

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES  
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum  
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum  
12. Januar 2012 (12.01.2012)

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer  
**WO 2012/004255 A1**

(51) Internationale Patentklassifikation:

**B08B 7/00** (2006.01) **C11D 3/38** (2006.01)  
**C11D 1/00** (2006.01) **C11D 11/00** (2006.01)

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP201 1/061299

(22) Internationales Anmeldedatum:  
5. M i 201 1 (05.07.201 1)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:

61/361.947 7. Juli 2010 (07.07.2010) US  
10168712.7 7. Juli 2010 (07.07.2010) EP

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von US): **BASF SE** [DE/DE]; 67056 Ludwigshafen (DE).

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): **BAUS, Ulf** [DE/DE]; Hallgarten 6, 69221 Dossenheim (DE). **MONTAG, Thorsten** [DE/DE]; Berghauserstr. 13, 67373 Dudenhofen (DE). **BOLLSCHWEILER, Claus** [DE/DE]; Karl-Christ-Str. 13, 691 18 Heidelberg (DE). **SUBKOWSKI, Thomas** [DE/DE]; Wichernstrasse 13, 68526 Ladenburg (DE). **HAAS, Monika** [DE/DE]; Winterstr. 14, 60489 Frankfurt/Main (DE). **HAAK, Ralf** [DE/DE]; Im Rehgarten 5, 55286 Woerstadt (DE).

(74) Anwalt: **JACOBI, Markus**; Isenbruck Bösl Hörschier, Eastsite One, Seckenheimer Landstraße 4, 68163 Mannheim (DE).

(81) Bestimmungsstaaten (soweit nicht anders angegeben, für jede verfügbare nationale Schutzrechtsart): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) Bestimmungsstaaten (soweit nicht anders angegeben, für jede verfügbare regionale Schutzrechtsart): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasisches (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Veröffentlicht:

- mit internationalem Recherchenbericht (Artikel 21 Absatz V
- vor Ablauf der für Änderungen der Ansprüche geltenden Frist; Veröffentlichung wird wiederholt, falls Änderungen eingehen (Regel 48 Absatz 2 Buchstabe h)
- mit dem Sequenzprotokollteil der Beschreibung (Regel 5 Absatz 2 Buchstabe a)



WO 2012/004255 A1

(54) Title: COMPOSITION CONTAINING A HYDROPHOBIN AND METHOD FOR CLEANING HYDROPHOBIC SURFACES

(54) Bezeichnung : ZUSAMMENSETZUNG ENTHALTEND EIN HYDROPHOBIN UND VERFAHREN ZUM REINIGEN VON HYDROPHOBEN OBERFLÄCHEN

(57) Abstract: The invention relates to a method for cleaning surfaces using an aqueous composition containing at least one hydrophobin and a synergistically active, non-surface-active, water-soluble additive. The method is in particular suitable for cleaning hard, hydrophobic, poorly wettable surfaces such as plastic flooring.

(57) Zusammenfassung: Die vorliegende Erfindung betrifft ein Verfahren zur Reinigung von Oberflächen unter Verwendung einer wässrigen Zusammensetzung enthaltend mindestens ein Hydrophobin und ein synergistisch wirkendes, nicht-grenzflächenaktives, wasserlösliches Additiv. Das Verfahren ist insbesondere zum Reinigen von harten, hydrophoben, schlecht benetzbaren Oberflächen, wie z.B. von Kunststoff-Fussböden geeignet.

