

# 람노리피드의 계면특성 및 액체세정제에서의 기능에 대한 연구

지경엽<sup>†</sup> · 임종주\*

대구한의대학교 바이오산업융합학부, \*동국대학교 서울 공과대학 화공생물공학과  
(2018년 8월 21일 접수, 2018년 9월 4일 심사, 2018년 9월 19일 채택)

## Study on the Surface Activity of Rhamnolipid (RL) and Function of RL in Liquid Detergent

Gyeong-Yup Chi<sup>†</sup> and JongChoo Lim\*

Natural Material Fermentation for Cosmetic Laboratory, Division of Bio-Technology and Convergence, Daegu Haany University,  
Gyeongsan-si, Gyeongsangbuk-do 38610, Korea

\*Dept. of Chemical and Biochemical Eng., Dongguk University-Seoul, Seoul 04620, Korea

(Received August 21, 2018; Revised September 4, 2018; Accepted September 19, 2018)

### 초 록

미생물 발효 생계면활성제인 람노리피드의 계면활성(CMC, 표면장력, 기포력 등)을 측정하였다. 람노리피드는 우수한 표면활성을 나타내었다. 람노리피드가 처방된 세정제도 우수한 표면활성을 나타내었다. 액체세정제의 성능평가 결과 지방산 대비 람노리피드가 사용된 제품의 성능이 미세하게 우수하였다. 그렇지만 기포 프로파일에서는 람노리피드가 처방된 제품의 기포량이 아주 많았으며, 헹굼과정에서 지방산의 억포작용과 같은 헹굼성 보조 작용은 나타나지 않았다. 람노리피드는 생계면활성제로써 주계면활성제 또는 보조계면활성제로써 사용될 수 있을 것이다. 그러나 지방산과 같은 억포제 또는 헹굼 보조 기능은 가지지 않은 것으로 판단된다.

### Abstract

Surface activities including CMC, surface tension, foaming power etc. of the rhamnolipid (RL), a biosurfactant fermented by microorganism were investigated. Both the RL and liquid detergent contained RL showed a good surface activity. For the detergency test, the liquid detergent with RL showed a slightly better performance than that of using a fatty acid. However for the foaming profile, the liquid detergent with RL exhibited a lot of foam volume and the suppression of the rinsing and foaming during rinsing cycles with the RL was not seen. Therefore it can be concluded that RL can be used as a main surfactant or co-surfactant in liquid detergents without functions of foaming suppression or rinse-aid.

**Keywords:** CMC, surface tension, foaming profile, rhamnolipid, liquid detergent

## 1. 서 론

전 세계 계면활성제 시장은 1990년대 초부터 년 50% 이상의 급속한 성장세로 증가하여 왔으며 그 수요는 계속해서 증가하고 있다. Biosurfactant의 경우 제품특성에 따라 화장품, 의약품, 식품, 세제, 펄프 및 제지, 환경정화 등 친환경분야에 적용할 수 있는 분야가 다양하여 그 수요가 크게 증가하고 있는 추세이다[1-2].

‘생물학적 계면활성제’ 또는 ‘생물 계면활성제’는 천연물을 기질로 하여 미생물이나 효소의 작용에 의하여 생성된 양친매성(amphiphilic) 화합물로 정의된다. 통상적으로 생물학적 계면활성제는 이들이 갖는

친수기의 종류에 따라 당지질계, 아실펩타이드계, 지방산계, 고분자계로 분류된다[3].

람노리피드(rhamnolipids ; RL)는 다양한 박테리아 중에 의해 생성된 계면-활성 당지질이다. RL은 하나의 (단일 람노실리피드(monorhamnolipids) 또는 단일-람노리피드(mono-rhamnolipids))(Figure (a)) 또는 두 개의 람노오즈(rhamnose) 단위체(디람노실리피드 또는 디-람노리피드)와 하나 또는 두 개의 (주로 두 개의) 3-히드록시 지방산 잔기로 구성된다. 람노리피드는 예를 들어 강한 발포 능력과 같은 특별한 계면-활성 특성을 가지며, 특히 계면활성제로, 매우 다양한 기술적 응용 분야에 사용된다[4].

