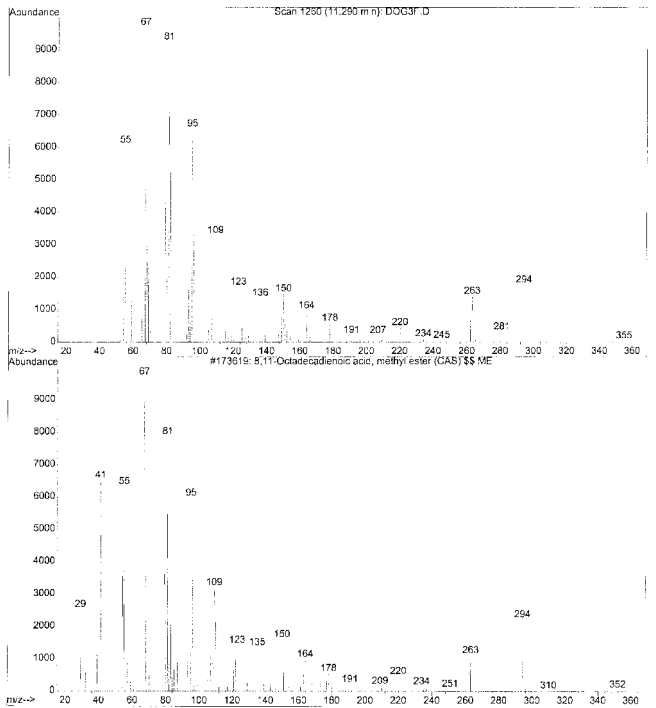


Fig. 10. Mass spectrum of octadecadienoic acid (C18:2).

File : C:\HPCHEM\2\DATA\DOG3F.D  
 Operator : y.h.s.  
 Acquired : 30 Jul 2003 15:22 using AcqMethod MSPAME  
 Instrument : GC/MS Ins  
 Sample Name: dog meat  
 Misc Info :  
 Vial Number: 4

File : C:\HPCHEM\2\DATA\DOG3F.D  
 Operator : y.h.s.  
 Acquired : 30 Jul 2003 15:22 using AcqMethod MSPAME  
 Instrument : GC/MS Ins  
 Sample Name: dog meat  
 Misc Info :  
 Vial Number: 4

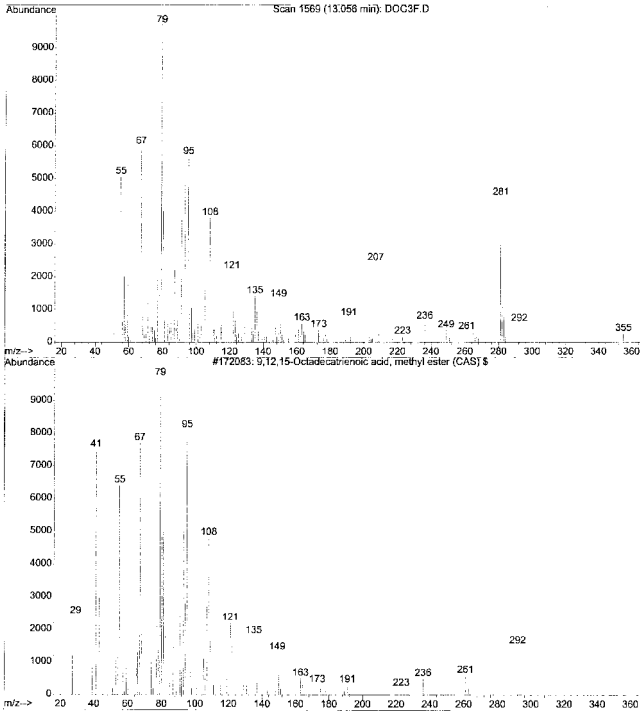


Fig. 11. Mass spectrum of octadecatrienoic acid (C18:3).

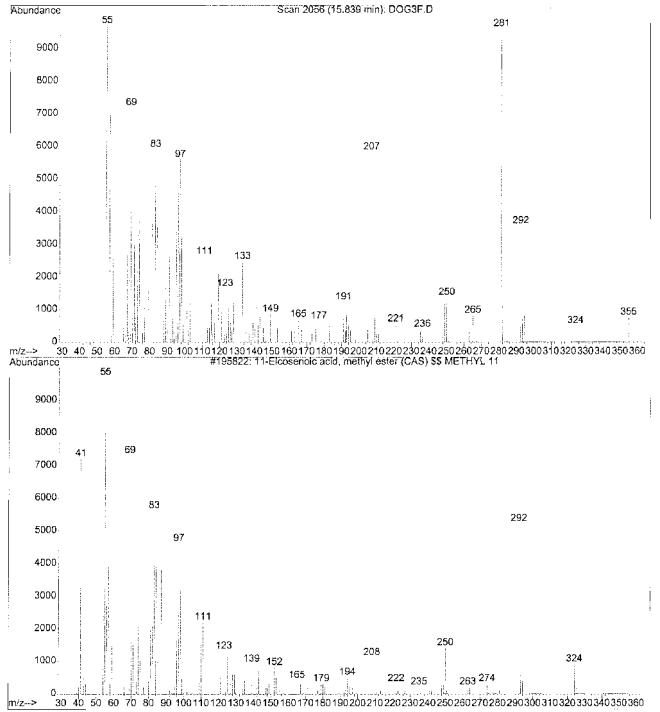


Fig. 12. Mass spectrum of eicosenoic acid (C20:1).

File : C:\HPCHEM\2\DATA\DOG3F.D  
 Operator : y.h.s.  
 Acquired : 30 Jul 2003 15:22 using AcqMethod MSPAME  
 Instrument : GC/MS Ins  
 Sample Name: dog meat  
 Misc Info :  
 Vial Number: 4

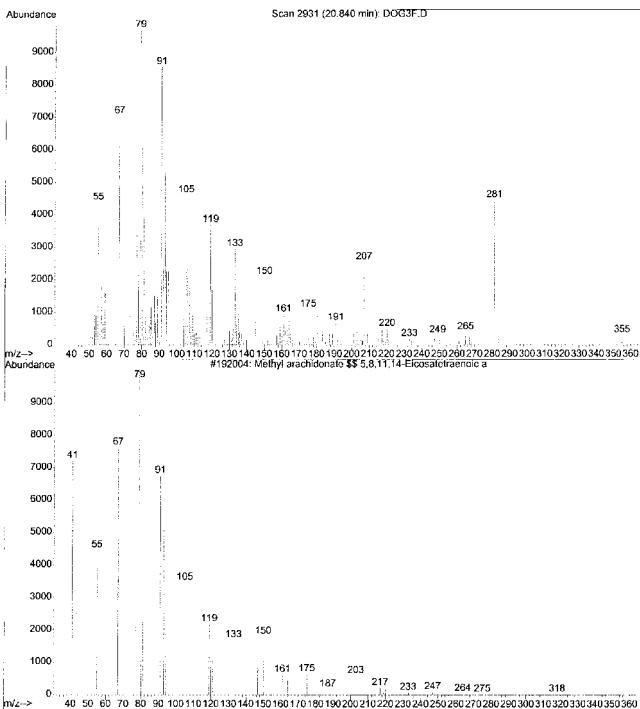


Fig. 13. Mass spectrum of eicosatetraenoic acid (C20:4).