

Research Article

크로마토그래프를 활용한 시료 유형별 부티르산 분석

이용직¹·김명기^{2*}

¹서원대학교 바이오코스메틱학과

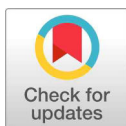
²서원대학교 식품공학과

Butyric Acid Analysis by Sample Type using Chromatograph

Yong-Jik Lee¹ and Myong Ki Kim^{2*}

¹Department of Bio-Cosmetics, Seowon University, Cheongju 28674, Korea

²Department of Food Science and Engineering, Seowon University, Cheongju 28674, Korea



Received: Jun 12, 2026

Revised: Jun 19, 2026

Accepted: Jun 23, 2026

*Corresponding author:

Myong Ki Kim,
Department of Food Science and
Engineering, Seowon University,
Cheongju, 28674, Korea.
Tel: +82-43-299-8473
E-mail: mkkim@seowon.ac.kr

ORCID

Yongjik Lee
<https://orcid.org/0000-0002-0047-2302>
Myongki Kim
<https://orcid.org/0000-0002-2956-7006>

Abstract

Butyric acid is an important analyte in gut microbial metabolism, quality assessment of fermented foods, biomarker analysis, and process monitoring. However, the analytical difficulty and the optimal methodology vary significantly depending on the physicochemical properties of the sample and the complexity of its matrix. In this review, we provide a comparative analysis of GC, GC-MS, HPLC, and LC-MS-based techniques for the determination of butyric acid across biological, food/fermentation, and process/environmental matrices. with a focus on biological samples, food and fermentation samples. GC and GC-MS have served as the fundamental pillars for volatile fatty acid analysis, providing high resolution, precise quantification, and reliability for routine analysis. In contrast, While HPLC and LC-MS platforms offer scalability for complex matrices and low-concentration samples, they require derivatization, higher instrument costs, and technical expertise for operation. For biological samples such as feces, blood, urine, and saliva, detection sensitivity and matrix removal efficiency emerged as the primary factors for method selection, whereas repeatability and throughput were the decisive criteria for food and fermentation samples, such as dairy products and broth. In conclusion, the selection of a butyric acid analysis method should be based on a comprehensive evaluation of sample characteristics, analytical objectives, throughput, cost, and reproducibility, rather than the perceived superiority of a single technique.

Keywords

butyric acid, volatile fatty acids, gas chromatography, high-performance liquid chromatography, mass spectrometry

서론

인간의 장은 소화 기관일 뿐만 아니라 수많은 미생물이 공존하고 있는 복잡한 생태계인 장내 마이크로바이옴(gut microbiome)의 서식처이다(Alali and Shori, 2026). 장내 마이크로바이옴의 최근까지 연구는 대사 및 영양학적 기능, 면역계, 장-뇌 축을 통한 신경계 조절(gut-brain axis), 장벽 항상성 유지 등 인간의 건강 전반에 걸쳐 중요한 역할에 대해 입증해 왔다(Valencia *et al.*, 2025). 특히 장내 마이크로바이옴의 기능적 가치는 미생물 그 자체뿐만 아니라, 식이섬유 등을 분해하여 생성하는 대사산물(metabolites)이 중요한 역할을 한다는 점을 주목할 필요가 있다(Zeng *et al.*, 2025; Rahman *et al.*, 2023). 장내 미생물에 의해 생성되는 다양한 대사산물 중 단쇄지방산(short-chain fatty acids, SCFAs)은 숙주와 미생물 간 상호작용에 핵심 매개체로 작용한다(Facchin *et al.*, 2024; Koh *et al.*, 2016; Rahman *et al.*, 2023). 그중에서도 부티르산(butyric acid)은 대장 상피세포의 일차적인 에너지원으로 활용될 뿐만 아니라, 항염증 작용과 장벽 기능 강화 효과를 발휘하는 인자로 알려져 있다(Facchin *et al.*, 2024; Valencia *et al.*, 2025; Xiong *et al.*, 2022). 장내 미생물 불균형은 비만, 당뇨, 염증성 장 질환 및 퇴행성 신경 질환과 밀접하게 연관되어 있다는 사실이 밝혀지면서 부티르산 생성균을 활용한 프로바이오틱스 접근법은 현대 의학의 새로운 치료 전략으로 부상하고 있다(Acevedo-Román *et al.*, 2024; Jagodic *et al.*, 2025; Shen *et al.*, 2025).

부티르산은 단쇄지방산 가운데서도 장내 미생물 대사, 숙주-미생물 상호작용, 염증 및 대사 항상성과 밀접하게 연결된 주요 분석성분이다. 대변, 혈장, 혈청, 치주액, 맹장 조직 등 생체시료에서 부티르산 농도는 미생물 생태와 질병 상태를 반영할 수 있으며, 특히 장 질환, 대사질환, 치주 질환과의 관련성이 반복적으로 제시되어 왔다(Czarnowski *et al.*, 2024; Hatanaka *et al.*, 2022). 장내 미생물에 의한 부티르산 생성 효율은 단순히 특정 균주의 현존량에 의존하지 않으며, 대장 내 pH, 기질의 가용성, 산화 환원 전위와 미생물 간의 대사적 상호작용과 같은 물리·화학적 환경에 따라 정밀하게 조절된다(Raba *et al.*, 2021; Van-Wehle and Vital, 2024). 또한, 기질의 종류와 물리적 구조도 부티르산의 생산 수율에 직접적인 영향을 미친다(Teichmann and Cockburn, 2021). 단순 당과 달리 대장 부위까지 도달하는 저항성 전분, 이눌린, 펙틴 등 복합 다당류는 지속적인 부티르산 생성을 유도하는 중요한 기질로 작용한다(Kovacs *et al.*, 2025; Puhlmann *et al.*, 2024). 또한, 식품 및 발효 분야에서도 부티르산은 균주 대사와 기질 조성에 따른 생성 산물로서 품질 평가와 공정 관리에 활용된다(Brändle

et al., 2016; Kumar *et al.*, 2025).