네오팜 등 여러 연구기관에서 다양한 균주를 이용한 람노리피드의 제조방법 및 정제 방법에 대해 언급하고 있다[3-9]. 전남대학교를 비롯한 많은 연구기관에서 람노리피드 생산 및 진딧물 방제제 및 살충 및 살균 효과, 적조방지 방법, 바이오필름 억제 방법, 항균효과 및 살균제 효과 등에 대해 언급하고 있다[10-18].

엘지화학, 아모레, 애경 및 라이온 등 많은 회사에서 세정제 조성물

<sup>†</sup> Corresponding Author: Daegu Haany University,  
Natural Material Fermentation for Cosmetic Laboratory, Division of  
Bio-Technology and Convergence, Gyeongsan-si, Gyeongsangbuk-do 38610,  
Korea  
Tel: +82-53-819-7741 e-mail: chigy0918@gmail.com

에 지방산을 행균성 개선제 또는 억포제로 사용하고 있다[19-25].

지방산은 합성 계면활성제가 대량으로 생산되기 이전에는 가장 중요한 음이온 계면활성제로써 사용되었다. 합성 계면활성제가 사용되면서 거품발생의 양호함은 만족할 만한 수준이었으나, 세탁기 세탁에서는 행균성이 빠를 필요성이 중요한 인자가 되었다. 최근 지방산은 분말세제와 액체세제에서의 계면활성제 조합 성분으로 이용되면서 억포제 및 행균제의 기능을 한다[26,27].

본 연구에 사용되는 추출물은 슈도모나스 에어루지노사(KACC 10186)균의 배양액 추출물 중 기존에 알려져 있던 물질 람노리피드(Rhamnolipids) 이외에 DOD (7,10-dihydroxy-8(E)-octadecenoic acid)가 존재한다. 람노리피드(Rhamnolipids)는 Figure (a)로 표시되며 DOD (7,10-dihydroxy-8(E)- octa- decenoic acid)는 Figure (b)로 표시된다.

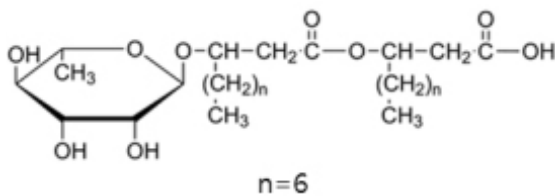


Figure (a)

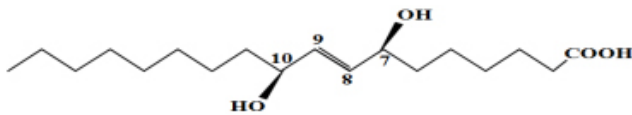


Figure (b)

람노리피드는 분자 구조 내에 카복실산을 가지고 있어서 일부 지방산과 유사한 기능을 나타낼 것으로 보여지므로 일반적으로 사용되는 액체 세정제에서 지방산의 대체 가능성도 검토가 필요하다.

따라서 본 연구에서는 람노리피드의 계면-활성 특성과 액체 세정제에서 지방산에 대응하는 기능에 대한 특성을 점검하여 세제용 원료로서의 가능성을 보고자 한다.

## 2. 실험재료 및 방법

### 2.1. 실험재료

#### 2.1.1. 람노리피드

람노리피드는 그린아그로텍(주)의 실험실에서 합성한 원료를 사용하였다.

(1) 람노리피드와 DOD를 동시에 함유하는 물질의 제조법

슈도모나스 에어루지노사 KACC 10186 균주의 배양

슈도모나스 에어루지노사 KACC 10186 균주를 이용하여 식물성오일을 기질로 모노람노리피드 및 다이하이드록시지방산을 공동생산하기 위하여, 다음과 같은 배양조건으로 생산하였다.

슈도모나스 에어루지노사 KACC 10186 균주를 M-NB 배지(0.7% 글리세롤, 0.1% 육추출물(beef extract), 0.2% 효모 추출물, 0.5% 펩톤, 0.5% NaCl, 0.02% MgSO<sub>4</sub>)에서 30 °C 조건하에 배양하였다.