**ZUSAMMENSETZUNG ENTHALTEND EIN HYDROPHOBIN UND VERFAHREN ZUM REINIGEN VON HYDROPHOBEN OBERFLÄCHEN**

- Die vorliegende Erfindung betrifft ein Verfahren zur Reinigung oder Vorbehandlung von Oberflächen unter Verwendung einer Reinigerformulierung. Sie betrifft auch die
- 5 Reinigerformulierung enthaltend mindestens ein Hydrophobin und mindestens ein synergistisch wirkendes nicht-grenzflächenaktives, wasserlösliches Additiv, das insbesondere in wässriger Lösung in Ionen dissoziiert. Dabei wird insbesondere die Hydrophilie und Benetzbarkeit der Oberfläche für polare Lösemittel, wie Wasser, erhöht. Das Verfahren ist insbesondere zum Reinigen von hydrophoben, schlecht benetzbaren Oberflächen, z.B.
- 10 harten Oberflächen wie Kunststoff-Fußböden, geeignet. Weiterhin betrifft die Erfindung eine chemische Zusammensetzung zum Reinigen von Oberflächen enthaltend mindestens ein Hydrophobin und ein insbesondere synergistisch wirkendes, nicht-grenzflächenaktives, wasserlösliches, bevorzugt in wässriger Lösung in Ionen dissoziierendes Additiv.
- 15 Hydrophobine sind insbesondere kleine, Cystein-reiche Proteine von etwa 100 bis 150 Aminosäuren, welche z. B. in filamentösen Pilzen wie *Schizophyllum commune* vorkommen. Sie weisen in aller Regel 8 Cystein-Einheiten im Molekül auf. Hydrophobine können aus natürlichen Quellen isoliert werden, sie können aber auch mittels gentechnischer Verfahren gewonnen werden, wie beispielsweise in WO 2006/082 251 oder WO 2006/131 564
- 20 offenbart. Im Stand der Technik werden unter anderem die oberflächenaktive und die emulgierende Wirkungen von Hydrophobinen sowie verschiedene Anwendungen für Hydrophobine beschrieben. WO 1996/41882 schlägt die Verwendung von Hydrophobinen als Emulgatoren, Verdicker, oberflächenaktive Substanzen, zum Hydrophilieren hydrophober Oberflächen, zur Verbesserung der Wasserbeständigkeit hydrophiler Substrate, zur
- 25 Herstellung von Öl-in-Wasser-Emulsionen oder von Wasser-in-Öl-Emulsionen vor. Weiterhin werden pharmazeutische Anwendungen wie die Herstellung von Salben oder Cremes sowie kosmetische Anwendungen wie Hautschutz oder die Herstellung von Haarshampoos oder Haarspülungen vorgeschlagen.
- 30 WO 2006/082253 offenbart Formulierungen zur Beschichtung von Oberflächen, z. B. von feinteiligen anorganischen oder organischen Partikeln, mit Hydrophobinen. Dazu werden die wässrigen Hydrophobin-Lösungen auf die zu beschichtende Oberfläche aufgebracht.
- Reinigungsmittel und Pflegemittel für harte und elastische Oberflächen sind dem Fach-
- 35 mann bekannt und enthalten in der Regel eine Mischung von verschiedenen Tensiden, sowie gegebenenfalls weitere waschaktive Zusatzstoffe wie Enzyme, Säuren, Basen, Bleich- und Scheuermittel, welche die reinigende, d.h. den Schmutz (wie Fett, Öl, Kalk) entfernende, Wirkung verstärken. Überwiegend wird Wasser als Lösemittel in Reinigungsmitteln verwendet, das selbst auf Grund seiner polaren Eigenschaften bedeutend zur reinigenden
- 40 Wirkung beiträgt.

Reiniger-Zusammensetzungen bestehen oft aus Mischungen verschiedener Tenside, welche das Lösen von hydrophoben Schmutzteilen (z.B. Fett, Öl) im wässrigen Reinigungsmittel erhöhen. Tenside, welche im Folgenden auch als oberflächenaktive oder grenzflächenaktive Substanzen bezeichnet werden, zeichnen sich dadurch aus, dass sie die Oberflächenspannung einer Flüssigkeit (z.B. Wasser) herabsetzen, in der sie gelöst sind. Dem Fachmann ist eine Vielzahl von anionischen, kationischen, nicht-ionischen und amphoteren Tensiden für die verschiedensten Anwendungen bekannt.

Heutzutage sind für ein Reinigungsmittel neben einer guten Reinigungsleistung auch die toxikologische Unbedenklichkeit sowie im Hinblick auf eine geringe Gewässerbelastung die biologische Abbaubarkeit von besonderer Bedeutung.

Weiterhin ist für die Reinigungswirkung und einen so genannten „Easy-to-clean-Effekt“ die einfache und gleichmäßige Benetzung der zu reinigenden Oberfläche durch das Reinigungs- und/oder Pflegemittel von entscheidender Bedeutung. Als Reinigungs- und/oder Pflegemittel werden aus ökologischen und anwendungs-technischen Gründen in der Regel wässrige Zusammensetzungen eingesetzt. Gerade diese zeigen jedoch naturgemäß ein unzureichendes Netzverhalten auf hydrophoben Oberflächen. Das Benetzungsverhalten kann mittels Tensiden verbessert werden. Tenside weisen allerdings Nachteile in Bezug auf die Dauerhaftigkeit des Effekts und die Neigung zur Wiederanschmutzung auf. Zudem können gängige Tenside zu einer Gewässer-Belastung führen.