가스크로마토그래피(GC) 및 가스크로마토그래피-질량분석법(GC-MS)은 휘발성 또는 유도체화를 통해 휘발성 전환이 가능한 화합물의 분리 및 동정을 위한 핵심적인 분석 플랫폼으로 널리 활용되어 왔다(García-Villalba *et al.*, 2012; Gu *et al.*, 2021; Kim *et al.*, 2022; Zhao *et al.*, 2006). GC는 높은 분리능과 빠른 분석 속도를 제공하고, 질량분석법(MS)이 제공하는 정밀한 구조 정보와 높은 선택성은 정성 및 정량 분석 결과의 신뢰성을 확보하는데 결정적 요인으로 작용한다. 특히 저분자, 휘발성, 반 휘발성 물질에서는 GC-MS를 이용한 분석의 중요성이 더욱 증대된다(Wang *et al.*, 2020).

부티르산 분석은 시료 유형에 따라 다른 방법의 적용이 필요하다는 점이 연구를 통해 보고되고 있다(Jiang *et al.*, 2016; Kim *et al.*, 2022). 생체시료에서는 낮은 농도와 높은 매트릭스 복잡성 때문에 민감도, 선택성, 회수율이 중요하며(Gu *et al.*, 2021; Kim *et al.*, 2022), 식품·발효 시료에서는 발효 부산물 간 분리와 품질 지문(fingerprint) 구축이 중요하다(Jiang *et al.*, 2016). 반추위 유체와 같은 액상 시료는 수분과 휘발성 손실 문제 때문에 전처리 방식이 결과에 중요한 영향을 미치며(Foote, 2022), 고형 또는 반고형 시료는 균질화와 추출 효율이 핵심이 된다(Wang *et al.*, 2020; Zhao *et al.*, 2006). 이처럼 동일한 부티르산이라도 매트릭스에 따라 최적 분석법이 달라진다는 점이 보고되고 있다(Czarnowski *et al.*, 2024; Kim *et al.*, 2019; Kim *et al.*, 2022; Zhao *et al.*, 2006).

이에 본 연구에서는 부티르산 분석에 활용되는 크로마토그래피를 기반으로 하는 주요 분석법의 장점과 한계를 시료 유형별로 정리하고 비교하는 데 있다. 특히 생체시료, 식품·발효시료, 공정·환경시료를 중심으로 전처리 부담, 민감도, 선택성, 정량성, 고속처리 가능성, 비용 및 현장 활용성을 검토하고 분석 현황에 대해 논의하고자 한다.

GC 및 GC-MS 기반 분석

GC와 GC-MS는 휘발성 또는 휘발성으로 전환 가능한 화합물의 분리 및 동정을 위한 핵심 분석 플랫폼으로 자리 잡아 왔다(Table 1). GC와 GC-MS 분석법의 발전은 단순한 검출 성능 향상에 그치지 않고, 복잡한 혼합물에서의 분리능 향상과 검출한계를 낮추기 위한 기술적 확장으로 이어져 왔다. 포괄적 2차원 GC-GC×GC-MS, 초음속 분자 빔 기반 GC-MS, 고온 GC-MS, Py(pyrolyzer)-GC-MS, 그리고 GC-MS/MS와 같은 변형 기법은 해상도, 선택성, 또는 열에 민감한 물질에 대한 대응력을 높이기 위해 발전해 왔다(Amirav

et al., 2008; Buckley *et al.*, 1999; Vos *et al.*, 2002). 이러한 흐름은 GC-MS가 단일 장비라기보다 시료 특성에 따라 다양한 변형이 가능한 분석 플랫폼이라는 점을 보여준다.

부티르산 분석법은 대체로 시료의 물리화학적 특성에 의해 선택된다. 부티르산은 휘발성이 높고 저분자 카복실산이라는 특성을 가져 GC를 이용한 분석방법이 부티르산 연구 초기부터 일반적인 분석 방법으로 많이 활용되었다(Barnett and Duncan, 1953). 이에 GC와 GC-MS는 짧은 분석 시간과 우수한 분리능을 제공하나 GC는 GC-MS에 비해 비교적 단순한 매트릭스나 부티르산 농도가 상대적으로 높은 시료에 적합하며, 전처리 최적화, GC-MS 확장, 직접 주입, 산성화, 추출 용매 개선, SPE, 유도체화 등이 새로운 분석법이 도입되며 분석 시간이 단축되고 재현성도 향상되었다 (Jiang *et al.*, 2025; Kim *et al.*, 2019; Zhao *et al.*, 2006). 부티르산은 비유도체 상태에서 머무름과 피크 형태가 불안정할 수 있어 메틸 에스테르화나 실릴화 같은 유도체화를 통한 분석법이 사용되고 있다(Gu *et al.*, 2021). 유도체화는 감도와 재현성을 향상시킬 수 있지만 전처리 복잡성, 반응 편차, 오염 가능성, 그리고 분석 시간 증가를 동반한다. 이러한 단점을 보완하기 위해 유도체화 없는 분석방법도 연구되고 있다(Kim *et al.*, 2022). 또한, 복잡한 매트릭

스에서는 피크 겹침, 열분해 산물, 배경 간섭이 문제를 일으켜 단일 GC-MS만으로는 충분하지 않은 경우도 있다. 최근 연구들은 이러한 한계를 줄이기 위해 두 가지 방향으로 분석기술이 발전하고 있다. 하드웨어와 분리 차원을 확장해 복잡한 혼합물의 해석력을 높이는 방향과 피크 검출, 데이터 처리, 타깃 분석 프레임워크를 고도화하는 방향이다(Borgsmüller *et al.*, 2019). 그러나 시료 유형이 매우 다양하고, 표준화된 비교 연구가 부족하며, 실제 응용 분야별 최적 조건이 상이하다는 점은 앞으로 해결해야 할 과제이다. 이러한 문제가 해결되면 복잡한 시료 중 부티르산 분석법으로도 활용이 가능할 것으로 판단된다.