M-NB 배지에서 24 h 배양한 KACC 10186 균주 배양액에 기질로서 1% 올리브유를 첨가하고 추가적으로 배양한 후 종료하였다. 배양

종료 후 동량의 에틸아세테이트를 첨가하여 상층액을 추출한 뒤 추출물을 회전증발기를 사용하여 농축하였다. 상기와 같은 과정을 통해 수득된 조추출물에는 항균활성소재인 7,10-다이하이드록시-8(E)-옥타데세노산(7,10-dihydroxy-8(E)-octadecenoic acid, DOD) 및 모노람노리피드가 포함된다.

#### (2) 조추출물의 부분정제(산성화 방법)

농축한 조추출물을 증류수와 1 : 5의 비율로 섞은 다음 5 N HCl를 첨가하여 용액의 pH를 2-4로 만들어준 후 4 °C에서 24 h 보관하여 침전하였다. 침전물과 상층액을 분리한 후 핵산을 침전물과 혼합하여 람노리피드를 추출한 후 회전증발기를 이용하여 농축하였다. 이후 동결건조를 이용해 시료를 분말화하여 실험을 진행하였다.

#### 2.1.2. 계면활성제

생활용품과 화장품 업계에서 상업용으로 사용하는 원료를 사용하였으며, 처방의 함량 기준은 중량% 기준으로 활성분을 기준으로 하였다.

LAS, LA9은 AK캠텍(주)의 상업용 원료, myristic acid는 인도네시아 sinamas사 원료를 사용하였다. 약호는 다음과 같다. LAS : linear alkyl benzene sulfonate, LA9 : lauryl alcohol ethoxylate (9EO).

#### 2.1.3. Hydrotrope 및 무기염

상업용 원료 및 상업용으로 구입하기 힘든 것은 시약급으로 사용하였다. sodium carbonate는 OCI사, 순도 99%이며, TEA (triethanol Amine)는 금호화학(케미랜드)사의 순도 99%, EDTA-4Na는 BASF사의 순도 99%인 상업용 원료를 사용하고, sodium benzoate, ethylene glycol, KOH 등 기타 원료는 삼전순약 EP급 시약을 사용하였다. 약호는 다음과 같다. TEA : triethanol amine.

## 2.2. 실험 방법

### 2.2.1. 원료 및 세제의 계면활성 특성 측정

계면활성제 수용액의 표면장력은 ring & plate method tensiometer (K100, Kruss, Germany)를 사용하여 측정하였다. 계면활성제의 임계미셀 농도(critical micelle concentration, CMC)는 농도 변화에 따른 표면장력을 측정된 결과로부터 계면활성제 농도를 증가시키기에 따라 더 이상 표면장력이 감소하지 않는 농도를 CMC로 결정하였다. 계면활성제의 밀도와 점도는 밀도계(WBA-505 K.E.M, 일본)와 Brookfield DV-II PRO 디지털 점도계(Stoughton, MA, USA)를 사용하여 측정하였다[28].

### 2.2.2. 액체세정제의 제조방법

실험장치는 교반기, 전자저울, 비이커 등이 사용된다.

세정제 제조공정 : 처방에 계산된 대로 첫째 비이커에 정제수를 계량한다. 다음에 교반기의 임펠러를 회전하면서 수용성이 좋은 하이드로트로프를 먼저 용해한다. 그 다음에 음이온계면활성제를 용해한다. 다음으로는 비이온 및 양쪽성 계면활성제 순으로 용해한다. 용해가 진행되면서 투명상을 확인하면서 산이나 알칼리를 사용하여 pH를 맞춘다. 남은 점도조정제를 사용하여 점도를 조정한다. 마지막으로 제조가 끝나면 물성을 측정한다[29].