Es ist bekannt, harte Oberflächen, wie beispielsweise Glas, Keramik oder Fußböden mit schmutzabweisenden Beschichtungen oder einer Beschichtung zur Erhöhung bzw. zur Erniedrigung der Hydrophilie zu versehen. Diese Ausrüstungen können die Schmutzhaf-tung vermindern und nachfolgende Reinigungen erleichtern. Hierbei kann es sich um permanente Beschichtungen oder aber um einen temporären Schutz handeln. Ein temporärer schmutzabweisender Effekt kann beispielsweise durch Substanzen in einer Reinigerformulierung erreicht werden, welche beim Reinigen der Oberfläche aufgetragen werden. Wesentliche Anwendungsgebiete derartiger Reiniger sind Haushaltsanwendungen, wie Reiniger für den Küchen-, Wohn- oder Sanitärbereich, aber auch industrielle Anwendungen, wie beispielsweise Reiniger für die Autowäsche. EP-A 0 467 472 offenbart eine Zusammensetzung zur Erhöhung der Hydrophilie von harten Oberflächen, beispielsweise Oberflächen im Haushalt, um eine leichtere Reinigung in nachfolgenden Reinigungsschritten zu erreichen. Die Formulierung enthält ein wasserlösliches, ionisches oder nichtionisches Polymer, beispielsweise ein kationisches Polymer mit quaternisierten Ammoniumalkylmethacrylat-Einheiten.

Das Dokument WO 2006/103215 offenbart die Verwendung von Hydrophobinen zur schmutzabweisenden Behandlung von harten Oberflächen, wie beispielsweise die Oberfläche von Fliesen, Fußböden, Armaturen, Waschbecken, Duschwannen, Badwannen, Toilet-

ten, Duschkabinen, Badezimmermöbeln, Möbeln, Spiegeln, Geschirr, Besteck, Gläsern oder Porzellangegegenständen.

5 WO 2006/103230 offenbart die Verwendung von wässrigen Formulierungen von Hydrophobinen zur Oberflächenbehandlung von gehärteten mineralischen Baustoffen, Naturstein, Kunststein und Keramiken, wobei eine schmutzabweisende, hydrophobierende oder konservierende Wirkung erzielt werden kann.

10 Es besteht ein Bedarf an umweltfreundlichen, biologisch nahezu vollständig abbaubaren Reinigern mit guten Benetzungseigenschaften für hydrophobe Oberflächen, die ohne oder mit einer sehr geringen Menge an herkömmlichen Tensiden auskommen und zudem die Reinigungswirkung des Wassers optimal ausnutzen. Aufgabe der vorliegenden Erfindung ist ein umweltfreundliches, effizientes und einfach durchzuführendes Verfahren sowie eine Reinigerformulierung zur Reinigung von insbesondere hydrophoben Oberflächen bereitzustellen, wobei keine weiteren Tenside oder nur eine sehr geringen Menge an herkömmlichen Tensiden eingesetzt werden.

20 Es wurde überraschenderweise gefunden, dass sich insbesondere harte oder elastische, hydrophobe und/oder schlecht benetzbare Oberflächen unter Verwendung einer wässrige Zusammensetzung (Reinigerformulierungen), welche Hydrophobine in Kombination mit wasserlöslichen, nicht grenzflächenaktiven Additiven enthält, mit sehr guten Ergebnissen reinigen lassen. Zudem können harte, schlecht benetzbare Oberflächen mit den oben genannten wässrigen Zusammensetzungen vorbehandelt werden, was die nachfolgende Reinigung erleichtert.

25 Durch die Kombination von mindestens einem Hydrophobin und einem nicht-grenzflächenaktiven, wasserlöslichen, (in wässriger Lösung in Ionen dissoziierenden) Additiv wird die benetzende Wirkung der Reinigerformulierung signifikant gesteigert (insbesondere auch synergistisch). Bei hydrophoben Substraten ermöglicht die erfindungsgemäße Zusammensetzung eine bessere Benetzung und damit eine bessere Reinigung der Oberfläche. Bei weiteren Reinigungen lässt sich der Schmutz besser entfernen und/oder die Menge an zur Reinigung notwendigem Tensid kann deutlich verringert werden.