LC-MS 기반 분석

액체크로마토그래피-질량분석(LC-MS)과 고해상도 질량분석(HRMS)은 복잡한 생체시료, 환경 시료, 식품, 천연물, 단백질 시료에서 동시 정성·정량을 수행하는 분석 능력을 제공한다(Table 1). 특히, UHPLC-HRMS, LC-HRMS/MS, LC-MS/MS는 성분의 분리과 정확한 질량 측정 능력을 결합하여 간섭이 많은 매트릭스에서도 높은 선택성과 신뢰도를 제공하며, 표적 분석과 비표적 분석 등

Table 1. Summary of analytical methods for butyric acid

Analytical method	Main advantages	Main limitations	Suitable sample types / situations	References
GC / GC-MS	Excellent separation of volatile fatty acids and high quantitative reproducibility	Unmodified butyric acid may show unstable retention and peak shape; derivatization is often needed	Feces, fermentation broths, dairy products, volatile fatty acid mixtures	Amirav <i>et al.</i> , 2008; Wang <i>et al.</i> , 2020; Gu <i>et al.</i> , 2021; Lewis <i>et al.</i> , 1967
HPLC	Flexible for diverse matrices and applicable to non-volatile or thermally labile compounds	Butyric acid has weak UV absorbance, so detector choice and derivatization are critical	Organic acid profiling, food matrices, selected biological samples	Chen and Lifschitz, 1989; De Baere <i>et al.</i> , 2013
LC-MS/MS / HRMS	High selectivity in complex matrices and strong capability for low-level simultaneous analysis	High instrument cost, operational complexity, and ionization-related issues for small molecules	Plasma, urine, complex foods, high-precision analysis	Chen <i>et al.</i> , 2021; Mosen <i>et al.</i> , 2021
Derivatization-based methods	Improves sensitivity, selectivity, and detection stability	Adds time to sample preparation and increases reagent-dependent variability	Low-concentration butyric acid and samples difficult to analyze directly	Gu <i>et al.</i> , 2021; Jiang <i>et al.</i> , 2025; Kim <i>et al.</i> , 2019
Headspace / distillation-based approaches	Reduces matrix interference by isolating volatile components effectively	Additional preparation steps are required, and recovery must be controlled	Feces, foods, fermentation samples, volatile-rich matrices	Cruwys <i>et al.</i> , 2002; Park <i>et al.</i> , 2026

활용 범위를 넓혀 왔다

LC-MS/HRMS의 가장 큰 장점은 복잡한 시료에서 간섭물질을 분리하고, 낮은 함량까지 분석할 수 있다는 장점이 있어 여러 연구에서 생체시료, 소변, 혈장, 우유, 식품, 환경 시료에 대해 LC-HRMS/MS 또는 LC-MS/MS가 높은 선택성과 검출 신뢰도를 제공한다고 보고되고 있다(Chen *et al.*, 2021). 특히 고해상도 질량분석은 동질이 성질체·동중량체가 많은 시료에서도 분해능과 정확한 질량 정보를 통해 화합물 동정의 정확도를 높인다(Venter *et al.*, 2018). 이 장점은 전통적인 면역분석이나 단일 신호 기반 검출법이 갖는 교차반응, 비특이성, 또는 구조 정보 부족 문제를 보완하고 있다. 단백질, 펩타이드, 지질, 대사체에 관한 다양한 연구에서 LC-MS 기반 접근은 복잡한 생물학적 매트릭스에서도 다양한 화합물을 동시에 분석하는 데 적합한 것으로 보고되고 있다(Mosen *et al.*, 2021). 다만 이러한 장점은 충분한 크로마토그래피 분리와 적절한 내부표준물질, 유도체화, 그리고 신뢰도 높은 데이터 처리와 결합될 때에만 안정적으로 구현될 수 있다.

그러나 LC-MS/HRMS가 모든 조건에서 최선의 분석방법인 것은 아니다. 질량분석 기반 방법은 선택성과 정보량 측면에서는 강하지만, 장비 비용, 운용 복잡성, 데이터 처리 부담, 그리고 일부 작은 분자에서의 이온화 저하 문제가 남아 있다(Beck and Ericsson,

2014). 특히 표준물질이 없거나 구조가 미지인 화합물의 정량하는데 한계가 있기에 최근 연구들은 예측 모델, 유사성 기반 반정량, 라이브러리 매칭, 그리고 데이터 처리 알고리즘을 통해 한계를 보완하려 하고 있다(Liigand *et al.*, 2020; Palm and Krueve, 2022; Schneide and Kronik, 2025). 결론적으로 LC-MS/HRMS 분야의 핵심 논쟁은 ‘얼마나 넓게 탐지할 수 있는가’와 ‘얼마나 정확하게 정량할 수 있는가’의 균형에 있다. HRMS는 복잡한 시료에서 넓은 커버리지와 높은 선택성을 제공하지만, 정량의 보편성과 재현성, 그리고 표준화에서는 여전히 방법 간 편차가 크고, 이는 특히 비표적 분석에서 두드러진다(Palm and Krueve, 2022). 따라서 향후에는 장비 성능뿐 아니라 데이터 처리 표준화, 보정 전략, 그리고 복잡한 매트릭스에 대한 전처리 최적화가 함께 연구되어야 한다(Schneide and Kronik, 2025).

생체시료의 분석

생체시료 분석은 혈장, 혈청, 소변, 타액, 대변, 조직, 모발, 체액 등 다양한 매트릭스에서 미량 성분을 정확하고 재현성 있게 측정하는 것을 목표로 하며, 특히 LC-MS/MS와 GC-MS/MS가 핵심 분석기술로 사용되어 왔다(Table 2). 생체시료 분석에서 중요한 내용

Table 2. Analytical strategies for butyric acid by sample type

Sample type	Main analytical challenges	Relatively suitable methods	Key considerations	References
Biological samples (feces, plasma, urine, saliva)	Low concentration, complex matrices, limited detection sensitivity	GC-based quantification, LC-MS/MS as a complement, derivatization-assisted methods	Optimize pretreatment, use internal standards, ensure low detection limits	Chen and Lifschitz, 1989; García-Villalba <i>et al.</i> , 2012; Kim <i>et al.</i> , 2015; Mahdi <i>et al.</i> , 2024; Stø <i>et al.</i> , 2022
Food and fermentation samples (dairy products, fermentation broths, culture media)	Interference from lipids, proteins, flavor compounds, and variable production levels	GC for routine analysis, HPLC as a complementary approach	Reproducibility, removal of interfering substances, standardized pretreatment	Aiello <i>et al.</i> , 2023; Danudol and Judprasong, 2022; Hadinia <i>et al.</i> , 2022; Shelley <i>et al.</i> , 1963
Process and environmental samples	Volatile loss, separation of homologous fatty acids, and field applicability	GC or combined GC/LC approaches	Rapid handling, sealed conditions, cost effectiveness	Ferreira <i>et al.</i> , 2016; Koper and Grabarczyk, 2014; Zeng <i>et al.</i> , 2013
Complex mixed matrices	Multiple co-eluting compounds and difficulty in ensuring selectivity	LC-MS/MS, HRMS	High-resolution separation, simultaneous identification and quantification, high instrument cost	Chen <i>et al.</i> , 2021; Mosen <i>et al.</i> , 2021
Simple high-concentration samples	Analysis itself is relatively straightforward, but throughput matters	GC / GC-MS	Fast routine analysis, cost efficiency, minimal complexity	Jiang <i>et al.</i> , 2025; Kim <i>et al.</i> , 2019; Zhao <i>et al.</i> , 2006