### 2.2.3. 세제의 물성 및 성능 측정법

(1) 저온 안정성 CP (cloud point, 운점)의 측정[30]

세정제의 외관이 투명한 제품에 한해서 CP 물성을 측정한다. 각각

**Table 1. Score Board of Foam Profile in Laundry Machine**

세탁조 표면 상태	기포 비율(%)	Score
세탁기 상부 기포 가득, 옷감이 안보인다.	100	5
세탁기 표면에 20% 정도 물이 보인다.	80	4
세탁기 표면에 40% 정도 물이 보인다.	60	3
세탁기 표면에 60% 정도 물이 보인다.	40	2
세탁기 표면에 80% 정도 물이 보인다.	20	1
세탁기 표면에 90% 정도 물이 보인다.	10	0.5

**Table 2. Physical Properties of Rhamnolipid**

surface activity	Results
CMC (wt%)	3.07E-03 (± 0.0001)
Surface Tension (mN/m)	27.03 (± 0.265)
Contact Angle (°)	16.3 (± 1.068)
Foaming Ability <sup>a</sup> (sec)	260
Foam Stability <sup>b</sup> (sec)	134

<sup>a</sup>Time for foam volume to increase up to 160 cm<sup>3</sup> where initial foam was generated at 25 °C with 1 wt% surfactant solution.

<sup>b</sup>Time required to decrease initial foam volume by half where initial foam was generated at 25 °C with 1 wt% surfactant solution.

의 시료가 담긴 테스트 튜브를 저온 서클레이터에 넣은 후 온도를 낮추어 세제의 투명성 변화를 관찰, 투명성이 떨어지는 온도를 시료의 온점으로 정의한다. 온점이 나타나는 온도를 기록한다.

점도는 브룩필드 점도계(Brookfield Engineering Labs. Inc.)를 이용하여 25 °C에서 점도를 측정한다(스핀들은 적당히 골라 사용)

pH는 Orion pH미터로 측정한다. 점도계와 pH미터기는 제조사에 구매 받지 않고 사용할 수도 있다.

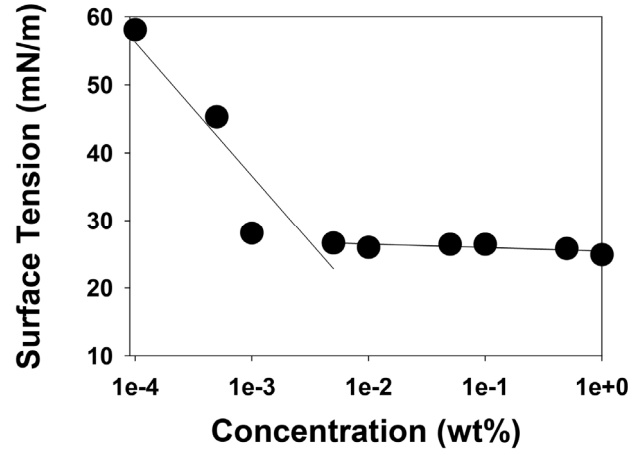
(2) 세척력 평가(TOM)

세탁세제의 기능인 세척은 다음과 같은 조건으로 평가하였다. 세척 기로는 테고터미터(Terg-O-Tometer)를 사용하여, 25 °C에서 10 min 세탁하였다. 세척력 평가에 사용된 오염포는 E116 (blood/milk/ink, CFT, cotton), E117 (blood/milk/ink, CFT, polyester/cotton 혼방), W10D (pigment/sebum, wfk, cotton), W20D (pigment/sebum, wfk, polyester/cotton 혼방) 세척된 오염포는 60 °C 열풍에서 1 h 건조한다. 오염포는 색차계(미놀타 CR-410)를 이용하여 백도를 측정하여 하기식에 계산하고 세척력을 구한다. 오염포는 포트당 5장을 사용하여 그 결과의 평균값으로 하였다[31].

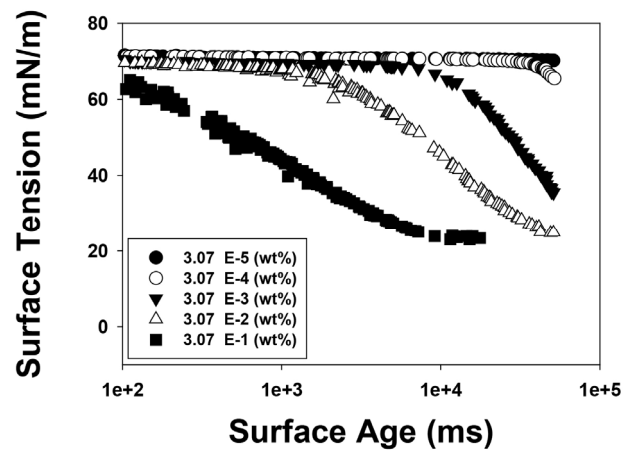
$$\text{세척력(\%)} = \frac{\{(\text{세척후 백도} - \text{세척전 백도}) / (\text{원포의 백도} - \text{세척전 백도})\} \times 100}$$

(3) 세탁기 기포 프로파일

세탁과정 5 min과 10 min, 행균단계에서의 기포 프로파일을 평가하였다. 기포 프로파일의 평가는 기포가 세탁조 표면을 차지하는 표면의 면적을 퍼센트로 측정하였다[32].



