

## 1, 2-Octanediol과 1, 2-Octanediol Galactoside의 항균력 및 세포독성 비교연구

김준섭<sup>1</sup> · 진홍종<sup>2</sup> · 정경환<sup>1,†</sup>

<sup>1</sup>한국교통대학교 생명공학전공, 교수

<sup>2</sup>케이피티 연구소, 소장

(2021년 4월 27일 접수: 2021년 6월 26일 수정: 2021년 6월 28일 채택)

### Comparative Study of Antimicrobial and Cytotoxic Effects of 1, 2-Octanediol and 1, 2-Octanediol Galactoside

Jun-Sub Kim<sup>1</sup> · Hong-Jong Jin<sup>2</sup> · Kyung-Hwan Jung<sup>1,†</sup>

<sup>1</sup>*Department of Biotechnology, Korea National University of Transportation,  
Jeungpyung, Chungbuk 27909, Republic of Korea*

<sup>2</sup>*KPT Co., LTD, Osong-Eup, Heungdeok-Gu, Cheongju  
Chungbuk 28162, Republic of Korea*

(Received April 27, 2021; Revised June 26, 2021; Accepted June 28, 2021)

**요 약** : 안전성이 강화된 화장품용 방부제 소재를 개발하기 위하여, 대장균  $\beta$ -gal을 이용하여 OD로부터 합성된 OD-gal의 성능을 기존의 OD와 비교하는 연구를 수행하였다. 먼저, mass spectrometry 분석을 통하여 OD-gal의 sodium adduct ion ( $m/z=331.1731$ )과 protonated ion ( $m/z=309.1926$ )으로 OD-gal 합성을 확인하였다. 새롭게 합성된 OD-gal과 OD의 항균력 비교를 위하여 *E. coli*, *S. aureus*, *C. albicans*, *A. niger*에 대한 MIC 값을 측정하였다. 그 결과, OD-gal과 OD의 MIC 값 사이에 그렇게 큰 차이를 관찰할 수 없었다. 또한, OD-gal과 OD의 세포독성을 비교하기 위하여, HaCaT 세포에 OD 또는 OD-gal을 처리한 후, 세포 생존율을 EZ-Cytox assay를 이용하여 정량 하였다. 1.5% OD의 경우에는 24 시간에서 세포생존율이 대조군과 비교하여 64%, 48 시간에서는 42%로 나타났고, 1.5% OD-gal을 처리한 세포의 세포생존율은 24 시간에서 유의적인 변화가 없었지만, 48 시간에서는 85%로 나타났다. 결국 OD-gal은 OD와 비교해서 약 40% 이상의 세포독성 감소효과가 있는 것으로 확인되었다. 이러한 결과로부터 OD에 한 분자의 galactose를 결합시킴으로 인하여 항균력은 어느 정도 유지하면서 피부 세포에 대한 독성이 감소된 OD-gal의 특성을 확인할 수 있었다. 앞으로 후속 연구를 진행하여 보다 안전한 화장품용 방부제 소재로서 OD-gal의 실용화 기반을 구축할 예정이다.

**주제어** : 1, 2-옥탄디올 갈락토사이드, 베타-갈락토시테이즈, 화장품용 방부제, 최소억제농도, 세포독성

---

<sup>†</sup>Corresponding author  
(E-mail: khjung@ut.ac.kr)

**Abstract :** To develop a safer cosmetic preservative, we carried out a comparative study on characteristics of OD and OD-gal, where OD-gal was synthesized from OD using *E. coli*  $\beta$ -gal. OD-gal synthesis was confirmed by mass spectrometry analysis as sodium adduct ion ( $m/z=331.1731$ ) and protonated ion ( $m/z=309.1926$ ) of OD-gal. To compare the antimicrobial activities of OD and newly synthesized OD-gal, MIC values were investigated using *E. coli*, *S. aureus*, *C. albicans*, and *A. niger*. As a result, it was observed that there was no remarkable difference between MIC values of OD and OD-gal. In addition, to compare the cytotoxicity of OD-gal and OD, HaCaT cells were treated with OD or OD-gal, and then cell viability was quantified using EZ-Cytox assay. In the case of 1.5% OD, the cell viability was 64% at 24 h and 42% at 48 h compared to the control, and cell viability of 1.5% OD-gal-treated cells showed no significant change at 24 h and was 85% at 48 h. Consequently, the cytotoxicity of OD-gal-treated cells was reduced by more than 40% when compared with that of OD-treated cells. Thus, the newly synthesized OD-gal in this study is safer than the existing OD used as a cosmetic additive. In the future, OD-gal will be applicable as a substitute for OD as a less toxic preservative for the cosmetic industry.

