

락톤형 소포로리피드의 물리화학적 특성 및 항균효과

조수아 · 엄경태* · 진병석†

동덕여자대학교 화학·화장품학부, *한국화학연구원 바이오화학연구센터
(2019년 3월 16일 접수, 2019년 3월 22일 심사, 2019년 3월 28일 채택)

Physico-chemical Properties and Antibacterial Activities of Lactonic Sophorolipid

Soo A Cho, Gyeong Tae Eom*, and Byung Suk Jin†

Division of chemistry and cosmetics, Dongduk Women's University, Seoul 02748, Korea

*Korea Research Center for Industrial Chemical Biotechnology, KRICT, Ulsan 44429, Korea

(Received March 16, 2019; Revised March 22, 2019; Accepted March 28, 2019)

초 록

소포로리피드(sophorolipid)는 *Candida bombicola*에 의해 생산되는 당지질 구조의 생물 계면활성제로, 일반적으로 산성형과 락톤형의 혼합으로 존재한다. 본 연구에서는 소포로리피드 생산균주의 유전자조절과 대사공학적인 방법을 통해 락톤형이 96% 이상으로 존재하는 소포로리피드의 물리화학적 특성, 항균 특성, 세포독성 등을 살펴보았다. 락톤형 소포로리피드를 물에 1 wt%에서 0.001 wt% 농도로 희석시키면 pH가 3.2~4.6 범위의 약산성을 나타내었다. 산-염기 적정 곡선으로부터 락톤형 소포로리피드의 pK_a 값은 대략 4.3으로 측정되었다. 임계 마이셀 농도(CMC)는 10⁻² wt%로, 이때 수용액의 표면장력은 36 mN/m까지 감소하였다. 락톤형 소포로리피드의 항균 활성을 살펴본 결과, *Propionibacterium acnes*에 대하여 1 × 10⁻³ g/mL, *Corynebacterium xerosis*에 대하여 5 × 10⁻³ g/mL의 최소저지농도(MIC) 값을 보였다. MTT assay 실험 결과로부터 락톤형 소포로리피드의 세포독성이 트리클로산보다 10배 더 낮은 것으로 나타났다.

Abstract

Sophorolipid is a biological surfactant of the glycolipid structure produced by *Candida bombicola*, which generally exists as a mixture of acidic and lactonic forms. In this study, we investigated physico-chemical properties, antibacterial activities, and cytotoxicity of the sophorolipid containing more than 96% of the lactonic form, produced by the gene regulation of production strains and application of a metabolic engineering technique. The lactonic sophorolipid showed a weak acidity in the range of pH 3.2~4.6 when diluted in water at the concentrations from 1 to 0.001 wt%. The pK_a value of the lactonic sophorolipid was estimated to be around 4.3 from the acid-base titration curve. The critical micelle concentration (CMC) of the lactonic sophorolipid was 10⁻² wt%, at which the surface tension of aqueous solution was reduced to 36 mN/m. The lactonic sophorolipid showed the minimum inhibitory concentrations (MIC) of 1 × 10⁻³ and 5 × 10⁻³ g/mL against *Propionibacterium acnes* and *Corynebacterium xerosis*, respectively. The MTT (3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-Diphenyltetrazolium Bromide] assay showed that cytotoxicity of the lactonic sophorolipid was ten times lower than that of triclosan.

Keywords: Lactonic sophorolipid, Physico-chemical properties, *P. acnes*, *C. xerosis*, Cytotoxicity

1. 서 론

소포로리피드는 glucose 두 분자가 β-1,2 결합된 이당류인 sophorose와 C16~C18의 hydroxy fatty acid가 결합해서 형성되는 물질로 비병원성 효모인 *Candida bombicola*에 의해 생산되는 천연 생물 계면활성제이다. 소포로리피드는 Gorin 등이 1961년에 17-L-hydroxydecanoic acid의 락톤형과 산성형 sophoroside의 혼합물을 처음 발표된 이후[1],

당지질계 생물 계면활성제의 대표적 물질로 사용되고 있다. 소포로리피드의 특징으로는 독성이 적고 병원성은 없으며 높은 생분해성, 세정력, 향균력, 항산화성, 항암성, 높은 생산성 등이 보고되고 있다 [2-5]. 또한 소포로 리피드는 저 발포성이 필요한 반도체, IT 등의 산업 분야에서 세척용도로 적절히 사용되고 있다. 또 다른 당지질계 생물 계면활성제인 람노리피드(rhamnolipid)는 병원균인 *Pseudomonas aeruginosa*에 의해 생성되는데 반해, 소포로리피드는 비병원성 효모로부터 생산되면서 생산성도 매우 높은 생물 계면활성제로 알려져 있어, 실질적으로 산업에 적용 가능한 경쟁력을 갖춘 소재로 평가되고 있다[6-8].