(a)



(b)

**Figure 1. Surface tension measurement of surfactant solutions at 25 °C; (a) static surface tension, (b) dynamic Surface tension.**

**3. 결과 및 고찰**

람노리피드 원료의 계면활성을 측정하고, 이를 함유한 액체세정제를 제조하여 세제의 계면활성 측정 및 세제의 기본 특성인 세척력과 행균성을 비교하였다.

**3.1. 람노리피드의 계면활성 측정**

람노리피드의 계면활성 특성은 다음과 같다. CMC는 천분의 1몰농도를 나타내었으며, 표면장력도 27다인으로 계면활성제로써 양호한 계면활성을 가진 것으로 판단된다(Table 2). 일반적으로 음이온 계면활성제는 CMC가 일백분의 1몰농도에서 나타나고 비이온 계면활성제는 천분의 일에서 만분의 일 농도에서 나타난다. 람노리피드는 CMC 관점에서 음이온과 비이온의 중간 정도의 특성을 가진다고 보여진다.

**3.2. 액체세정제의 성능 평가**

액체세정제는 다음의 처방을 기준으로 제조하여 평가하였다. 일반적으로 사용되는 음이온 계면활성제 LAS와 비이온 계면활성제 LA9을 사용하였고, 기준으로 행균성이 양호한 미리스틱산을 지방산으로 사용하였다. 탄소수 12~18 사이의 지방산이 잘 사용될 수 있는데, 그

Table 3. Base Formula and Physical Properties of Liquid Detergent

Ingredients	Formula 1	Formula 2
D. I. Water	적량	
sodium carbonate	1.0	
TEA	1.5	
EDTA-4Na	0.05	
Sodium benzoate	0.3	좌동
Ethylene Glycol	2.0	
KOH	1.9	
LAS	7.0	
LA9	11.0	
Fragrance	0.2	
Myristic acid	2.5	-
RL	-	2.5
pH	9.8	9.88
점도(25 °C, cps)	150	120
CMC (wt%)	$1.30 \times 10^{-2}$	$1.49 \times 10^{-2}$
Surface Tension (mN/m)	$33.44 \pm 0.14$	$33.09 \pm 0.07$
Contact Angle (°)	$13.67 \pm 0.45$	$18.9 \pm 0.78$
Emulsification Index, EI <sup>c</sup> (%)	56.44	56.44
Foaming Ability <sup>a</sup> (sec)	1085.18	1252.23
Foam Stability <sup>b</sup> (sec)	39.04	53.58

<sup>a</sup>Measured at CMC.

<sup>b</sup>Measured with 1wt% cleaning fluid on the glass slide.

<sup>c</sup>Percentage of emulsion height with 5wt% cleaning fluid and hexadecane after 24 h.

<sup>d</sup>Time required to decrease initial foam volume by three quarters where initial foam was generated at 25 °C with 1 wt% cleaning fluid solutions.

<sup>e</sup>Percentage of foam volume decrease during 1,500 sec, initially generated with 1 wt% cleaning fluid concentration.

중에서 단독으로 사용한다면 탄소수 14개인 미리스틱산이 성능이 좋아서 세정제 업계에서 일반적으로 사용됩니다. 미리스틱산은 주 계면활성제의 10~20% 수준인 2.5%를 사용하여 행굼성이 우수하게 나오도록 하였다.

람노리피드가 처방된 액체 세정제는 외관이 진한 갈색을 보인다. 원료 자체의 농도가 진하기 때문이며, 원료 자체의 색상을 개선하는 것도 하나의 과제라고 생각된다.