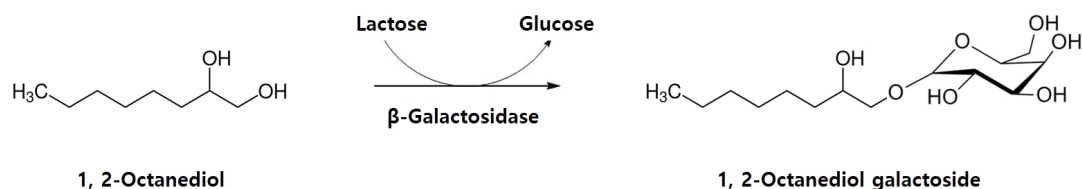
**Keywords :** 1, 2-Octanediol galactoside,  $\beta$ -Galactosidase, Cosmetic preservative, Minimum inhibitory concentration, Cytotoxicity

## 1. 서론

1, 2-Octanediol (Molecular formula:  $C_8H_{18}O_2$ , CAS number: 1117-86-8, 일명 Caprylyl glycol)은 항균력과 보습력을 가지고 있는 비교적 안전한 화장품용 첨가제로 광범위하게 사용되고 있다[1]. 그러나, 최근 1, 2-octanediol (OD) 사용으로 인한 피부 문제점이 몇몇 문헌에 보고되고 있다[2,3,4]. 본 연구팀은 다양한 화장품 방부제의 hydroxyl group (-OH)에 galactose 한 분자를 결합시켜서, 방부제가 가지고 있는 여러 문제들을 해결해 왔고, 이 전략을 OD에도 적용시켜보았다. 이미 OD로부터 1, 2-octanediol galactoside (OD-gal)가 대장균의  $\beta$ -galactosidase ( $\beta$ -gal)를 이용하여 transgalactosylation 반응에 의하여 합성된다는 연구 결과를 thin-layer chromatography (TLC), mass spectrometry, 그리고 NMR spectroscopy 분석 등을 이용하여 확인하였다(Fig. 1)[5]. 이러한 결과는 화장품용 방부제로 쓰이는 chlorphenesin (CPN) [6,7], phenoxyethanol (PE) [8,9], 1, 2-hexanediol (HD) [10,11], 그리고 phenylethanol (PhE) [12,13]의 galactoside

유도체가 합성되었던 원리와 같은 것이라 할 수 있다. 특히, 합성된 유도체인 chlorphenesin galactoside (CPN-gal) [6], phenoxyethanol galactoside (PE-gal) [8], 1, 2-hexanediol galactoside (HD-gal) [14]의 경우, 인간 피부세포에 대한 독성이 CPN, PE, HD 보다 감소되는 것으로 확인되어, 이러한 galactoside 유도체를 합성하여 보다 안전한 화장품용 방부제로서 사용하려는 전략이 가능할 수 있다는 확인할 수 있었다.

본 연구에서는 OD로부터 합성된 OD-gal의 항균력(minimum inhibitory concentration, MIC)과 인간 피부세포 (HaCaT cell, human keratinocyte cell)에 대한 세포독성 연구를 합성된 물질인 OD와 비교 분석하였다. Galactose 한 분자가 OD에 결합함으로써 OD-gal 분자의 항균력과 피부세포에 대한 독성에 어떠한 영향을 미치는지를 분석하였고, 이러한 결과를 바탕으로 OD-gal의 화장품 소재로서 성능을 평가하였다. 앞으로, 이러한 결과를 기반으로 실용화를 향한 대량생산 및 정제 등 산업화를 위한 연구를 수행할 계획을 가지고 있다.

Fig. 1. Enzymatic synthesis of OD-gal using  $\beta$ -gal.

## 2. 실험방법

### 2.1. 시약

1, 2-Octanediol은 Sigma-Aldrich (St Louis, MO, USA)에서 구입하였고, TLC (thin-layer chromatography) plate는 MACHEREY-NAGEL GmbH & Co. KG (Düren, Germany)의 precoated plates SIL HD UV<sub>254</sub> (MN809222)를 사용하였다. OD-gal 정제를 위한 Silica gel은 Zeochem (Uetikon am See, Switzerland)의 ZEOprep 60 (60-200  $\mu\text{m}$ ), MIC 값 측정을 위한 미생물 배지는 BD Difco (Franklin Lakes, NJ, USA) 제품을 사용하였다. 세포독성 실험을 위하여 EZ-CYTOX (DoGenBio, Korea)을 사용하였으며, HaCaT cell 배양 및 관리를 위하여 Gibco 제품을 사용하였다.

### 2.2. $\beta$ -Gal을 생산하는 재조합 대장균과 MIC 측정에 사용된 미생물

$\beta$ -Gal을 발현/생산하는 재조합 대장균의 발현 시스템과 배양방법 등에 대하여서는 선행연구에서 자세히 기술하였다[15]. MIC 측정을 위하여 Gram-negative bacteria인 *Escherichia coli* (*E. coli*) ATCC 25922, Gram-positive bacteria인 *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) ATCC 29213가 사용되었으며, 효모 *Candida albicans* (*C. albicans*) ATCC 10231, 곰팡이 *Aspergillus niger* (*A. niger*) ATCC 9642도 사용되었다.