소포로리피드는 항균활성이 있기 때문에 여드름이나 액취증 등의 치료에 적용이 가능하다. 여드름은 여러 가지 복합적인 이유로 발생

† Corresponding Author: Dongduk Women's University,
Division of chemistry and cosmetics, Seoul 02748, Korea
Tel: +82-2-940-4513 e-mail: bsjin@dongduk.ac.kr

하는데 그중 피부에 상주하는 세균들 중 하나인 여드름 균 (*Propionibacterium acnes*, 이하 *P. acnes*)에 의한 면포(comedone, 모낭 속에 고여 딱딱해진 피지)형성이 기본 병변으로 인식되고 있다. *P. acnes*는 피지 중의 중성 지방을 분해하는 리파아제(lipase)를 분비하여 유리 지방산을 형성하는데, 이 유리 지방산은 모낭을 자극하여 피부에 면포를 형성하게 한다. 또한 피부의 *P. acnes*에 대한 면역반응으로 모낭벽이 파열되면서 모낭 속 피지나 노폐물이 피부 내부로 전파되면서 염증반응이 수반된다[9-11]. 이러한 *P. acnes*의 작용 메커니즘에 따라 피부 각질 제거 및 항균 효과가 있는 살리실산, 레티노익산, 벤조일 퍼옥사이드 등이 여드름 완화에 치료제에 사용되고 있으나 그 효과는 미미한 수준이고, 다량 사용될 경우 피부 과각화, 발적, 홍반 등의 부작용이 나타난다고 보고되고 있다[12,13].

액취증은 겨드랑이 피부에서 악취가 나는 증상으로, 그 악취는 땀샘 중 아포크린 샘의 분비물이 피부 상재균 중 *Corynebacterium xerosis* (이하 *C. xerosis*)에 의해 분해되면서 나는 냄새이다. 액취증은 아직 적절한 치료법이 알려지지 않았지만, 냄새 제거를 위한 데오드란트 제품에는 항균제로 트리클로산이 사용되고 있다. 트리클로산은 1960년대에 스위스에서 개발되어 1972년부터 범용적으로 사용되기 시작하였는데, 트리클로산은 주로 세균의 세포벽과 세포막으로 침투하여 세포에 손상을 일으키고, 단백질이나 핵산의 합성을 방해하여, 다른 항균제에 비해 약 10배 강한 항균력을 나타낸다고 알려져 있다[14-16]. 하지만 트리클로산을 과다 사용 시 간 섬유화나 암을 일으킬 수 있다는 보고가 나온 이후, 2016년 우리나라에서 한차례 큰 파동을 겪으면서 식약처에서 트리클로산을 구강 제품에는 사용을 금지하고 화장품에는 사용량 제한을 두고 있다.

소포로리피드는 미생물 대사의 산물이기 때문에 균주, 배지, 배양조건 등을 달리하면 다양한 구조의 소포로리피드 생산이 가능한데, 그 구조적 차이는 크게 산성형과 락톤형으로 나눌 수 있다. 락톤형은 항균성이나 항암성 등의 특성이 우수해서 비듬방지, 탈취, 정균제, 피부병 치료 등의 다양한 용도에 활용이 가능하기 때문에, 산업계에서 산성형에 비해 락톤형에 더 많은 관심을 갖고 있다[17,18]. 기존에 개발된 소포로리피드는 산성형과 락톤형이 혼합된 형태가 대부분이었지만, 한국화학연구원에서는 생산균주의 유전자 조절과 대사공학적인 방법을 달리하여 락톤형이 96% 이상 거의 단일형태에 가까운 소포로리피드를 개발하게 되었다. 본 연구에서는 새롭게 개발된 락톤형 소포로리피드의 물리화학적 특성을 비롯하여 여드름균, 액취균에 대한 항균활성 및 세포독성 등을 살펴보고, 기존에 쓰이던 항균제와의 효능을 비교 평가하여 항균제로서의 가능성을 살펴보았다.