### 3.2.1. 세정제의 계면활성 측정

제조된 액체 세정제의 계면활성 특성을 측정하였다. 이 실험은 액체 세정제 원액을 100%로 가정하여 진행하였다. 그 이유는 소비자는 액체 세정제 자체를 전체로 보고 사용하기 때문이다.

CMC, 표면장력, 접촉각 등을 측정한 결과 기존 지방산 처방과 람노리피드 처방에 약간의 차이는 있어 보이나, 모두 우수한 특성으로 판단된다(Table 3).

### 3.2.2. 세척력 평가

세척력은 세제업계에서 사용되는 상업용 표준 오염포를 사용하였으며, 수치가 높을수록 세척력이 좋은 것이다. 세척력 평가에서 람노리피드가 포함된 처방이 오차범위에서 미세하게 우세한 것으로 평가되었다(Table 4).

### 3.2.3. 행굼성 평가

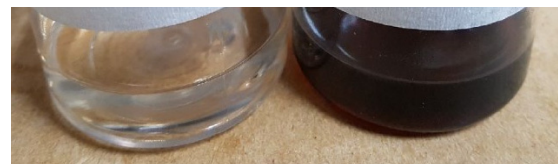
전통적으로 세탁은 손세탁이 주류를 이루다가 세탁기 보급이 되면

Table 4. Detergency of Cleaning Liquid Detergent

Test fabrics	Formula 1	Formula 2
E116 (Related ratio)	31. 100	31.9 103
E117 (Related ratio)	23.3 100	24.1 103
W10D (Related ratio)	34.4 100	36.9 107
W20D	50.	50.1

Table 5. Foam Profile in the Washing and Rinsing of Cleaning Liquid Detergent on Laundry Machine

기포 프로파일 Score	Formula 1	Formula 2
세탁 5 min	3.2	5
세탁 10 min	2.8	5
행굼 1회	0.5	2.5
행굼 2회	0	1.5
행굼 3회	-	1
행굼 4회	-	0.5



(a) (b)

Figure 2. Prepared liquid detergent ; Formula 1(a) and Formula 2(b).

서 손세탁이 거의 사라졌다. 기포는 세정과정에서 세정력이 남아 있다는 증거가 되는 동시에 의류에서 제거된 오염을 감싸고 행굼물로 떨어져 나가는 작용에 의해 세정력에 기여를 한다고 알려져 있다. 한편 세탁기 사용으로 세정제의 기포력은 세탁과정에서는 적당히 발생이 되어야 하고, 행굼과정에서는 쉽게 제거가 되어야 한다. 세제 성분 원료의 발전으로 기포가 없어도 떨어진 오염이 재부착이 안되도록 재부착오염 방지제 역할을 하는 폴리머를 사용하기도 한다. 그럼에도 불구하고 세탁과정에서 기포가 너무 없어도 세정력이 낮은 것으로 오인되기도 한다. 따라서 세탁과정에서는 적당한 기포력이 발생되고 행굼과정에서는 기포가 쉽게 제거되는 것이 세정제의 기포 프로파일에서 중요하다. 처방1의 기포 프로파일은 세탁과정에서 3전후의 적당한 기포를 발생시켰으며, 행굼은 행굼 2회에서 기포가 사라지는 우수한 행굼력을 보였다(Table 5). 따라서 처방1은 세탁기에 사용하기에 적합한 처방이라고 판단된다. 지방산이 억포제로 사용되는 것은 적당한 탄소수를 가져야 한다. C10 이하의 짧은 탄소사슬의 지방산은 액체세정제나 분말세정제 베이스에 계면활성제 대비 10~20% 정도 사용되어도 억포 작용을 하지 못한다. 이는 행굼과정에서 불용성 지방산 또는 불용성 염으로 작용되는 지방산 비누의 특성을 발휘하지 못한 때문으로 본다.