### 2.3. $\beta$ -Gal 함유 대장균을 이용한 OD-gal 합성 및 정제

OD-gal 합성은 50 mM phosphate buffer (pH 7.0)를 이용하여, 50 ml conical tube에 1% OD, 4.5 U/ml  $\beta$ -gal, 300 g/l lactose를 녹인

후, 전체 반응 부피를 10 ml 되게 하고, shaking incubator (37°C, 100 rpm)에서 48 시간 동안 수행하였다. 그리고, OD-gal 정제는 silica gel chromatography (이동상, ethyl acetate: methanol: distilled water = 17:2:1)를 이용하였으며, OD-gal이 포함된 분획을 모은 후, rotary vacuum evaporator를 이용하여 농축하였다. 기타 정제에 관한 자세한 조건과 방법은 선행연구에 상세히 기술하였다[16,17].

### 2.4. TLC 분석

20 × 10 cm TLC plate에 1.0  $\mu\text{l}$  시료를 loading하고 이동상 (Ethyl acetate: Methanol: Distilled water = 17:2:1 (v/v))으로 전개하였다. 그리고 staining solution (1.5 g  $\text{KMnO}_4$ , 10 g  $\text{K}_2\text{CO}_3$ , 1.25 ml 10% NaOH in 200 ml water)를 TLC plate에 뿌린 후, 80°C oven에서 15 분간 말려서 band를 확인하였다.

### 2.5. Mass spectrometry

질량 분석은 High Resolution ESI-Mass spectrometer (SYNAPT G2, Waters, U.K.)를 사용하여 실시하였다. Ionization source는 ESI (electrospray ionization), analyze type은 time of flight (TOF)이며, 스펙트럼은 positive-ion mode에서 m/z (mass to charge ratio)로 확인하였다.

### 2.6. OD와 OD-gal의 MIC Test

*E. coli*와 *S. aureus*는 nutrient broth에서 배양하여, 흡광도 값(OD<sub>600</sub>, optical density at 600 nm)이 각각 0.016, 0.03 되게 nutrient broth로 희석한다. 그리고, 96-well plate에는 OD과 OD-gal이 농도별로 포함된 nutrient agar medium을 만들어 멸균한 뒤 100  $\mu\text{l}$ 씩 분주하고,

96-well plate의 배지 표면에 희석된 *E. coli*와 *S. aureus* 배양액을 streaking 하여 37°C에서 24 시간 배양하고, colony의 성장 여부를 관찰 확인하였다. *C. albicans*는 YPD medium (yeast extract 10 g/l, peptone 20 g/l, dextrose 20 g/l)에서 배양하여, OD<sub>600</sub>이 0.008 되게 YPD medium로 희석한다. 그리고, 같은 방법으로 96 well plate에 농도별로 OD과 OD-gal이 포함된 YPD agar medium를 준비하고, 96-well plate의 배지 표면에 희석된 *C. albicans* 배양액을 streaking하여 37°C에서 24 시간 배양하고, colony의 성장 여부를 관찰 확인하였다. *A. niger*의 경우에는 potato dextrose broth에서 배양하고, 96 well plate에 농도별로 OD과 OD-gal이 포함된 potato dextrose agar medium를 준비한다. 그리고, 96-well plate의 배지 표면에 *A. niger* 배양액을 streaking하여 37°C에서 24 시간 배양하고, 성장 여부를 관찰 확인하였다.

## 2.7. 세포 독성 조사

사람 각질형성 세포주(human keratinocyte cell)인 HaCaT 세포를 10% fetal bovine serum, 1% penicillin-streptomycin이 포함된 배지 (Dulbecco's modified Eagle's medium, DMEM)를 사용하여 37°C, 5% CO<sub>2</sub> 조건에서 배양하였다. 96 well plate에서 배양된 HaCaT 세포에 OD 또는 OD-gal를 농도별로 처리한 후, 24 시간 또는 48 시간 동안 배양하였다. 대조군을 포함한 각각의 샘플들에 EZ-CYTOX 10 µl씩을 각 well에 첨가한 후, 30 min 동안 CO<sub>2</sub> incubator에서 반응시키고, 450 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때, 대조군을 포함하여 모든 실험군은 3 회 반복하여 대조군의 실험값을 100% 기준으로 하여 상대적인 세포 생존율을 구하였다.

## 3. 결과 및 고찰

### 3.1. Mass spectrometry 이용한 OD-gal 확인

OD-gal을 합성하여 정제한 후, OD-gal로 생각되는 순수한 물질의 band를 TLC로 확인하였다 [Fig. 2]. 이 물질을 정제된 OD-gal로 추정하고, OD-gal 인지를 확인하기 위하여 mass spectrometry 분석을 실시하였다. 그 결과 Fig. 3과 같이 sodium adduct ion과 protonated ion의

OD-gal로 추정되는 peak를 확인할 수 있었다. Fig. 3A에서는 m/z=331.1731의 sodium adduct ion (C<sub>14</sub>H<sub>28</sub>O<sub>7</sub>Na), Fig. 3B에서는 m/z=309.1926의 protonated ion (C<sub>14</sub>H<sub>29</sub>O<sub>7</sub>) peak가 확인되었는데, 이론적인 sodium adduct ion과 protonated ion의 calculated mass는 331.1733, 309.1913 이기 때문에 mass spectrometry 분석에서 얻은 sodium adduct ion과 protonated ion peak이 OD-gal이라는 것을 확인할 수 있었다.