2. 실험 방법

2.1. 실험 재료

본 연구에서 사용한 소포로리피드(sophorolipid, SL)는 한국화학연구원 바이오화학 실용화센터에서 연구 개발된 제품으로, Figure 1에서와 같이 HPLC 정량 분석을 통하여 lactonic form 함량이 96.1%인 제품을 제공받아 사용하였다. 최소저지농도(minimum inhibitory concentration, MIC) 실험에 사용되는 배지인 RCM (reinforced clostridial medium)과 BHI (brain heart infusion)는 Oxoid사에서, Bacto Agar는 BD사에서 구입하였다. 세균 *P. acnes*와 *C. xerosis*는 한국 미생물 보존센터(KCCM)에서 동결 건조 상태로 분양받아 사용하였다. 세포독성 평가(MTT assay)를 위한 재료인 DMEM (Dulbecco's minimal essential medium)-high glucose는 Welgene사에서, FBS (fetal bovine serum), Peni-

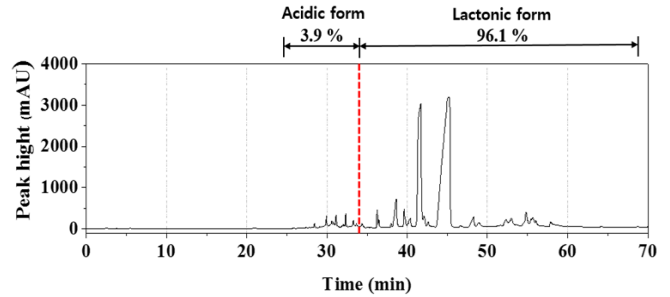


Figure 1. Analysis of the lactonic and acidic forms in sophorolipid by HPLC peak.

cillin-streptomycin solution, DPBS (Dulbecco's phosphate buffered saline), Trypsin EDTA는 Hyclone사에서 각각 구입하였다. 실험에 사용한 섬유아세포는 한국 세포주 은행(KCLB)에서 HS68 (human foreskin fibroblast) 세포주를 분양받아 사용하였다. 소포로리피드와의 비교를 위해 기존에 많이 쓰이고 있는 항균제로 트리클로산(triclosan, Sino Lion사), 살리실산(salicylic acid, Samchun Chemical사)을 사용하였다.

2.2. 물리화학적 특성 분석

pH 측정은 Mettler Toledo사의 seven compact S220 모델과 Viscous Pro-ISM 프로브(probe) 전극을 사용하였다. 소포로리피드 농도에 따른 표면장력 변화는 Wilhelmy plate 형식의 표면장력 측정기(Sigma 703 모델)를 사용하였다. 락톤형 소포로리피드의 pK_a 값은 용액을 염기로 중화 적정하는 과정을 통해서 측정하였다. 소포로리피드를 증류수에 희석하여 1 wt% 용액 100 mL를 만들고, 여기에 0.1 M NaOH를 0.1 mL씩 첨가하면서 pH를 측정하였다. NaOH를 첨가할 때마다 stirrer로 30 s 이상 용액을 섞어주었고, pH는 3번 반복하여 측정하고 평균값을 내었다. pH 곡선을 완성한 후, 그래프의 기울기가 가파르게 변하는 영역의 중간인 변곡점을 화학 양론적 종말점으로 간주하고 종말점에 이를 때까지 첨가된 NaOH 함량(SP)을 확인한다. 종말점에서의 NaOH 함량의 절반(SP/2)에서의 pH 곡선의 y축 값을 소포로리피드의 pK_a 값으로 정하였다.