람노리피드가 사용된 처방2는 기대와는 달리 세탁이나 행굼과정에서 미리스틱산과 같은 억포 작용을 하지 못하였다(Table 4). 람노리피드 원료에 카복실산기가 포함되어 있으나 일반적인 탄소수 C12~C18

사이에 있는 지방산과는 용해성에서 차이가 나기 때문에 판단된다. J. T. Davies 방식에 의해 HLB를 계산해 본 결과 미리스틱산 K염은 19.9이고, 람노리피드의 K염은 24.1이며, DOD는 21.8이었다. 탄소사슬이 짧은 옥타노익산염은 HLB가 21.8이며, 행굼성이 나쁘다. 이와 비교해 볼 때 본 연구에 사용된 람노리피드의 HLB가 높아서 수용성이 좋기 때문에 행굼과정에서 역포작용이 충분하지 못한 것으로 보여진다. 결국 람노리피드 원료는 용해성이 좋아서 세정력에 도움이 되나 행굼성 개선에는 도움이 되지 않았다. 구조적으로 예측한 지방산과의 유사한 거동은 용해성 차이로 발현되지 않았다.

#### 4. 결 론

미생물 발효 생계면활성제인 람노리피드의 계면활성(CMC, 표면장력, 기포력 등)을 측정하였다. 우수한 표면활성을 나타내었다. 액체 세정제 처방에서 지방산은 역포제로 기능한다. 람노리피드는 분자구조 내에 카복실기를 가지고 있어서, 이러한 기능을 기대하고 지방산과 대체 처방된 액체세정제를 제조하였다. 제조된 액체세정제의 표면활성(CMC, 표면장력, 기포력 등)을 측정하였다. 세정제 내에서도 람노리피드는 우수한 표면활성을 나타내었다. 액체세정제의 성능평가 결과 지방산 대비 람노리피드가 사용된 처방의 성능이 미세하게 우수하였다. 기포 프로파일에서는 람노리피드가 처방된 제품의 기포량이 아주 많았으며, 행굼과정에서 지방산의 역포작용과 같은 행굼성 보조 작용은 나타나지 않았다. 람노리피드는 생계면활성제로써 주계면활성제 또는 보조계면활성제로써 사용될 수 있을 것이다. 그러나 지방산과 같은 역포제 또는 행굼 보조 기능은 가지지 않은 것으로 판단된다.

#### 감 사

람노리피드 원료를 제공해주신 그린아그로텍(주)의 업체상 이사님, 최선희 과장과 손혜란 선임께 감사드립니다.

#### References

1. Y. S. Kang, Theory and Technology of Laundry Detergent, 1st ed. 51-57, Yewonsa, Korea (2005).
2. D. K. Santos, R. D. Rufino, J. M. Luna, V. A. Santos, and L. A. Sarubbo, Biosurfactants: Multifunctional biomolecules of the 21st century, *Int. J. Mol. Sci.*, **17**(3), 401 (2016).
3. M. J. Lee, B. D. Park, S. T. Lee, and M. G. Kim, New *Tetragenococcus koreensis* producing rhamnolipid and production method of rhamnolipid using this *Tetragenococcus koreensis*, Korean Patent, 2007-0027151 (2005).
4. L. Nataforeun and D. Danny, Preparation of rhamnolipid composition, Korean Patent, 2017-0102903 (2016).
5. J. Y. Kong, Rhamnolipid emulsifier produced by marine bacteria *Pseudomonas aeruginosa* BYK-2 and the purification method, Korean Patent, 10-0018783 (2004).
6. M. S. Chae, Antibiotic having antibiotic activity which produced by *Pseudomonas aeruginosa* B5 and production method, Korean Patent, 10-0038285 (1999).
7. H. Y. Kim, Co-production of rhamnolipid and fatty acid from natural plant oil by *Pseudomonas aeruginosa* KACC 10186, Korean Patent, 10-2016-0077818 (2014).
8. M. A. Diaz De Rieno, I. D. Kamalanathan, and P. J. Martin,

Comparative study of the production of rhamnolipid biosurfactants by *B. thailandensis* E264 and *P. aeruginosa* ATCC 9027 using foam fraction, *Process Biochem.*, **51**, 820-821 (2016).