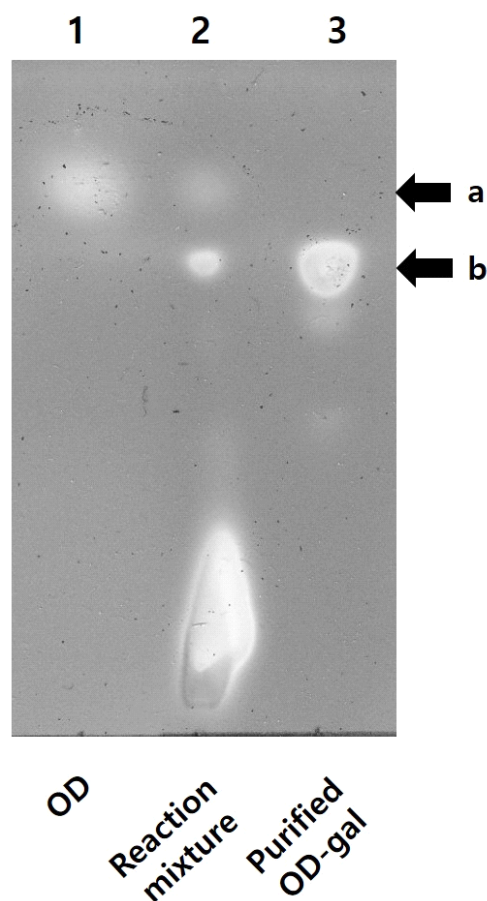


Fig. 2. TLC analysis for OD (lane 1), the reaction mixture (lane 2), and purified OD-gal (lane 3). The reaction mixture was collected at the elapsed time of 48 h. Arrow a and b indicate OD and OD-gal, respectively.

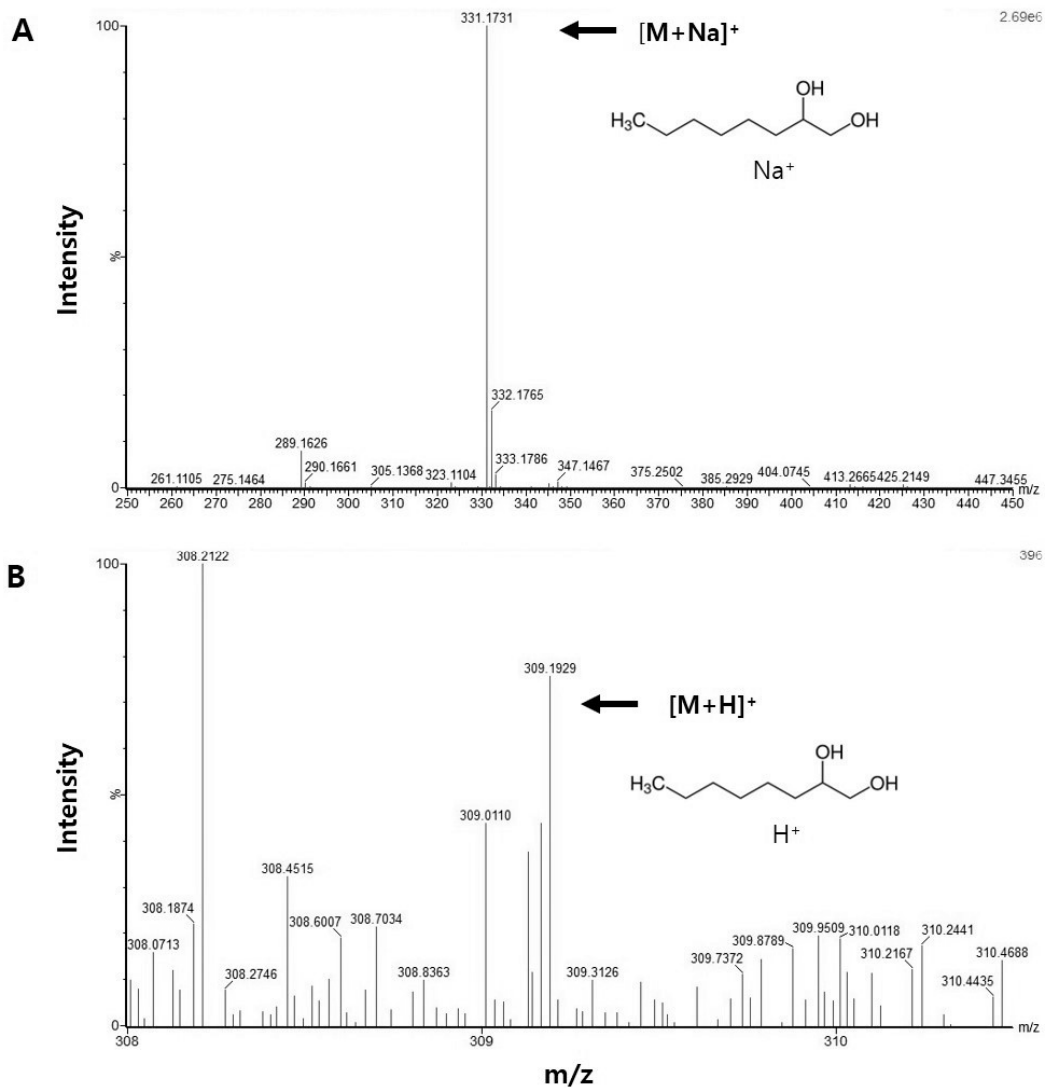


Fig. 3. High-resolution ESI mass spectrometry of purified OD-gal. [M+Na]<sup>+</sup> and [M+H]<sup>+</sup> indicate sodium adduct and protonated ion of OD-gal, respectively. The preferred structures of OD-gal are shown in the mass spectrum.