35 Bei dem erfindungsgemäßen Verfahren unter Verwendung von Hydrophobin-haltigen wässrigen Zusammensetzungen wurde gegenüber rein Tensid-basierten Systemen eine signifikant höhere Permanenz des benetzenden Effektes gefunden.

40 Ein weiterer Vorteil ist, dass der Hydrophilierungs-Effekt, der durch das erfindungsgemäße Verfahren erreicht wird, im Gegensatz zu bekannten Hydrophilierungsmitteln, durch stark alkalische oder saure Lösungen wieder entfernt werden kann.

Die vorliegende Erfindung betrifft ein Verfahren zum Reinigen von hydrophoben, insbesondere harten, hydrophoben Oberflächen, umfassend die Schritte:

- 5 a) Benetzen der Oberfläche mit einer wässrigen Zusammensetzung,  
 b) Aufnehmen der Verschmutzungen mittels geeigneter Mittel,

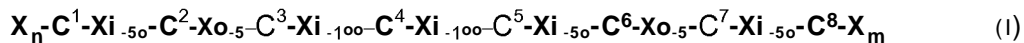
wobei die eingesetzte, wässrige Zusammensetzung mindestens die folgenden Komponenten enthält:

- 10 (i) mindestens ein Lösemittel (L), wobei das Lösemittel häufig mindestens 90 Gew.-%, bevorzugt 95 %, besonders bevorzugt 98 %, Wasser enthält,  
 (ii) mindestens ein Hydrophobin (H),  
 15 (iii) mindestens ein nicht grenzflächenaktives, wasserlösliches Additiv (A),  
 (iv) sowie gegebenenfalls ein Tensid (T).

20 Das Gewichtsverhältnis von Additiv (A) zu Hydrophobin-Komponente (H) beträgt vorzugsweise von 2:1 bis 100:1, häufig auch von 5:1 bis 100:1.

Das Benetzen der Oberfläche kann beispielsweise durch ein gleichmäßiges Aufbringen der Zusammensetzung auf die Oberfläche erfolgen. Das Aufnehmen der Verschmutzungen  
 25 kann dann beispielsweise durch Aufsaugen oder Aufnehmen (z.B. durch Wischtücher oder saugfähige Materialien) erfolgen.

Unter dem Begriff „Hydrophobine“ (H) im Sinne der vorliegenden Erfindung sollen im Folgenden Polypeptide der allgemeinen Strukturformel (I)



verstanden werden, wobei **X** für jede der 20 natürlich vorkommenden Aminosäuren (Phe, Leu, Ser, Tyr, Cys, Trp, Pro, His, Gin, Arg, Ile Met, Thr, Asn, Lys, Val, Ala, Asp, Glu, Gly)  
 35 stehen kann. Dabei können die Reste **X** jeweils gleich oder verschieden sein.

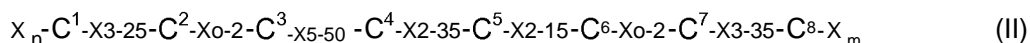
Hierbei stellen die bei **X** stehenden Indizes jeweils die Anzahl der Aminosäuren in der jeweiligen Teilsequenz **X** dar, C steht für Cystein, Alanin, Serin, Glycin, Methionin oder Threonin, wobei mindestens vier der mit C benannten Reste für Cystein stehen, und die  
 40 Indizes n und m stehen unabhängig voneinander für natürliche Zahlen zwischen 0 und 500, bevorzugt zwischen 15 und 300.

Typischerweise bezeichnet jedes  $x$  unabhängig voneinander eine Aminosäure-Sequenz, welche aus Aminosäuren ausgewählt aus den natürlich vorkommenden Aminosäuren (Phe, Leu, Ser, Tyr, Cys, Trp, Pro, His, Gin, Arg, Ile Met, Thr, Asn, Lys, Val, Ala, Asp, Glu, Gly) besteht. Typischerweise bezeichnen die bei jedem  $x$  stehenden numerischen Indizes die Anzahl der Aminosäure-Reste, die im jeweiligen  $x$  enthalten sind, wobei jeder Aminosäure-Rest in jedem  $x$  unabhängig voneinander gleich oder verschieden sein kann von dem (den) benachbarten Aminosäure-Rest(en) in einer Aminosäure-Sequenz  $x$ . Typischerweise steht C für Cystein, Alanin, Serin, Glycin, Methionin oder Threonin, wobei mindestens vier der mit C benannten Reste für Cystein stehen, und die Indizes  $n$  und  $m$  unabhängig voneinander für natürliche Zahlen zwischen 0 und 500, bevorzugt zwischen 15 und 300 stehen und die Anzahl der Aminosäure-Reste enthaltend im entsprechenden  $x$  angeben.