2.3. 항균성 및 세포독성 실험

항균 효능은 여드름 균(*P. acnes*)과 액취증 균(*C. xerosis*)에 대한 MIC 실험을 통하여 살펴보았고 실험에서의 배지 제조 및 미생물 배양은 식약처의 '미생물 한도 기준 시험방법 가이드라인'을 참고하였다. 동결건조 된 상태로 분양받은 *P. acnes*와 *C. xerosis* 각각에 멸균 증류수 0.5 mL를 가하여 현탁시킨 후, 백금으로 소량 취하여 *P. acnes*는 RCM agar 평판 배지에, *C. xerosis*는 BHI agar 평판 배지에 접종하고 36.5 °C 인큐베이터에서 *P. acnes*는 48 h, *C. xerosis*는 24 h 동안 배양하였다. 두 균을 각각의 고체 평판 배지에 두 번 더 획선 평판법(streak 도말법)으로 계대 배양하여 단일 콜로니를 확인하고, 3번째 계대배양 이후에 단일 콜로니를 백금으로 취하여 각각의 액체 배지에 풀어 액체 상태의 균 배양액을 얻는다. 액체 배지에 배양은 *P. acnes*는 37 °C RCM 배지에서 72~84 h 동안, *C. xerosis*는 30 °C BHI 배지에서 36~48 h 동안 배양한다. 배양된 세균액을 각각의 배지로 희석하여 약 10^6 CFU/mL의 농도로 만든다. 96 well plate의 모든 칸에 희석한 세균 액을 50 μ L씩 분주한다. 세균이 분주된 칸에 각 시료를 농도별로 희석해서 50 μ L씩 추가로 분주한다. *P. acnes*는 72 h 후에, *C. xerosis*는 48 h 후에 600 nm에서 흡광도를 측정하였다. 흡광도 측정은

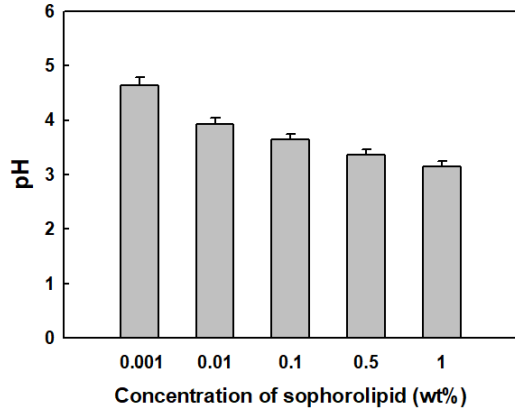


Figure 2. Change in pH of aqueous solution with the concentration of lactonic sophorolipid.

BioTek사의 microplate spectrophotometer (Synergy HT model)을 사용하였다. 두 세균 실험 모두 흡광도가 0.4 이하이면 세균에 대해 시료의 항균력이 발휘되는 것으로 판단하였다.

시료의 세포에 대한 독성 여부를 알아보기 위해 MTT (3-(4, 5-dimethylthiazolyl-2)-2, 5-diphenyltetrazolium bromide) 실험을 다음과 같이 진행하였다. 96 well plate의 모든 칸에 HS68 세포를 5×10^3 개 cell/well의 개수로 100 μ L씩 분주한다. CO₂ 인큐베이터에서 24 h 후 세포가 well의 바닥에 부착되면 배지(DMEM)를 석션하여 제거하고, DPBS 120 μ L로 well을 세척한 후 제거한다. 그 후 실험할 시료를 농도별로 희석하여 100 μ L씩 분주한다. 시료 분주 24 h 후 96 well plate의 모든 칸에 MTT 시약을 추가로 10 μ L씩 처리하고 호일로 감싸 빛을 차단한 뒤 CO₂ 인큐베이터에서 3 h 동안 방치하여 MTT 시약과 살아있는 세포와의 반응을 기다린다. MTT 시약 분주 3 h 후, 시료 희석액을 제거하고 isopropanol을 120 μ L씩 분주하여 곧바로 540 nm에서 흡광도를 찍는다. 대조군(시료 대신 DPBS를 100 μ L 처리한 세포)과의 흡광도 값을 비교하여 세포생존율을 계산한다. 세포생존율 계산식은 다음과 같다.

$$\text{세포생존율} = \frac{OD_{540 \text{ nm, 시료}}}{OD_{540 \text{ nm, 대조군}}} \times 100$$

$OD_{540 \text{ nm, 시료}}$: 시료를 처리한 실험군의 540 nm에서의 흡광도

$OD_{540 \text{ nm, 대조군}}$: DPBS를 처리한 대조군의 540 nm에서의 흡광도

3. 결과 및 고찰

락톤형 소포로리피드를 증류수에 희석하여 pH를 측정해 본 결과를 Figure 2에 나타냈다. 소포로리피드는 물에서 산성을 나타내는 물질로, 1 wt%로 희석했을 때에는 pH 값이 3.2를 나타냈고, 1,000배 희석한 0.001 wt% 농도에서는 pH 값이 4.6을 나타냈다. 락톤형 소포로리피드의 pK_a 값 측정을 위해 락톤형 소포로리피드 희석 용액을 강염기인 수산화나트륨으로 적정해 가면서 pH 변화를 살펴보았다(Figure 3). 락톤형 소포로리피드를 1 wt% 농도로 만들고 여기에 0.1 M 농도의 NaOH를 소량씩 첨가해 나가면, pH가 3.2에서 시작하여 서서히 증가하다가 NaOH 첨가량 1.1 mL와 1.4 mL 사이에서 pH가 5.4에서 9.3으로 급격히 증가하고, 이후의 더 많은 첨가량에 대해서는 pH 변화가