### 3.2. OD와 OD-gal의 MIC 분석

정제된 OD-gal을 이용하여 OD에 galactose 한분자가 결합되었을 경우 항균력에 어떠한 변화가 오는지를 MIC 측정을 통하여 관찰하였다(Fig. 4). 이 때, 비교를 위하여 OD의 MIC도 같이 측정하였으며, MIC 측정을 위하여 Gram-negative 세균 *E. coli*, Gram-positive 세균 *S. aureus*, 효모 *C. albicans*, 그리고 곰팡이 *A. niger*가 사용

되었다. Fig. 4의 결과에는 이미 발표된 연구 논문 4편에서의 OD에 대한 MIC 값도 같이 비교하기 위하여 표시하였다[2,18,19,20]. 이 연구 논문 4편에서의 OD에 대한 MIC 값은 *E. coli*의 경우 10.9 mM에서 43.1 mM 정도였고, *S. aureus*의 경우 21.2 mM에서 85.5 mM 정도였고, *C. albicans*의 경우 10.3 mM에서 43.1 mM 정도였고, *A. niger*의 경우 4.8 mM에서 10.9

mM 정도였다[2,18,19,20]. 본 연구에서의 측정된 OD의 MIC 값(평균값, n=3)은 *E. coli*에서 42.9 mM, *S. aureus*에서 32.1 mM, *C. albicans*에서 39.2 mM, *A. niger*에서 8.2 mM 정도로 OD에 대한 MIC 값은 이미 발표된 논문 4편의 MIC 값 범위 안에 들었다. 한편, OD-gal의 MIC 값(평균값, n=3)은 *E. coli*에서 50.0 mM, *S. aureus*에서 40.0 mM, *C. albicans*에서 46.6 mM, *A. niger*에서 15 mM 정도로 측정되었다. 그리고, 이미 발표된 4편의 논문과 본 연구에서 측정된 OD의 MIC 값을 본 연구에서 측정된 OD-gal의 MIC 값과 비교하여 보면, OD-gal의 *E. coli*, *C. albicans*, *A. niger*에 대한 MIC 값의 경우에는 발표된 4편의 논문과 본 연구에서의 OD에 대한 MIC 값 보다 약간 큰 MIC 값을 보여 주었고, *S. aureus*의 MIC 값만 발표된 4편의 논문과 본 연구에서의 OD의 MIC 값의 범위 안에 들었다.

MIC 값을 측정할 때 선택한 균주, 배양 조건, 측정 방법 등이 매우 다양하게 쓰이고 있기 때문에 어떤 물질에 대한 MIC 값이 매우 다양하게 보고되고 있다. 그래서, 본 연구에 비교하려고 하는 OD의 MIC 값과 본 연구에서 측정된 MIC 값이 절대적인 값이라고 생각할 수는 없다. 종합하면, 미생물에 대한 OD와 OD-gal의 MIC 값이 유사하거나, OD-gal의 MIC 값이 약 더 크다고 생각할 수는 있을 것 같다. 본 연구팀이 선행연구에서 보고한 CPN-gal, PE-gal와 HD-gal의 MIC 값도 CPN, PE, HD의 MIC 값과 비교할 때, 본 연구의 OD와 OD-gal의 MIC 값을 비교할 때와 같이, CPN-gal, PE-gal, HD-gal에서 약간 큰 MIC 값이 관찰되었다[6,8,21]. 이것은 항균력에 중요한 인자인 hydroxyl group에 galactose 한 분자 결합하여 발생하는 결과라고 생각되며, OD-gal의 경우도 hydroxyl group에 galactose 한 분자가 결합하여 약간의 MIC 값 증가를 초래하였을 것으로 생각되어진다. 그러나, 본 연구 결과에 의하면 OD-gal에 결합한 galactose로 인하여 완전히 OD-gal의 항균력이 소실되지는 않았고, OD의 MIC 값과 그렇게 큰 차이를 보이지 않고 있다. 그 동안 본 연구팀에서 확인한 CPN-gal, PE-gal, HD-gal 처럼, OD-gal도 세균, 효모, 곰팡이 등의 오염원의 성장을 억제하는 방부제로 사용하기에는 큰 문제가 없을 것으로 생각된다.