은 시료 내 단백질, 지질, 염, 인지질, 미생물 부산물, 그리고 불안정한 내인성 물질이 유발하는 간섭을 어떻게 줄이면서도 목표 분석물의 회수율과 감도를 유지하느냐에 있다. 대변 내 부티르산과 같은 단쇄지방산은 GC나 GC-MS로 분석하는 경우가 일반적이며 (García-Villalba *et al.*, 2012; Kim *et al.*, 2015; Mahdi *et al.*, 2024) 혈장이나 소변처럼 희석도가 높고 조성이 복잡한 시료에서는 LC-MS/MS가 보완적으로 사용되고 있다 (Stø *et al.*, 2022). 생체시료에서 GC와 LC는 경쟁 관계라기보다 상호보완적으로 사용되어 왔으며 (Chen and Lifschitz, 1989) 휘발성·열안정성 분석물이나 유도체화가 유리한 경우 GC-MS/MS가 강점을 보이지만, 수분 함량이 높고 조성이 복잡하며 분석물의 극성이 큰 생체시료에서는 LC-MS/MS가 활용이 확대될 것으로 예상된다. 다만 LC-MS/MS도 매트릭스 효과에서 자유롭지 않으며, 특히 인지질과 다른 공통의 추출 성분이 피크 이동, 이온 억제, 정량 편향을 유발할 수 있어 전처리 최적화 방안에 대한 지속적 분석법 개발이 요구된다.

이러한 생체시료 분석에서의 중요한 점은 ‘더 간단한 시료 처리’와 ‘더 높은 선택성과 민감도’사이의 균형으로 단순 주입형 접근은 일부 매트릭스가 적은 시료나 고감도 플랫폼에서 가능하다. 대부분의 생체시료에서는 추출-정제-유도체화-자동화/고속화가 결합된 워크플로우가 요구되며, 시료 유형과 분석물 특성에 따라 최적 해법이 달라지기도 한다 (Jemal, 2000). 그러나 이러한 발전에도 불구하고, 비전통적 생체시료, 극미량 분석물, 다성분 동시 정량, 그리고 매트릭스 간 비교에 관한 표준화에 대한 연구는 여전히 충분하지 않은 것으로 판단된다.

식품과 발효시료의 분석

식품과 발효시료에서 부티르산 분석은 단순한 존재 여부 확인을 넘어 생성장 평가, 발효 진행 상태의 추적, 미생물 대사 특성의 해석, 그리고 공정 제어를 위한 정량 분석이라는 성격이 강하다 (Table 2). 유제품, 치즈, 사일리지, 발효액, 혐기성 발효액, 루멘액 등에서는 부티르산이 짧은 사슬 지방산 또는 휘발성 지방산의 일부로 다뤄지며, 시료의 복잡성 때문에 분석법의 선택과 전처리 조건이 분석결과를 좌우한다 (Aiello *et al.*, 2023; Brändle *et al.*, 2016; Hadinia *et al.*, 2022; Jiang *et al.*, 2016; Keen and Walker, 1974). 식품과 발효시료의 분석은 예전부터 GC를 중심으로 발전해 왔다. 초기 연구에서는 증류, 산/염기 처리, 에스터화, 이온교환수지 정제와 같은 전처리를 통해 아세트산, 프로피온산, 부티르산을 분리 및 정량하는 분석법이 연구되었다 (Karleskind *et al.*, 1970; Keen and Walker, 1974; Shelley *et al.*, 1963). 이후

미생물 발효액과 복합 식품 시료에 대해 보다 빠르고 재현성 있는 Capillary-GC, GC-FID, GC-MS, GC-MS/MS가 도입되었다 (Badertscher *et al.*, 2023; Danudol and Judprasong, 2022; Darwin *et al.*, 2018; Sandra and Miller, 2002). 특히 짧은 지방산들이 함께 존재하는 시료에서는 부티르산만을 따로 보는 것보다 전체 휘발성 지방산 프로파일을 동시에 분석하는 방법을 사용하였다 (Darwin *et al.*, 2018; Keen and Walker, 1974).

이와 함께 식품 매트릭스의 간섭은 이 분야의 핵심 난제로 반복적으로 지적되고 있다. 지방, 단백질 분해산물, 향미 성분, 색소와 같은 공존 물질은 피크 분리능 저하와 회수율 저하를 유발할 수 있어 시료 준비 단계의 표준화와 내부표준 설정 등이 분석 방법 개발에 중요한 부분으로 작용한다 (Hewavitharana *et al.*, 2020; Keen and Walker, 1974; Sandra and Miller, 2002). 따라서 부티르산 분석은 ‘어떤 검출기를 쓰는가’만의 문제가 아니라 ‘어떤 매트릭스에서 어떤 형태로 전처리할 것인가’가 더 중요한 방법론적 문제로 자리 잡아 왔다 (Hewavitharana *et al.*, 2020; Keen and Walker, 1974).

HPLC-UV 검출기를 사용하여 자외선 파장 영역에서 부티르산을 분석하기도 하지만 검출한계의 제한으로 인해 유도체화, 형광 검출, 또는 MS 결합을 통해 분석 감도를 증가시켜 분석의 효율성을 높인 연구도 진행되고 있다 (Sanches-Silva *et al.*, 2007; Soares *et al.*, 2015). 따라서, 식품과 발효시료에서 부티르산 분석은 GC 중심의 분석법을 적용하지만 HPLC 기반의 보완적 방법을 통해 복합 시료에서의 표준화, 선택성 및 정량 신뢰도를 확보할 필요성이 있다 (Keen and Walker, 1974).