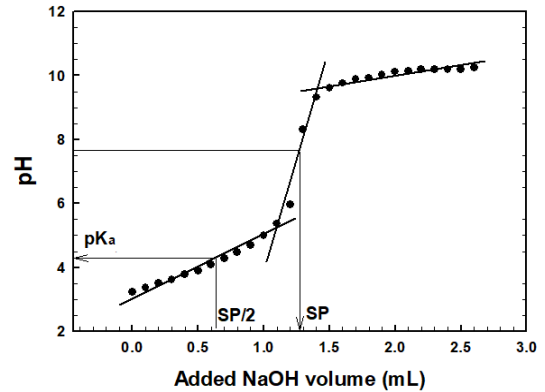


Figure 3. Estimation of pK_a value of the lactonic sophorolipid from the acid-base titration curve.

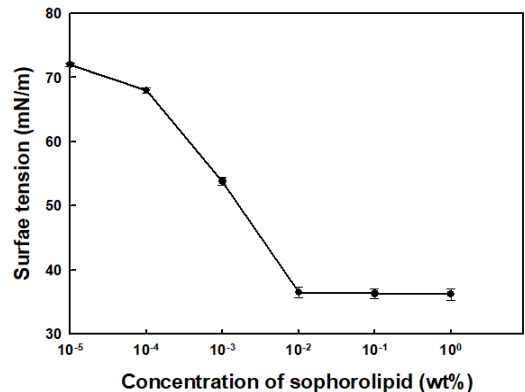


Figure 4. Change in surface tension of aqueous solution with the concentration of lactonic sophorolipid.

크게 나타나지 않았다. 이러한 pH 변화 곡선으로부터 NaOH 첨가량 1.1 mL와 1.4 mL 사이에서 산 염기 적정의 화학양론적 종말점이 나타남을 예측할 수 있었다. 곡선 변화의 변곡점에 해당하는 pH 7.6 근처를 화학양론적 종말점(stoichiometric end point)으로 정하였을 때, 이 종말점에서의 x축 값인 NaOH의 적정량(SP)은 1.28 mL이었다. 화학양론적 종말점에서의 SP 값은 산 용액을 완전 중화하는데 필요한 염기 함량인데, 이 함량의 1/2에 해당하는 양(SP/2)이 첨가되면, 적정 용액에서 산과 염기는 같은 양으로 존재하게 된다. pK_a 값 산출에 Henderson-Hasselbalch 방정식($\text{pH} = \text{pK}_a + \log \frac{[\text{염기}]}{[\text{산}]}$)을 적용했을 때, 적정용액에서 산과 염기가 같은 양으로 존재하면 로그항이 없어지면서 윗 식은 $\text{pH} = \text{pK}_a$ 로 간단히 정리된다. 따라서 락톤형 소포로리피드의 pK_a 값은 SP/2에 해당하는 0.64 mL 값을 pH 곡선에 적용했을 때 얻어지는 y축 값인 4.3으로 구해졌다.

락톤형 소포로리피드의 계면활성능을 알아보기 위해 증류수에 농도별로 희석하여 표면장력을 측정하고 그 결과를 Figure 4에 나타내었다. 순수 물의 표면장력은 73 mN/m이었는데 소포로리피드를 10⁻⁵ wt% 농도로 희석한 결과 72 mN/m의 표면장력을 나타내면서 큰 변화가 없었다. 소포로리피드의 농도를 좀 더 늘려 10⁻⁴ wt% 농도 이상이 되자 표면장력이 크게 감소하기 시작하여 10⁻² wt%로 농도를 늘렸을 때는 36 mN/m까지 표면장력이 감소하였다. 소포로리피드 농도를 10⁻² wt% 이상으로 증가시켰을 때는 표면장력 값은 더 낮아지지 않고 거