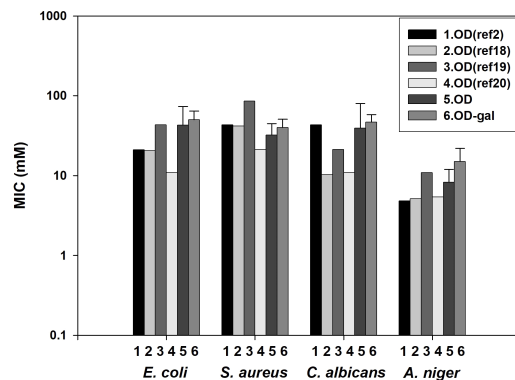


Fig. 4. MICs of OD and OD-gal. 1, 2, 3 and 4 on X-axis indicate MICs of OD (ref2), OD (ref18), OD (ref19) and OD (ref20), respectively. OD (ref2), OD (ref18), OD (ref19) and OD (ref20) mean MIC data from previously published studies [2,18,19,20]. 5 and 6 on X-axis indicate MICs of OD and OD-gal, respectively, in this study. All measurements in this study were performed three times (n=3) using the same sample, and the average and standard deviation were calculated.

### 3.3. OD와 OD-gal의 세포독성 비교

OD와 합성된 OD-gal의 세포독성을 비교 조사하기 위해 사람의 피부 세포주인 HaCaT 세포를 이용하여 세포의 생존을 조사를 실시하였다. 일반적으로 화장품에 함유되는 OD의 권장 사용량은 0.3~1.0% 으로 사용되고 있기 때문에[22], 본 연구에서는 배양된 세포에 0.6%와 1.5%의 농도로 OD와 OD-gal을 각각 처리한 후, 24 시간과 48 시간 동안의 세포 생존율을 대조군과 비교하여 정량 하였다(Fig. 5). 0.6%의 OD와 OD-gal을 처리하였을 때, 24 시간과 48 시간 모두에서 세포독성이 나타나지 않았다. 1.5%의 경우에는 24 시간에서 OD는 세포생존율이 대조군과 비교하여 64%, 48 시간에서 42%로 높은 세포독성을 보였지만, OD-gal은 세포생존율이 24 시간에서는 유의적인 변화가 없는 반면 48 시간에서는 85%로 유의적인 세포독성이 나타났다. 결국, 본 연구에서 새롭게 합성된 OD-gal은 OD와 비교해 약 40% 이상의 세포독성 감소 효과를 나타내기 때문에 화장품 방부제 소재로서

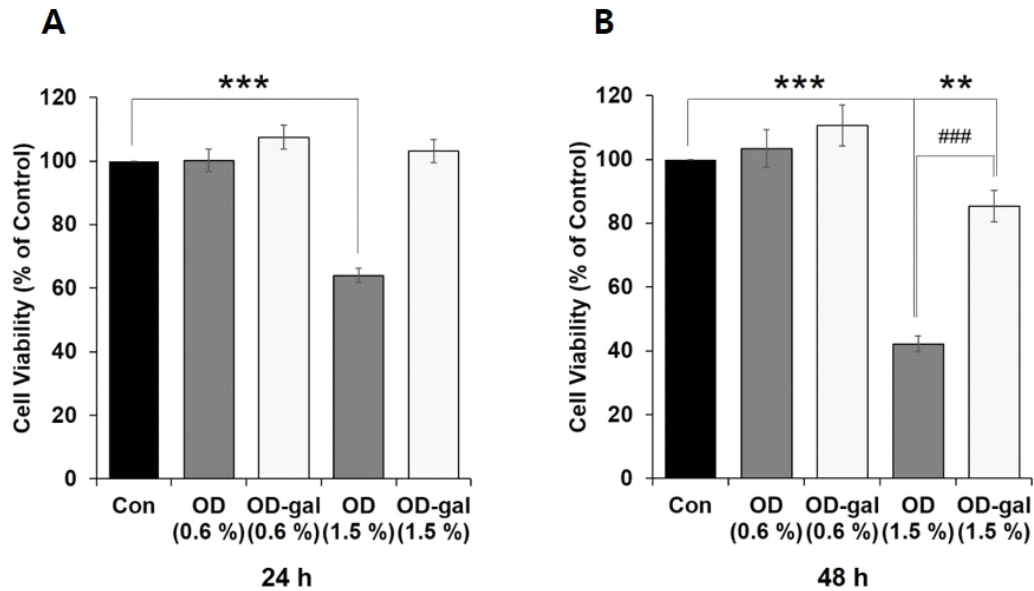


Fig. 5. Cytotoxic effects of OD and OD-gal in HaCaT cells. Cells were treated with the indicated dose of OD or OD-gal for 24 h (A) or 48 h (B) and then cell viability was measured by using EZ-CYTOX assay. The statistical analysis of the data was carried out by use of a t-test, \*\* $p < 0.01$ , \*\*\* $p < 0.001$  compared to controls. ### $p < 0.001$  was compared to 1.5% OD and 1.5% OD-gal treated group. All measurements were performed three times ( $n=3$ ) using the same sample, and the average and standard deviation were calculated.

사용되는 기존의 OD 보다 안전하다고 생각할 수 있다.