공정과 환경시료의 분석

공정·환경시료의 분석은 복잡한 매트릭스에서 목표 성분을 얼마나 선택적으로 분리하고, 전처리 과정에서 휘발성 손실을 얼마나 줄이며, 현장 적용이 가능한 수준의 재현성과 처리 속도를 확보할 수 있는가에 초점이 맞추어져 왔다 (Table 2). 특히, 증기 증류, 헤드스페이스, purge-and-trap 등은 용매 사용을 줄이거나 매트릭스 간섭을 완화하면서 휘발성 성분을 선택적으로 포집할 수 있는 방법으로 이루어졌다 (Ferreira *et al.*, 2016; Kawata *et al.*, 2003; Zhang and Pawliszyn, 1993).

초기 연구는 증기 증류 장치의 구현과 분리 효율 개선에 집중했으며, 이후에는 환경 시료, 식물 시료, 공정 시료에 적용 범위가 확대되고 있다 (Machado and Lepikson, 2023). 이 시기에는 단순히 성분을 추출하는 것뿐 아니라, 시료량, pH, 증류 시간, 온도, 응축 조건이 회수율과 분리 특성에 어떤 영향을 주는지 규명하는 방향으

로 이루어졌다(Duerksen and Hsueh, 1983; Kromann *et al.*, 1967). 이러한 흐름은 휘발성 성분의 손실을 줄이기 위해 밀폐·신속 전처리의 필요성이 중요함을 시사한다(Zhang and Pawliszyn, 1993).

2000년대 이후에는 GC-MS와 결합된 헤드 스페이스 및 증기 증류 비교 연구가 증가되었다(Cruwys *et al.*, 2002; Park *et al.*, 2026; Zeng *et al.*, 2013), 헤드스페이스가 더 많은 휘발성 성분을 포착하거나 무 용매 및 신속성에서 장점을 보인다는 연구 결과와 함께 반대로 증기 증류는 회수율 확보, 농축과 후속 분리에 장점이 있다고 보고되었다(Zeng *et al.*, 2011). 다만 다른 연구 결과들에서는 식물 정유나 향기 성분 중심이어서, 실제 환경과 공정 시료의 높은 염 농도, 유기물, 점성이 높은 매트릭스에 대한 일반화에는 한계가 있는 것으로 알려졌다(Ferreira *et al.*, 2016; Koper and Grabarczyk, 2014).

전반적으로 공정과 환경 시료 분석에서의 주요 쟁점은 휘발성 손실 최소화, 동족체와 유사 구조 성분의 분리, 매트릭스 간섭 억제, 그리고 현장성 및 자동화 가능성의 균형으로 일부 연구는 전처리 시간을 줄이고 무 용매성을 강조하는 반면, 다른 연구는 선택적 회수와 정량 안정성을 위해 증기 증류와 후속 정제 단계를 유지해야 한다는 필요성을 제시하였다(Ferreira *et al.*, 2016; Kawata *et al.*, 2003; Zhang and Pawliszyn, 1993).

결론

시료 중 부티르산은 저분자 휘발성 지방산이라는 공통점을 가지지만, 분석방법은 시료의 복잡도, 농도 수준, 전처리 가능성, 정량 목적에 따라 다르게 적용된다. GC와 GC-MS는 휘발성 지방산의 분리와 루틴한 정량분석에 장점을 가지며, 발효액·대변·유제품처럼 부티르산을 직접적으로 분석 가능한 시료에서도 여전히 대표적 분석법으로 활용이 가능하다. 반면 생체시료나 복합 식품처럼 매트릭스 간섭이 큰 경우에는 HPLC 또는 LC-MS/MS 기반의 분석법이 보완적으로 요구되며, 이는 검출 선택성과 간섭 억제가 분석 신뢰도를 좌우하기 때문이다.

부티르산 분석의 가장 큰 기술적 병목은 검출 자체뿐만 아니라 전처리방법 및 검출기 선택에 있다. 부티르산은 UV 검출 시 검출한계에 제한이 있고, 비유도체 상태에서는 피크 모양과 머무름 시간이 불안정할 수 있어 유도체화, 헤드스페이스 이용, 내부표준물질 적용이 중요한 전략으로 제시된다(Badertscher *et al.*, 2023; Shafaei *et al.*, 2021) 이러한 특징은 HPLC가 이론적으로는 다양한 시료에 적용 가능하더라도, 실제로는 유도체화, 전기화학 검출, 혹은 MS 결합 없이는 부티르산의 분석에 한계가 있기 때문이다

(Yavarinasab *et al.*, 2023). 따라서 HPLC 계열의 장점은 시료 대응성에 있고, 단점은 검출 설계와 시약 의존성이 크다는 점이다. 생체시료에서는 검출감도와 매트릭스 간섭 억제 능력이 가장 중요한데, 대변 SCFA 분석은 GC, GC-MS가 일반적 분석법이며, 혈장이나 소변처럼 희석도가 높고 조성이 복잡한 시료 분석은 LC-MS/MS가 적합성이 인정된다. 비침습 시료인 타액과 소변은 임상적 활용성과 채취 편의성이 크지만, 저농도와 변동성이 커서 검출한계와 재현성 확보가 필수적이다. 따라서 생체시료 분석에서는 고감도 장비의 도입만으로는 충분하지 않고, 시료별로 추출·정제·유도체화 조건을 최적화해야 한다(He *et al.*, 2018).

식품과 발효시료에서는 부티르산이 단순한 잔류 성분이 아니라 발효 진행, 미생물 활성, 공정 이상 여부를 보여주는 기능성 지표로 평가되는데, 이 영역에서는 GC 기반 방법이 짧은 지방산 혼합물을 동시 분석하는 것에 유리하며, 발효 과정에서 생수량 변화를 빠르게 추적할 수 있다는 점에서 운영 효율성이 높다. 다만 치즈, 버터, 밀크, 발효식품처럼 지방과 단백질이 많은 시료에서는 전처리 방법과 내부표준물질 사용으로 분석결과와 신뢰성을 높이는 것이 중요하다(Danudol and Judprasong, 2022; Oliveira *et al.*, 2024). 따라서 식품·발효 분야에서는 GC 기반 분석법이 감도와 분리능이 우수하여 일반적 방법으로 사용하고 열에 불안정한 물질까지 분석할 경우 HPLC 또는 LC-MS 계열이 보완적으로 활용하는 방법이 효율적인 것으로 판단된다.