Die Polypeptide gemäß der Formel (I) sind weiterhin durch die Eigenschaft charakterisiert, dass sie bei Raumtemperatur nach Beschichten einer Glasoberfläche eine Vergrößerung des Kontaktwinkels eines Wassertropfens von mindestens  $20^\circ$ , bevorzugt mindestens  $25^\circ$  und besonders bevorzugt  $30^\circ$  bewirken, jeweils verglichen mit dem Kontaktwinkel eines gleich großen Wassertropfens mit der unbeschichteten Glasoberfläche.

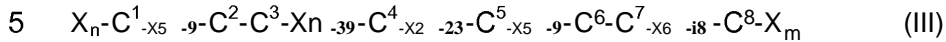
Die mit  $C^1$  bis  $C^8$  benannten Aminosäuren sind bevorzugt Cysteine. Sie können aber auch durch andere Aminosäuren ähnlicher Raumerfüllung, bevorzugt durch Alanin, Serin, Threonin, Methionin oder Glycin ersetzt werden. Allerdings sollen mindestens vier, bevorzugt mindestens 5, besonders bevorzugt mindestens 6 und insbesondere mindestens 7 der Positionen  $C^1$  bis  $C^8$  aus Cysteinen bestehen. Cysteine können in den erfindungsgemäßen Proteinen entweder reduziert vorliegen oder miteinander Disulfidbrücken ausbilden. Besonders bevorzugt ist die intramolekulare Ausbildung von C-C Brücken, insbesondere die mit mindestens einer, bevorzugt 2, besonders bevorzugt 3 und ganz besonders bevorzugt 4 intramolekularen Disulfidbrücken. Bei dem oben beschriebenen Austausch von Cysteinen durch Aminosäuren ähnlicher Raumerfüllung werden vorteilhaft solche C-Positionen paarweise ausgetauscht, die intramolekulare Disulfidbrücken untereinander ausbilden können. Falls in den mit  $x$  bezeichneten Positionen auch Cysteine, Serine, Alanine, Glycine, Methionine oder Threonine verwendet werden, kann sich die Nummerierung der einzelnen C-Positionen in den allgemeinen Formeln entsprechend verändern.

Bevorzugt werden Hydrophobine der allgemeinen Formel (II)



zur Ausführung der vorliegenden Erfindung eingesetzt, wobei  $x$ , C und die bei  $x$  und C stehenden Indizes die obige Bedeutung haben, die Indizes  $n$  und  $m$  für Zahlen zwischen 0 und 350, bevorzugt 15 bis 300 stehen, sich die Proteine weiterhin durch die oben erwähnte

Kontaktwinkeländerung auszeichnen, und es sich weiterhin bei mindestens 6 der mit C benannten Reste um Cystein handelt. Besonders bevorzugt handelt es sich bei allen Resten C um Cystein. Bevorzugt werden auch Hydrophobine der allgemeinen Formel (III)



eingesetzt, wobei X, C und die bei X stehenden Indizes die obige Bedeutung haben, die Indizes n und m für Zahlen zwischen 0 und 200 stehen, sich die Proteine weiterhin durch die oben erwähnte Kontaktwinkeländerung auszeichnen, und es sich bei mindestens 6 der mit C benannten Reste um Cystein handelt. Besonders bevorzugt handelt es sich bei allen Resten C um Cystein. Bei den Resten  $X_n$  und  $X_m$  kann es sich um Peptidsequenzen handeln, die natürlicherweise auch mit einem Hydrophobin verknüpft sind. Es kann sich aber auch bei einem oder bei beiden Resten um Peptidsequenzen handeln, die natürlicherweise nicht mit einem Hydrophobin verknüpft sind. Darunter sind auch solche Reste  $X_n$  und/oder  $X_m$  zu verstehen, bei denen eine natürlicherweise in einem Hydrophobin vorkommende Peptidsequenz durch eine nicht natürlicherweise in einem Hydrophobin vorkommende Peptidsequenz verlängert ist.