9. K. M. Lee, S. H. Hwang, S. D. Ha, J. H. Jang, D. J. Lim, and J. Y. Kong, Rhamnolipid production in batch and fed-batch fermentation using *Pseudomonas aeruginosa* BY1, *Biotechnol. Bioprocess Eng.*, **9**(4), 267-273 (2004).
10. E. G. Kim, Red tide prevention method using rhamnolipid, Korean Patent, 10-0384284 (2000).
11. I. S. Kim, D. H. Chae, and S. G. Kim, *Pseudomonas* sp. EP-3 producing rhamnolipid and aphid prevention method using the microorganism, Korean Patent, 10-0940231 (2009).
12. I. S. Kim and R. H. Kim, Composition contained rhamnolipid which preventing biofilm forming and method suppressing biofilm forming, Korean Patent, 10-1651170 (2014).
13. B. K. hwang, B. S. Kim, and S. S. Moon, Preparation method of antibiotic produced by *Pseudomonas aeruginosa* B5 which having new antibiotic activity, Korean Patent, 10-2001-0038285 (1999).
14. S. H. Choi and G. I. Park, Composition containing *Pseudomonas aeruginosa* culture fluid extract having antibody and biocide effect and their use, Korean Patent, 10-1633888 (2014).
15. L. Magalhaes and M. Nitschke, Antimicrobial activity of rhamnolipids against *Listeria monocytogenes* and their synergistic interaction with nisin, *Food Control*, **29**, 138-142 (2013).
16. D. H. Dusane, Y. V. Nancharaiiah, S. S. Zinjarde, and V. P. Venugopalan, Rhamnolipid mediated disruption of marine *Bacillus pumilus* biofilms, *Colloids Surf. B*, **81**, 242-248 (2010).
17. S. P. Denyer and J. Y. Maillard, Cellular impermeability and uptake of biocides and antibiotics in Gram-negative bacteria, *J. Appl. Microbiol.*, **92**, 35S-45S (2002).
18. K. DeSanto, Rhamnolipid-based formulations, US Patents, US 8,183,198 B2 (2012).
19. C. W. Lee, Light-duty liquid detergent minimizing the damage of fabric and skin, Korean Patent, 1997-0002048 (1994).
20. G. H. Jang, C. S. Kang, and J. H. Kim, Transparent body cleanser composition, Korean Patent, 1999-0066544 (1998).
21. G. H. Cho, S. Y. Lee, and W. H. Maeng, Detergent composition which is good solubility and rinsing, Korean Patent, 10-0458234 (2002).
22. I. S. Cho, G. Y. Chi, H. S. Kim, G. C. Nam, and G. J. Lee, Liquid detergent composition which is for permeability and repellent materials, Korean Patent, 10-2010-0042803 (2008).
23. H. Yosiyuki, O. Hirotsuku, H. Misa, S. Hiroaki, and T. Takesi, Liquid detergent composition which is for detergency and fabric products, Korean Patent, 10-2014-0078664 (2012).
24. M. Mitsutosi and T. Hatsuki, Liquid detergent composition, Korean Patent, 10-1876272 (2013).
25. N. Junko and T. Tosihiko, Granule detergent and detergent product, Korean Patent, 10-2017-0061657 (2015).
26. Y. S. Kang, K. Y. Gyeong, M.J. Rang, D. H. Bae, Y. G. Lee, W. G. Cho, S. K. Choi, and S. G. Han, Cosmetic and Household Science 2, 1st ed. 163, Sinkwang Publisher, Korea (2008).
27. H. Yosiyuki, O. Hirotsuku, H. Misa, S. Hiroaki, and T. Takesi, Liquid detergent composition which is for detergency and fabric products, Korean Patent, 10-2014-0078664 (2012).
28. S. Lee, B. J. Kim, J. G. Lee, and J. C. Lim, Synthesis and characterization of interfacial properties of sorbitan laurate surfactant, *Appl. Chem. Eng.*, **22**(1), 37-44 (2010).

29. G. Y. Chi, Study of hydrotrope action and liquid crystal behavior of concentrated liquid detergents, *Appl. Chem. Eng.*, **27**(5), 516-520 (2016).
30. K. I. Jung, Y. S. Kang, and S. H. Roh, Dishwashing concentrated detergent composition, Korean Patent, 10-0203732 (1999).
31. H. Park and S. M. Baek, Powder detergent composition and preparation method, Korean Patent, 10-2013-001535.
32. I. S. Cho and G. Y. Chi, Polypropyleneoxide type cationic surfactant, the method thereof and detergent composition comprising it, Korean Patent, 10-2011-0051444 (2009).