질량분석 기반 방법은 복합 매트릭스에서 가장 강력한 선택성을 제공하지만, 장비 비용과 운영 난이도가 높다는 단점이 있다. 특히 부티르산처럼 작은 분자는 이온화 효율 저하와 배경 간섭의 영향을 받기 쉬워 LC-MS/MS 분석 시 주로 유도체화 하는 방법이 제시되었다. 오히려 시료가 단순하고 농도가 높을수록 GC 계열이 더 경제적이고 신속한 대안이 되며, 생체 시료에서 중 매트릭스가 복잡하거나 저농도 분석 시 LC-MS/MS가 효율적인 방법으로 평가된다(Trivedi *et al.*, 2022). 결국 부티르산 분석법의 선택은 장비 성능의 비교가 아니라, 시료의 복잡성, 분석 목적, 처리량, 비용, 재현성의 균형을 맞추는 의사결정 문제로 이해되어야 한다.

부티르산 분석은 시료 특성에 맞는 방법 선택이 분석의 효율성과 정확성을 결정한다는 점을 보여준다. GC와 GC-MS는 부티르산처럼 휘발성 성분에 가장 직접적이고 검증된 분석법으로 루틴한 정량 분석에 적합하다. HPLC와 LC-MS 계열은 저농도, 복합 매트릭스, 비휘발성 조건에서 강점을 가진다. 따라서 부티르산 분석의 실무적 최적 전략은 단일 플랫폼의 일괄 적용이 아니라, 시료 유형별로 GC, GC-MS, HPLC, LC-MS를 선택적으로 조합하는 방법이 필요하다. 생체시료에서는 민감도와 매트릭스 제어가, 식품·발효시료에서는 반복성과 처리 속도가, 공정·환경시료에서는 신속한 루틴성과



경제성이 핵심 기준이 된다. 이러한 관점에서 본 리뷰는 부티르산 분석을 장비 비교가 아닌 시료 기반 분석의 문제로 재정의하며, 향후 연구와 실무 적용에 시료 맞춤형 방법 설계가 우선되어야 함을 제안한다.

요약

부티르산은 장내 미생물 대사, 발효식품의 품질 평가, 생체지표 분석 및 공정 모니터링에서 중요한 분석 대상물질이다. 그러나 시료의 물리화학적 특성과 매트릭스 복잡성에 따라 분석 난이도와 최적 분석법이 크게 달라진다. 본 리뷰는 생체시료, 식품·발효시료, 공정·환경시료를 중심으로 부티르산 분석에 활용되는 가스크로마토그래피(GC), 가스크로마토그래피-질량분석(GC-MS), 고성능 액체크로마토그래피(HPLC), 액체크로마토그래피-질량분석(LC-MS) 기반 분석 방법에 대해 비교하였다. GC 및 GC-MS는 휘발성 지방산 분석에서 높은 분리능과 정량성, 일상적 분석에 기본 축으로서의 기능을 하였다. HPLC와 LC-MS 계열은 복합 매트릭스와 저농도 시료에서 분석법의 확장성이 있는 반면, 유도체화, 장비 비용 및 운영 난이도가 요구되었다. 대변, 혈액, 소변, 타액과 같은 생체시료에서는 검출감도와 매트릭스 제거 능력, 유제품 및 발효액과 같은 식품 및 발효시료에서는 반복성과 처리속도가 주요 분석방법 선택의 요인으로 나타났다. 부티르산 분석은 단일 방법의 우열에 기반 하기보다 시료 특성, 분석 목적, 처리량, 비용, 재현성을 종합적으로 고려하여 선택하는 것이 필요한 것으로 판단된다.

감사의 글

이 논문은 2026년도 서원대학교 교내학술연구비 지원을 받아 수행된 연구임.

References

1. Acevedo-Román A, Pagán-Zayas N, Velázquez-Rivera LI, *et al.* (2024) Insights into gut dysbiosis: Inflammatory diseases, obesity, and restoration approaches. *Int. J. Mol. Sci.* **25**(17), 9715.
2. Aiello A, Pizzolongo F, Luca LD *et al.* (2023) Production of butyric acid by different strains of *Lactobacillus plantarum* (*Lactiplantibacillus plantarum*). *Int. Dairy J.* **140**, 105589.
3. Alali MA and Shori AB (2026) Understanding the human gut microbiome: from composition to disease association. *Front. Microbiomes.* **5**, 1717288.
4. Amirav A, Gordin A, Poliak M, and Fialkov AB (2008) Gas chromatography-mass spectrometry with supersonic molecular beams. *J. Mass Spectrom.* **43**, 141-163.
5. Badertscher R, Blaser C, and Noth P (2023) Validated method for the determination of free volatile carboxylic acids in cheese and bacterial cultures by GC-FID after esterification in aqueous extract and headspace injection. *Food Chem.* **398**, 133932.
6. Barnett AJG and Duncan REB (1953) The determination of the volatile fatty acids formed during the fermentation of grass/water mixtures. *J. Agric. Sci.* **43**(3), 260-264.
7. Borgsmüller N, Gloaguen Y, Opialla T, *et al.* (2019) WiPP: Workflow for improved peak picking for gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) data. *Metabolites.* **9**(9), 171.
8. Brändle J, Domig KJ, and Kneifel W (2016). Relevance and analysis of butyric acid producing clostridia in milk and cheese. *Food Control.* **67**, 252-264.
9. Buckley SA, Stott AW, and Evershed RP (1999) Studies of organic residues from ancient Egyptian mummies using high temperature-gas chromatography-mass spectrometry and sequential thermal desorption-gas chromatography-mass spectrometry and pyrolysis-gas chromatography-mass spectrometry. *Analyst.* **124**, 443-452.
10. Chen HM and Lifschitz CH (1989) Preparation of fecal samples for assay of volatile fatty acids by gas-liquid chromatography and high-performance liquid chromatography. *Clin. Chem.* **35**(1), 74-76.
11. Cruwys JA, Dinsdale RM, Hawkes FR, and Hawkes DL. (2002) Development of a static headspace gas chromatographic procedure for the routine analysis of volatile fatty acids in wastewaters. *J. Chromatogr. A.* **945**(1-2), 195-204.
12. Czarnowski P, Mikula M, Ostrowski J, and Żeber-Lubecka N (2024) Gas chromatography-mass spectrometry-based analyses of fecal short-chain