Falls es sich bei  $X_n$  und/oder  $X_m$  um natürlicherweise nicht mit Hydrophobinen verknüpfte Peptidsequenzen handelt, sind derartige Sequenzen in der Regel mindestens 20, bevorzugt mindestens 35 Aminosäuren lang. Es kann sich beispielsweise um Sequenzen aus 20 bis 500, bevorzugt 30 bis 400 und besonders bevorzugt 35 bis 100 Aminosäuren handeln. Ein derartiger, natürlicherweise nicht mit einem Hydrophobin verknüpfter Rest soll im Folgenden auch als Fusionspartner bezeichnet werden. Damit soll ausgedrückt werden, dass die Proteine aus mindestens einem Hydrophobinteil und einem Fusionspartnerteil bestehen können, die in der Natur nicht zusammen in dieser Form vorkommen. Fusions-Hydrophobine aus Fusionspartner und Hydrophobinteil sind beispielsweise in WO 2006/082251, WO 2006/082253 und WO 2006/131564 beschrieben.

Der Fusionspartnerteil kann aus einer Vielzahl von Proteinen ausgewählt werden. Es kann nur ein einziger Fusionspartner mit dem Hydrophobinteil verknüpft sein, oder es können auch mehrere Fusionspartner mit einem Hydrophobinteil verknüpft werden, beispielsweise am Aminoterminus ( $X_n$ ) und am Carboxyterminus ( $X_m$ ) des Hydrophobinteils. Es können aber auch beispielsweise zwei Fusionspartner mit einer Position ( $X_n$  oder  $X_m$ ) des erfindungsgemäßen Proteins verknüpft werden.

Besonders geeignete Fusionspartner sind Proteine, die natürlicherweise in Mikroorganismen, insbesondere in *Escherichia coli* oder *Bacillus subtilis* vorkommen. Beispiele für solche Fusionspartner sind die Sequenzen yaad (SEQ ID NO: 16 in WO 2006/082251), yaae (SEQ ID NO: 18 in WO 2006/082251), Ubiquitin und Thioredoxin. Gut geeignet sind auch Fragmente oder Derivate dieser genannten Sequenzen, die nur einen Teil, beispielsweise

70 bis 99 %, bevorzugt 5 bis 50 %, und besonders bevorzugt 10 bis 40 % der genannten Sequenzen umfassen, oder bei denen einzelne Aminosäuren, bzw. Nukleotide gegenüber der genannten Sequenz verändert sind, wobei sich die Prozentangaben jeweils auf die Anzahl der Aminosäuren bezieht.

5

Die Zuordnung der Sequenznamen zu DNA- und Polypeptidsequenz und die entsprechenden Sequenzprotokolle findet sich am Ende der vorliegenden Beschreibung und in der Anmeldung WO 2006/103225 (S. 13 der Beschreibung und Sequenzprotokoll).

10

In einer weiterhin bevorzugten Ausführungsform weist das Fusion-Hydrophobin neben dem genannten Fusionspartner als eine der Gruppen  $X_n$  oder  $X_m$  oder als terminaler Bestandteil einer solchen Gruppe noch eine so genannte Affinitätsdomäne (affinity tag / affinity tail) auf. Hierbei handelt es sich in prinzipiell bekannter Art und Weise um Ankergruppen, welche mit bestimmten komplementären Gruppen wechselwirken können und der leichteren Aufarbei-

15

tung und Reinigung der Proteine dienen können. Beispiele derartiger Affinitätsdomänen umfassen  $(\text{His})_k$ ,  $(\text{Arg})_k$ ,  $(\text{Asp})_k$ ,  $(\text{Phe})_k$  oder  $(\text{Cys})_k$ -Gruppen, wobei k im allgemeinen für eine natürliche Zahl von 1 bis 10 steht. Bevorzugt kann es sich um eine  $(\text{His})_k$ -Gruppe handeln, wobei k für 4 bis 6 steht. Hierbei kann die Gruppe  $X_n$  und/oder  $X_m$  ausschließlich aus

20

einer derartigen Affinitätsdomäne bestehen oder aber ein natürlicherweise oder nicht natürlicherweise mit einem Hydrophobin verknüpfter Rest  $X_n$  bzw.  $X_m$  wird um eine terminal angeordnete Affinitätsdomäne verlängert. Die erfindungsgemäß verwendeten Hydrophobine können auch noch in ihrer Polypeptidsequenz modifiziert sein, beispielsweise durch Glycosilierung, Acetylierung oder auch durch chemische Quervernetzung beispielsweise mit Glutardialdehyd.