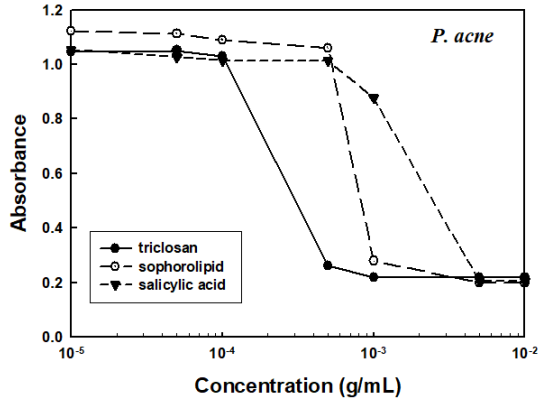


Figure 5. Antibacterial activities of triclosan, lactic sophorolipid, and salicylic acid to *P. acnes*.

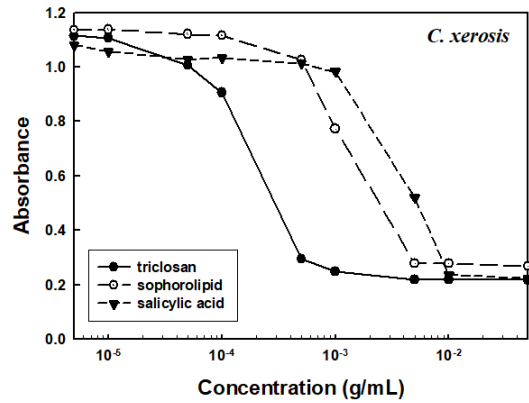


Figure 6. Antibacterial activities of triclosan, lactic sophorolipid, and salicylic acid to *C. xerosis*.

의 변화 없이 일정한 값을 유지하였다. 따라서 본 실험을 통해 소포로 리피드의 임계 마이셀 농도(critical micelle concentration, CMC)는 대략 10^{-2} wt% 근처로 예상된다. 이러한 임계 마이셀 농도 값은 다른 연구진에 의해 보고된 값($0.8 \sim 1.5 \times 10^{-2}$ wt%)과 거의 비슷한 결과를 보였고, 표면장력은 보고된 값(40~48 mN/m)보다 약간 더 낮게 나타났다[19]. 소포로 리피드의 임계 마이셀 농도 값은 에멀전 화장품 제조 시 유화제로서 가장 범용적으로 널리 사용되는 친수 계면활성제인 polysorbate 60 (상품명 Tween 60)의 임계 마이셀 농도(9×10^{-3} wt%)와도 거의 비슷한 수준이다[21]. 또한 일반적인 합성 계면활성제가 물의 표면장력을 73에서 30~35 mN/m 근처로 감소시키는 점을 감안한다면, 생물 계면활성제인 소포로리피드도 거의 동등한 수준의 계면활성 성능을 나타내는 것 같다.

소포로리피드는 여드름 균(*P. acnes*)에 강하게 항균력을 나타낸다고 알려져 있다. 따라서 락톤형으로 개발된 소포로리피드도 여드름 균을 효과적으로 사멸시킬 수 있을 것이라고 판단하여, 화장품이나 의약품 등에 일반적으로 많이 사용되는 항균물질인 트리클로산, 살리실산과 비교하여 MIC 항균 실험을 수행하였다. 락톤형 소포로리피드, 트리클로산, 살리실산을 여드름 균인 *P. acnes*에 대하여 항균 실험을 수행한 결과를 Figure 5에 나타내었다. 실험 결과 *P. acnes*에 대하여 락톤형 소포로리피드는 MIC 값이 1×10^{-3} g/mL로 측정된 반면, 비교 대상 항균제인 트리클로산은 5×10^{-4} g/mL, 살리실산은 5×10^{-3} g/mL로 측정되었다. 즉 락톤형 소포로 리피드는 *P. acnes*에 대하여 트리클로산보다 2배 높은 농도에서 항균 활성을 보이는 반면, 살리실산 보다는 5배 낮은 농도에서 항균 활성을 보이는 것으로 나타났다. 기존에 다른 연구진이 발표한 결과를 참고했을 때[19,20], 여드름 균에 대한 소포로리피드의 최소저지농도 값에서는 차이가 나지만, 트리클로산 대비 소포로리피드의 항균 활성을 비교하면 거의 유사한 결과로 나타났다.