- fatty acids (SCFAs): A summary review and own experience. *Biomedicines*. **12**(8), 1904.
13. Danudol A and Judprasong K (2022) Development and method validation of butyric acid and milk fat analysis in butter blends and blended milk products by GC-FID. *Foods*. **11**(22), 3606.
14. Darwin, WipaCharles and Cord-Ruwisch R (2018) Concurrent lactic and volatile fatty acid analysis of microbial fermentation samples by gas chromatography with heat pre-treatment. *J. Chromatogr. Sci.* **56**(1), 1-5.
15. De Baere S, Eeckhaut V, Steppe M *et al.* (2013) Development of a HPLC-UV method for the quantitative determination of four short-chain fatty acids and lactic acid produced by intestinal bacteria during *in vitro* fermentation. *J. Pharm. Biomed. Anal.* **80**, 107-15.
16. Duerksen JH and Hsueh L (1983) Steam distillation of crude oils. *SPE J.* **23**, 265-271.
17. Facchin S, Bertin L, Bonazzi E, *et al.* (2024) Short-chain fatty acids and human health: From metabolic pathways to current therapeutic implications. *Life (Basel)*. **14**(5), 559.
18. Ferreira FN, Afonso JC, Pontes FVM *et al.* (2016) Determination of low-molecular-weight amines and ammonium in saline waters by ion chromatography after their extraction by steam distillation. *J. Sep. Science*. **39**, 1454-1460.
19. Foote AP (2022) TECHNICAL NOTE: Analysis of volatile fatty acids in rumen fluid by gas chromatography mass spectrometry using a dimethyl carbonate extraction. *J. Anim. Sci.* **100**(8), skac207.
20. García-Villalba R, Giménez-Bastida JA, García-Conesa MT *et al.* (2012) Alternative method for gas chromatography-mass spectrometry analysis of short-chain fatty acids in faecal samples. *J. Sep. Sci.* **35**(15), 1906-13.
21. Chen L, Sun X, Khalsa AS *et al.* (2021) Accurate and reliable quantitation of short chain fatty acids from human feces by ultra high-performance liquid chromatography-high resolution mass spectrometry (UPLC-HRMS). *J. Pharm. Biomed. Anal.* **5**, 200:114066.
22. Gu H, Jasbi P, Patterson J *et al.* (2021) Enhanced detection of short-chain fatty acids using gas chromatography mass spectrometry. *Curr. Protoc.* **1**(6), e177.
23. Hadinia N, Dovom MRE, and Yavarmanesh M (2022) The effect of fermentation conditions (temperature, salt concentration, and pH) with *Lactobacillus* strains for producing short chain fatty acids. *LWT*. **165**, 113709.
24. Hatanaka K, Shirahase Y, Yoshida T *et al.* (2022) Enzymatic measurement of short-chain fatty acids and application in periodontal disease diagnosis. *PLOS ONE*. **17**(7), e0268671.
25. He L, Prodhan MAI, Yuan F, Yin X *et al.* (2018) Simultaneous quantification of straight-chain and branched-chain short chain fatty acids by gas chromatography mass spectrometry. *J. Chromatogr. B Analyt. Technol. Biomed. Life Sci.* **1092**, 359-367.
26. Hewavitharana GG, Perera DN, Navaratne SB *et al.* (2020) Extraction methods of fat from food samples and preparation of fatty acid methyl esters for gas chromatography: A review. *Arab. J. Chem.* **13**(8), 6865-6875.
27. Jagodic A, Krsek A, Schleicher LMS *et al.* (2025) Microbiome dysbiosis as a driver of neurodegeneration: Insights into Alzheimer's and Parkinson's diseases. *Gastrointestinal Disorders*. **7**(2), 28.
28. Jemal M (2000) High-throughput quantitative bioanalysis by LC/MS/MS. *Biomed. Chromatogr.* **14**, 422-429.
29. Jiang H, Li Q, Yang Y *et al.* (2025) Orthogonal assessment of six extraction methods for GC-MS based short-chain fatty acid quantification in fecal samples. *J. Chromatogr. A*. **1757**, 466132.
30. Jiang Z, Liu Y, Zhu Y *et al.* (2016) Characteristic chromatographic fingerprint study of short-chain fatty acids in human milk, infant formula, pure milk and fermented milk by gas chromatography-mass spectrometry. *Int. J. Food Sci. Nutr.* **67**(6), 632-640.



31. Karleskind A, Valmalle G, and Wolff JP (1970) Determination of small quantities of butyric acid in fatty foods application to determination of fatty material of butter. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* **53**(5), 1082-1084.
32. Kawata K, Tanabe A, Yagoh H *et al.* (2003) Determination of semivolatile organic compounds in environmental samples by gas chromatography/mass spectrometry after extraction by cyclic steam distillation. *J. AOAC Int.* **86**(2), 246-256.
33. Keen AR and Walker NJ (1974) The determination of acetic, propionic and butyric acids in cheese. *J. Dairy Res.* **41**(3), 397-404.
34. Kim EY, Jo K, Ahn SH *et al.* (2015) Effect of lactic acid bacteria powder on loperamide-induced constipation in rat. *Korean J. Food Nutr.* **28**(6), 956-64.
35. Kim H, Kwon J, Choi SY *et al.* (2019) Method development for the quantitative determination of short chain fatty acids in microbial samples by solid phase extraction and gas chromatography with flame ionization detection. *J. Anal. Sci. Technol.* **110**, 28.
36. Kim KS, Lee Y, Chae W *et al.* (2022) An improved method to quantify short-chain fatty acids in biological samples using gas chromatography-mass spectrometry. *Metabolites.* **12**(6), 525.
37. Koh A, De Vadder F, Kovatcheva-Datchary P *et al.* (2016) From dietary fiber to host physiology: Short-chain fatty acids as key bacterial metabolites. *Cell.* **165**(6), 1332-1345.
38. Koper A and Grabarczyk M (2014) Determination of bismuth by adsorptive stripping voltammetry using aluminum oxide for elimination of environmental sample matrix interferences. *Electroanalysis.* **26**, 697-703.
39. Kovacs E, Szabo K, Varvara RA *et al.* (2025) Resistant starch and microbiota-derived secondary metabolites: a focus on postbiotic pathways in gut health and irritable bowel syndrome. *Int. J. Mol. Sci.* **26**(16), 7753.
40. Kromann RP, Meyer JH, and Stielau WJ (1967) Steam distillation of volatile fatty acids in rumen ingesta. *J. Dairy Sci.* **50**(1), 73-76.
41. Kumar R, Kaur G, and Brar SK (2025) Tailored production of butyric acid from mixed culture fermentation of food waste. *Food Bioprod. Process.* **150**, 1-11.
42. Lewis VJ, Moss CW, and Jones WL (1967) Determination of volatile acid production of *Clostridium* by gas chromatography. *Can. J. Microbiol.* **13**(8), 1033-1040.
43. Liigand J, Wang T, Kellogg J *et al.* (2020) Quantification for non-targeted LC/MS screening without standard substances. *Sci. Rep.* **10**, 5808.
44. Mahdi T, Desmons A, Krasniqi P *et al.* (2024) Effect of stool sampling on a routine clinical method for the quantification of six short chain fatty acids in stool using gas chromatography-mass spectrometry. *Microorganisms.* **12**(4), 828.
45. Machado CAT and Lepikson HA (2023) Industry 4.0 technological elements applied to steam distillation. *JBTH.* **6**(2), 158-164.
46. Oliveira WC, Soares TF, Richards NSPDS *et al.* (2024) Fat extraction methodology can affect the food fatty acid profile: Improvement of a protocol more environmentally friendly. *Heliyon.* **10**(22), e40206.
47. Palm E and Krueve A (2022) Machine learning for absolute quantification of unidentified compounds in non-targeted LC/HRMS. *Molecules.* **27**(3), 1013.
48. Park C, Rahim MA, Barman I *et al.* (2026) Development of mass spectrometry-based SCFA analysis methods in diverse samples for microbiome research. *Life.* **16**(6), 974.
49. Puhlmann ML, van de Rakt E, Kerezoudi EN *et al.* (2024) Analysis of the fermentation kinetics and gut microbiota modulatory effect of dried chicory root reveals the impact of the plant-cell matrix rationalizing its conversion in the distal colon. *Microbiome Res. Rep.* **3**(3), 25.
50. Raba G, Adamberg S, and Adamberg K (2021) Acidic pH enhances butyrate production from pectin by faecal microbiota. *Front. Microbiol.* **12**, 41415.
51. Rahman S, O'Connor AL, Becker SL *et al.* (2023) Gut