25

Eine Eigenschaft der erfindungsgemäß verwendeten Hydrophobine bzw. deren Derivaten ist die Änderung von Oberflächeneigenschaften, wenn die Oberflächen mit den Proteinen beschichtet werden. Die Änderung der Oberflächeneigenschaften lässt sich experimentell beispielsweise dadurch bestimmen, dass der Kontaktwinkel eines Wassertropfens vor und

30

nach der Beschichtung der Oberfläche mit dem speziellen Protein gemessen wird und die Differenz der beiden Messungen ermittelt wird. Die Durchführung von Kontaktwinkelmessungen ist dem Fachmann prinzipiell bekannt. Die Messungen beziehen sich auf Raumtemperatur sowie Wassertropfen von  $5 \mu\text{l}$  und die Verwendung von Glasplättchen als Substrat. Die genauen experimentellen Bedingungen für eine beispielhaft geeignete Methode

35

zur Messung des Kontaktwinkels sind im experimentellen Teil dargestellt. Unter den dort genannten Bedingungen besitzen die erfindungsgemäß verwendeten Fusionsproteine die Eigenschaft, den Kontaktwinkel um mindestens  $20^\circ$ , bevorzugt mindestens  $25^\circ$ , besonders bevorzugt mindestens  $30^\circ$  zu vergrößern, jeweils verglichen mit dem Kontaktwinkel eines gleich großen Wassertropfens mit der unbeschichteten Glasoberfläche.

40

Besonders bevorzugte Hydrophobine zur Ausführung der vorliegenden Erfindung sind die Hydrophobine des Typs dewA, rodA, hypA, hypB, sc3, basf1, basf2 (SEQ ID No.: 1 bis SEQ ID No.:14). Diese Hydrophobine inklusive ihrer Sequenzen sind beispielsweise in WO 2006/082 251 offenbart. Sofern nicht anders angegeben, beziehen sich die nachfolgend angegebene Sequenzen auf die in WO 2006/082 251 offenbarten Sequenzen. Eine Übersichtstabelle mit den SEQ-ID-Nummern befindet sich in WO 2006/082 251 auf Seite 20 und am Ende der vorliegenden Beschreibung. Erfindungsgemäß insbesondere geeignet sind die Fusionsproteine yaad-Xa-dewA-his (SEQ ID NO: 20), yaad-Xa-rodA-his (SEQ ID NO: 22) oder yaad-Xa-basf1-his (SEQ ID NO: 24) mit den in Klammern angegebenen Polypeptidsequenzen sowie den dafür codierenden Nukleinsäuresequenzen (SEQ ID NO 19, SEQ ID NO 21, SEQ ID NO 23), insbesondere den Sequenzen gemäß SEQ ID NO: 19, 21, 23. Bevorzugt wird im Rahmen der vorliegenden Erfindung das Hydrophobin yaad-Xa-dewA-his (SEQ ID NO: 19 / SEQ ID NO: 20) eingesetzt.

Auch Proteine, die sich ausgehend von den in SEQ ID NO. 20, 22 oder 24 dargestellten Polypeptidsequenzen durch Austausch, Insertion oder Deletion von mindestens einer, bis hin zu 10, bevorzugt 5, besonders bevorzugt 5% aller Aminosäuren ergeben, und die die biologische Eigenschaft der Ausgangsproteine noch zu mindestens 50% besitzen, sind besonders bevorzugte Ausführungsformen. Unter biologischer Eigenschaft der Proteine wird hierbei die bereits beschriebene Änderung des Kontaktwinkels um mindestens 20° verstanden.