파라벤을 포함한 화학 방부제들의 인체 안전성 및 피부에서 발생하는 여러 가지 부작용들로 인하여, 새로운 대체제의 개발이 다양하게 이루어지고 있다[23]. 그 중 1, 2-알칸디올계(1,2-alkanediol) 화합물들이 화장품의 방부효과를 위해 활발히 연구되어지고 있으며[24], 출시되는 제품들에 이미 사용되고 있다. 기존 연구 들에서는 이들 화합물에 대한 사용 허용치가 매우 높고 (5~25%)[25], 이 허용치의 수십 배 농도에서도 별다른 피부 자극이 없음을 보고되었지만[2], 최근 보고된 연구에서는 비교적 낮은 농도에서도 세포독성과 피부 감각성이 나타났기 때문에[26], 화장품소재 사용을 위한 1, 2-알칸디올계의 안전성 및 부작용들에 대한 보다 다양한 검증이 필요해 보인다. 그래서, 본 연구에서는 OD의 안전성 문제에 관하여 관심을 가지고, 이를 극복하기 위

하여 OD에 galactose 한 분자를 결합시킨 OD-gal을 합성하고, 항균력 시험과 HaCaT에 대한 세포독성 연구를 수행한 것이다. 그 결과 OD-gal이 OD의 사용 범위의 농도 안에서 보다 안전하다는 것을 확인하였고, 앞으로 이를 기반으로 보다 안전한 화장품용 방부제의 실용화 연구를 수행할 예정이다.

#### 4. 결론

대장균의  $\beta$ -gal을 이용하여 transgalactosylation 반응으로 합성된 OD-gal을 mass spectrometry로 확인한 후, OD-gal의 미생물에 대한 MIC와 인간 피부세포에 대한 세포독성을 OD와 비교하여 조사하여 보았다. OD-gal과 OD의 MIC 값을 비교하여 보았을 때, OD-gal의 MIC 값이 OD의 MIC 값과 그렇게 큰 차이를 보이지 않았으

며, 또한 OD-gal의 세포독성이 OD에 비하여 약 40% 이상 감소되는 효과를 관찰할 수 있었다. 이러한 결과로부터 항균력은 유지되면서, 독성이 감소된 새로운 화장품용 방부제 소재인 OD-gal의 성능을 확인할 수 있었으며, 앞으로 화장품용 방부제로서 실용화되기를 기대하고 있다.

### 감사의 글

본 연구는 2020년도 교육부의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 지자체-대학 협력기반 지역혁신 사업의 결과입니다. 한국교통대학교 생명공학전공 안승혜, 이혜원, 신재혁, 오승준, 이재혁 학생이 본 연구에 도움을 주었습니다.

### References

1. W. Johnson Jr., W. F. Bergfeld, D. V. Belsito, R. A. Hill, C. D. Klaassen, D. Liebler, J. G. Marks Jr., R. C. Shank, T. J. Slaga, P. W. Snyder, F. A. Andersen, "Safety assessment of 1, 2-glycols as used in cosmetics", *International Journal of Toxicology*, Vol.31(Supplement 2), pp. 147S-168S, (2012).
2. E. Lee, S. An, S. -A. Cho, Y. Yun, J. Han, Y. K. Hwang, H. K. Kim, T. R. Lee, "The influence of alkane chain length on the skin irritation potential of 1, 2-alkanediols", *International Journal of Cosmetic Science*, Vol.33, Vol.5, pp. 421 - 425, (2011).
3. E. Q. Coelho, S. L. C. Wu, R. S. Nunes, V. M. S. Reis, "Contact urticaria following the use of a cosmetic containing caprylyl glycol: A case report", *Contact Dermatitis*, Vol.8, No.4, pp. 308-309, (2019).
4. F. C. Kreeshan, J. D. L. Williams, "Allergic contact dermatitis to caprylyl glycol: A novel para-preservative allergen", *Contact Dermatitis*, Vol.83, No.5, pp. 418 - 419, (2020).
5. H. -Y. Lee, H. -J. Jin, S. H. An, K. -H. Jung, "Confirmation of enzymatic synthesis of 1, 2-octanediol galactoside using mass spectrometry and NMR spectroscopy", *Journal of the Korean Applied Science and Technology*, Vol.38, No.3, pp. 824-831, (2021).
6. S. E. Lee, T. M. Jo, H. -Y. Lee, J. Lee, K. -H. Jung, " $\beta$ -Galactosidase-catalyzed synthesis of galactosyl chlorphenesin and its characterization", *Applied Biochemistry and Biotechnology*, Vol.171, No.6, pp. 1299-1312, (2013).
7. S. E. Lee, H. -Y. Lee, K. -H. Jung, "Production of chlorphenesin galactoside by whole cells of  $\beta$ -galactosidase-containing *Escherichia coli*", *Journal of Microbiology and Biotechnology*, Vol.23, No.6, pp. 826-832, (2013).
8. K. -H. Jung, H. -Y. Lee, "*Escherichia coli*  $\beta$ -galactosidase-catalyzed synthesis of 2-phenoxyethanol galactoside and its characterization", *Bioprocess and Biosystems Engineering*, Vol.38, No.2, pp. 365-372, (2015).
9. H. -Y. Lee, K. -H. Jung, "Enzymatic synthesis of 2-phenoxyethanol galactoside by whole cells of  $\beta$ -galactosidase-containing *Escherichia coli*", *Journal of Microbiology and Biotechnology*, Vol.24, No.9, pp. 1254-1259, (2014).
10. Y. -O. Kim, K. -H. Jung, "Enzymatic synthesis of 1, 2-hexanediol galactoside by whole cells of  $\beta$ -galactosidase-containing recombinant *Escherichia coli*", *Journal of Life Science*, Vol.26, No.5, pp. 608-613, (2016).
11. Y. -O. Kim, H. -Y. Lee, K. -H. Jung, "NMR spectroscopy and mass spectrometry of 1, 2-hexanediol galactoside synthesized using *Escherichia coli*  $\beta$ -galactosidase", *J. Korean Oil Chemists' Society*, Vol.33, No.2, pp. 286-292, (2016).
12. H. -Y. Lee, K. -H. Jung, "NMR Spectroscopy and mass spectrometry of phenylethanol galactoside synthesized using *Escherichia coli*  $\beta$ -galactosidase", *Journal of the Korean Applied Science and*