- microbial metabolites and its impact on human health. *Ann. Gastroenterol.* **36**(4), 360-368.
52. Sandra P and Miller DJ (2002) High-throughput capillary gas chromatography for the determination of polychlorinated biphenyls and fatty acid methyl esters in food samples. *J. Chromatogr. Sci.* **40**(5), 248-253.
 53. Schneide PA and Kronik OM (2025) Signal processing workflow for suspect screening in LC × LC-HRMS: efficient extraction of pure mass spectra for identification of suspects in complex samples using a mass filtering algorithm. *Anal. Chem.* **97**(2), 1180-1189.
 54. Shafaei A, Vamathevan V, Pandohee J *et al.* (2021) Sensitive and quantitative determination of short-chain fatty acids in human serum using liquid chromatography mass spectrometry. *Anal. Bioanal. Chem.* **413**(25), 6333-6342.
 55. Shelley RN, Salwin H, and Horwitz W (1963) Quantitative determination of formic, acetic, propionic, and butyric acids by gas chromatography. *J. AOAC Int.* **46**(3), 486-493.
 56. Shen Y, Fan N, Ma SX *et al.* (2025) Gut microbiota dysbiosis: Pathogenesis, diseases, prevention, and therapy. *MedComm.* **6**(4), e70168.
 57. Stø K, Valeur J, Ueland T *et al.* (2022) Fecal level of butyric acid, a microbiome-derived metabolite, is increased in patients with severe carotid atherosclerosis. *Sci. Rep.* **12**(1), 22378.
 58. Teichmann J and Cockburn DW (2021) *In vitro* fermentation reveals changes in butyrate production dependent on resistant starch source and microbiome composition. *Front. Microbiol.* **12**, 640253.
 59. Trivedi N, Erickson HE, Bala V *et al.* (2022) A concise review of liquid chromatography-mass spectrometry-based quantification methods for short chain fatty acids as endogenous biomarkers. *Int. J. Mol. Sci.* **23**(21), 13486.
 60. Valencia S, Zuluaga M, Florian Pérez MC *et al.* (2025) Human gut microbiome: A connecting organ between nutrition, metabolism, and health. *Int. J. Mol. Sci.* **26**(9), 4112.
 61. Van-Wehle T and Vital M (2024) Investigating the response of the butyrate production potential to major fibers in dietary intervention studies. *npj Biofilms Microbiomes.* **10**, 63.
 62. Vos BJ, Froneman M, Rohwer E *et al.* (2002) Detection of petrol (gasoline) in fire debris by gas chromatography/mass spectrometry/mass spectrometry (GC/MS/MS). *J. Forensic Sci.* **47**(4), 1-21.
 63. Wang H, Liu Y, Shao J *et al.* (2020) Rapid and accurate simultaneous determination of seven short-chain fatty acids in feces by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS): application in type 2 diabetic rats and drug therapy. *Analytical Letters.* **3**(14), 2320-2336.
 64. Xiong RG, Zhou DD, Wu SX *et al.* (2022) Health benefits and side effects of short-chain fatty acids. *Foods.* **11**(18), 2863.
 65. Yavarinasab A, Flibotte S, Liu S *et al.* (2023) An impedance-based chemiresistor for the real-time, simultaneous detection of gut microbiota-generated short-chain fatty acids. *Sensors and Actuators B: Chemical.* **393**, 134145.
 66. Zeng L, Qian Y, Cui X *et al.* (2025) Immunomodulatory role of gut microbial metabolites: Mechanistic insights and therapeutic frontiers. *Front. Microbiol.* **16**, 1675065.
 67. Zeng Z, Chunyan M, Xuening Y *et al.* (2013) Analysis of volatile components of *Adenosma indianum* (Lour.) Merr. by steam distillation and headspace solid-phase microextraction. *J. Chem.* **545760**, 7.
 68. Zhang Z and Pawliszyn J (1993) Analysis of organic compounds in environmental samples by headspace solid phase microextraction. *J. High Resol. Chromatogr.* **16**, 689-692.
 69. Zhao G, Nyman M, and Åke Jönsson J (2006) Rapid determination of short-chain fatty acids in colonic contents and faeces of humans and rats by acidified water-extraction and direct-injection gas chromatography. *Biomed. Chromatogr.* **20**, 674-682.