여드름 균 외에 액취균인 *C. xerosis*에 대하여 항균 활성을 알아본 실험 결과를 Figure 6에 나타내었다. 락톤형 소포로리피드는 *C. xerosis*에 대하여 MIC 값이 5×10^{-3} g/mL로 측정되었고 트리클로산은 5×10^{-4} g/mL, 살리실산은 1×10^{-2} g/mL로 측정되었다. 앞서 *P. acnes* 실험 결과와 마찬가지로 락톤형 소포로리피드는 *C. xerosis*에 대하여 트리클로산보다는 10배 정도 높은 농도에서 항균 활성을 보이는 반면, 살리실산보다는 2배 가량 낮은 농도에서 항균 활성을 보이기 시작하였다. 이상의 실험결과를 통하여 락톤형 소포로리피드는 트리클로산 만큼의 강력한 효능은 아니지만, 범용적으로 쓸 수 있을 만큼의 충분

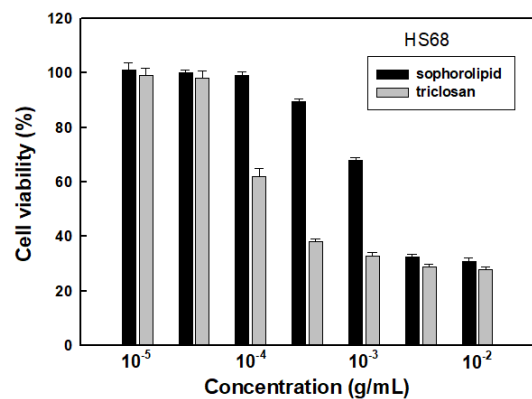


Figure 7. Change of HS68 cell viability according to the concentration of lactic sophorolipid and triclosan.

한 항균력을 지닌 원료 물질로 평가된다.

락톤형 소포로리피드가 항균 효능이 있는 물질인 만큼 세포에 대한 독성도 있을 것으로 판단되어 MTT assay 실험을 수행하였다. 피부 진피에 존재하는 섬유아세포인 HS68를 선택하여 실험을 실시하였고, 락톤형 소포로리피드와 트리클로산, 두 시료의 농도에 따른 세포 생존율 결과를 Figure 7에 나타내었다. 트리클로산은 10^{-4} g/mL의 농도에서부터 세포생존율이 60%대로 급격히 떨어지기 시작하면서 세포 독성을 나타냈다. 이에 반해 락톤형 소포로리피드는 10^{-3} g/mL의 농도로 처리했을 때 트리클로산 10^{-4} g/mL 농도일 때와 비슷한 60%대의 세포생존율을 보였다. 이런 결과로부터 락톤형 소포로리피드가 트리클로산에 비해 세포 독성이 10배 정도 덜 하고 따라서 상대적으로 피부에 안전한 항균제로 사용될 수 있는 소재로 평가된다.

4. 결 론

락톤형 소포로리피드를 물에 희석하면 약산성을 나타내고, 산 염기 적정 실험 결과로부터 pKa 값은 4.3으로 측정되었다. 소포로리피드를 농도별로 물에 희석하여 표면장력 변화를 살펴본 결과, C.M.C는 대략 0.01 wt%로 측정되고 이때의 표면장력은 36 mN/m까지 감소하였다. 락톤형 소포로리피드의 항균활성 실험 결과, *P. acnes*에 대하여 MIC 값이 1×10^{-3} g/mL로 나타났고 *C. xerosis*에 대한 MIC 값은 5×10^{-3} g/mL로 나타났다. 두 항균 실험에서 살리실산보다는 항균력이 높고

트리클로산보다는 낮은 항균활성을 나타내었다. 세포독성 실험 결과, 락톤형 소포로리피드는 트리클로산에 비해 10배 낮은 세포 독성을 나타내었다.

감 사

본 연구는 산업통상자원부의 바이오산업 핵심기술개발사업(과제번호 10080592)의 지원에 의하여 수행된 결과의 일부이며 이에 감사의 뜻을 표합니다.