- Technology*, Vol.37, No.5, pp. 1323–1329, (2020).
13. K. -H. Jung, “Optimal conditions for phenylethanol galactoside synthesis using *Escherichia coli*  $\beta$ -galactosidase”, *Journal of the Korean Applied Science and Technology*, Vol.38, No.1, pp. 99–106, (2021).
  14. J. -S. Kim, K. -H. Jung, “Cytotoxic effects of 1, 2-hexanediol and 1, 2-hexanediol galactoside on HaCaT cell”, *Journal of the Society of Cosmetic Scientists of Korea*, Vol.44, No.3, pp. 343–347, (2018).
  15. K. -H. Jung, “Enhanced enzyme activities of inclusion bodies of recombinant  $\beta$ -galactosidase via the addition of inducer analog after L-arabinose induction in the *araBAD* promoter system of *Escherichia coli*”, *Journal of Microbiology and Biotechnology*, Vol.18, No.3, pp. 434–442, (2008).
  16. K. -H. Jung, “Purifications of phenoxyethanol galactoside and chlorphenesin galactoside using solvent extraction followed by gel chromatography”, *Journal of Oil and Applied Science*, Vol.34, No.4, pp. 954–961, (2017).
  17. Y. -O. Kim, K. -H. Jung, “ $\beta$ -Galactosidase-catalyzed synthesis of 1,2-hexanediol galactoside and its purification using ethyl acetate extraction followed by silica gel chromatography”, *Journal of Korean Oil Chemists’ Society*, Vol.33 No.3, pp. 498–506, (2016).
  18. I. K. Yoo, J. I. Kim, Y. K. Kang, “Conformational preferences and antimicrobial activities of alkanediols”, *Computational and Theoretical Chemistry*, Vol.1064, pp. 15–24, (2015).
  19. R. Pillai, G. Schmaus, A. Pfeiffer, S. Lange, A. Trunet, “1, 2-Alkanediols for cosmetic preservation”, *Cosmetics and toiletries*, Vol.123, No.10, pp. 53–64, (2008).
  20. W. -G. Cho, Y. -J. Cho, “Effects of various polyols on antiseptic system in emulsions”, *Journal of Korean Oil Chemists’ Society*, Vol.25, No.4, pp. 477–484, (2008).
  21. Y. -O. Kim, K. -H. Jung, “Water-holding capacity and antimicrobial activity of 1, 2-hexanediol galactoside synthesized by  $\beta$ -galactosidase”, *Journal of the Society of Cosmetic Scientists of Korea*, Vol. 43, No. 4, pp. 373–379, (2017).
  22. E. -Y. Choi, “Effect of phenoxyethanol and alkane diol mixture on the anti-microbial activity and antiseptic ability in cosmetics”, *Korean Journal of Aesthetics and Cosmetology*, Vol.13, No.2, pp. 213–220, (2015).
  23. Z. Petric, J. Ruzic, I. Zuntar, “The controversies of parabens—an overview nowadays”, *Acta Pharmaceutica*, Vol.71, No.1, pp. 17–32 (2021).
  24. S. Levy, A. Dulichan, “Safety of a new preservative system containing 1,2-hexanediol and 1,2-octanediol for use in cosmetic products”. *Journal of the American Academy of Dermatology*, Vol.58, pp. 55, (2008).
  25. J. Y. Suh, M. E. Yun, Y. S. Lee, S. H. Xuan, D. S. Park, S. N. Park, “Preservative efficacies according to the composition of 1, 3-butylene glycol and alkane diols in cosmetics”, *Journal of the Society of Cosmetic Scientists of Korea*, Vol.44, No.4, pp. 363–373, (2018).
  26. J. I. Kim, *Study on the challenge test and safety assessments of 1, 2-alkanediols in cosmetics*, Doctoral dissertation, Hannam University, Daejeon, Korea, (2016).