References

1. P. A. J. Gorin, J. F. T. Spencer, and A. P. Tulloch, Hydroxy fatty acid glycosides of sophorose from *Torulopsis magnoliae*. *Can. J. Chem.*, **39**, 846-855 (1961).
2. I. N. A. Van Bogaert, J. Zhang, and W. Soetaert, Microbial synthesis of sophorolipids, *Process Biochem.*, **46**, 821-833 (2011).
3. Y. Hirata, M. Ryu, Y. Oda, K. Igarashi, A. Nagatsuka, T. Furuta, and M. Sugiura, Novel characteristics of sophorolipids, yeast glycolipid biosurfactants, as biodegradable low-foaming surfactants. *J. Biosci. Bioeng.*, **108**(2), 142-146 (2009).
4. E. J. Gudiña, V. Rangarajan, R. Sen, and L. R. Rodrigues, Potential therapeutic applications of biosurfactants, *Trends Pharmacol. Sci.*, **34**(12), 667-675 (2013).
5. M. R. de Oliveira, A. Magri, C. Baldo, D. Camilios-Neto, T. Minucelli, and M. A. P. C. Celligoi, Sophorolipids A promising biosurfactant and its applications, *Int. J. Adv. Biotechnol. Res.*, **6**(2), 161-174 (2015).
6. D. Develter, M. Renkin, and I. Jacobs, Detergent compositions, *Eur. Patent* 01445302 (2006).
7. R. Marchal, J. Lemal, C. Sulzer, and A. M. Davila, Production of sophorolipid acetate acids from oils or esters, *US Patent* 5,900,366 (1999).
8. T. Furuta, K. Igarashi, and Y. Hirata, Low-forming detergent compositions, *World Patent* 03/002700 (2003).
9. H. Y. Sohn, Y. S. Kim, E. J. Kim, Y. S. Kwon, and K. H. Son, Screening of anti-acne activity of natural products against *Propionibacterium acnes*, *Korean J. Microbiol. Biotechnol.*, **34**, 265-272 (2006).
10. M. H. Ha and S. H. Cho, Beauty effect of *Prunus mume* extract against *Propionibacterium acnes*, *Asian J. Beauty Cosmetol.*, **2**(3), 69-75 (2004).
11. S. M. Choi, M. J. Kim, Y. H. Choi, H. J. Ahn, and Y. P. Yun, Screening of the antibacterial activity of natural products against *Propionibacterium acnes*, *Arch. Pharm. Res.*, **42**(1), 89-94 (1998).
12. E. Mikamia, T. Goto, T. Ohno, H. Matsumoto, and M. Nishid, Simultaneous analysis of dehydroacetic acid, benzoic acid, sorbic acid and salicylic acid in cosmetic products by solid-phase extraction and high-performance liquid chromatography, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **28**(2), 261-267 (2002).
13. J. P. Zhang, Q. X. Chen, K. K. Song, and J. J. Xie, Inhibitory effects of salicylic acid family compounds on the diphenolase activity of mushroom tyrosinase, *Food Chem.*, **95**, 579-584 (2006).
14. D. E. Carey and P. J. McNamara, The impact of triclosan on the spread of antibiotic resistance in the environment, *Front. Microbiol.*, **5**, 1-11 (2015).
15. N. H. Kim, S. J. Mun, A. H. Kim, J. H. Min, J. H. Ahn, W. H. Ha, and B. I. Kim, The antimicrobial and anti-plaque effect of dentifrice containing baking soda and triclosan, *J. Korean Acad. Oral Health*, **35**(1), 10-17 (2011).
16. A. E. Aiell, E. L. Larson, and S. B. Levy, Consumer antibacterial soaps: Effective or just risky? *Clin. Infect. Dis.*, **45**, 137-147 (2007).
17. M. Elshikh, I. Moya-Ramirez, H. Moens, S. Roelants, W. Soetaert, R. Marchant, and I. M. Banat, Rhamnolipids and lactonic sophorolipids: Natural antimicrobial surfactants for oral hygiene, *J. Appl. Microbiol.*, **123**, 1111-1123 (2017).
18. Y. Hu and L. K. Ju, Purification of lactonic sophorolipids by crystallization, *J. Biotechnol.*, **87**, 263-272 (2001).
19. H. S. Kim, Y. B. Kim, B. S. Lee, and E. K. Kim, Sophorolipid production by *Candida bombicola* ATCC 22214 from a corn oil processing byproduct, *J. Microbiol. Biotechnol.*, **15**(1), 55-58 (2005).
20. W. G. Cho, H. S. Park, and B. J. Ahn, Antimicrobial activities of sophorolipids and its application for cosmetics, *J. Soc. Cosmet. Sci. Korea*, **34**(4), 317-323 (2008).
21. B. Farhadieh, Determination of CMC and partial specific volume of polysorbates 20, 60, and 80 from densities of their aqueous solutions, *J. Pharm. Sci.*, **62**(10), 1685-1688 (1973).