Besonders zur Ausführung der vorliegenden Erfindung geeignete Derivate sind von yaad-Xa-dewA-his (SEQ ID NO: 20), yaad-Xa-rodA-his (SEQ ID NO: 22) oder yaad-Xa-basf1-his (SEQ ID NO: 24) durch Verkürzung des yaad-Fusionspartners abgeleitete Derivate. Anstelle des vollständigen yaad-Fusionspartners (SEQ ID NO: 16) mit 294 Aminosäuren kann vorteilhaft ein verkürzter yaad-Rest eingesetzt werden. Der verkürzte Rest sollte aber zumindest 20, bevorzugt mindestens 35 Aminosäuren umfassen. Beispielsweise kann ein verkürzter Rest mit 20 bis 293, bevorzugt 25 bis 250, besonders bevorzugt 35 bis 150 und beispielsweise 35 bis 100 Aminosäuren eingesetzt werden. Eine Spaltstelle zwischen dem Hydrophobin und dem Fusionspartner bzw. den Fusionspartnern kann dazu genutzt werden, den Fusionspartner abzuspalten und das reine Hydrophobin in underivatisierter Form freizusetzen (beispielsweise durch BrCN-Spaltung an Methionin, Faktor Xa-, Enterokinase-, Thrombin-, TEV-Spaltung etc.).

Bevorzugt wird im Rahmen der Erfindung das Protein yaad40-Xa-dewA-his (SEQ ID NO: 26 in PCT/EP2006/064720) eingesetzt, welches einen auf 40 Aminosäuren verkürzten yaad-Rest aufweist. Die in dem erfindungsgemäßen Verfahren zur Reinigung von hydrophoben Oberflächen verwendeten Hydrophobine lassen sich chemisch durch bekannte Verfahren der Peptidsynthese, wie beispielsweise durch Festphasensynthese nach Merrifield herstellen. Natürlich vorkommende Hydrophobine lassen sich aus natürlichen Quellen

mittels geeigneter Methoden isolieren. Beispielhaft sei auf Wösten et. al., Eur. J. Cell. Bio. 63, 122-129 (1994) oder WO 1996/41882 verwiesen. Ein gentechnisches Herstellverfahren für Hydrophobine ohne Fusionspartner aus *Talaromyces thermophilus* ist in US 2006/0040349 beschrieben.

5

Die Herstellung von Fusionsproteinen kann bevorzugt durch gentechnische Verfahren erfolgen, bei denen eine für den Fusionspartner und eine für den Hydrophobinteil codierende Nukleinsäuresequenz, insbesondere DNA-Sequenz, so kombiniert werden, dass in einem Wirtsorganismus durch Genexpression der kombinierten Nukleinsäuresequenz das gewünschte Protein erzeugt wird. Ein derartiges Herstellverfahren beispielsweise ist von WO 10 2006/082251 oder WO 2006/082253 offenbart. Die Fusionspartner erleichtern die Herstellung der Hydrophobine erheblich. Fusions-Hydrophobine werden bei den gentechnischen Verfahren mit deutlich besseren Ausbeuten produziert als Hydrophobine ohne Fusionspartner.

15

Die nach dem gentechnischen Verfahren von den Wirtsorganismen produzierten Fusions-Hydrophobine können in prinzipiell bekannter Art und Weise aufgearbeitet und mittels bekannter chromatographischer Methoden gereinigt werden. In einer bevorzugten Ausführungsform kann das in WO 2006/082253, Seiten 11/12 offenbarte, vereinfachte Aufarbeitungs- und Reinigungsverfahren eingesetzt werden. Hierzu werden die fermentierten Zellen zunächst aus der Fermentationsbrühe abgetrennt, aufgeschlossen und die Zelltrümmer von den Einschlusskörpern (inclusion bodies) getrennt. Letzteres kann vorteilhaft durch Zentrifugieren erfolgen. Schließlich können die Einschlusskörper, beispielsweise durch Säuren, Basen und/oder Detergentien in prinzipiell bekannter Art und Weise aufgeschlossen werden, um die Fusions-Hydrophobine freizusetzen. Die Einschlusskörper mit den erfindungsgemäß verwendeten Fusion-Hydrophobinen können in der Regel schon unter Verwendung 25 von 0,1 m NaOH innerhalb von ca. 1 h vollständig gelöst werden.

25

Die erhaltenen Lösungen können - ggf. nach Einstellen des gewünschten pH-Wertes - ohne weitere Reinigung zur Ausführung dieser Erfindung eingesetzt werden. Die Fusions-Hydrophobine können aus den Lösungen aber auch als Feststoff isoliert werden. Bevorzugt kann die Isolierung mittels Sprühgranulieren oder Sprühtrocknen erfolgen, wie in WO 2006/082253, Seite 12 beschrieben wird. Die nach dem vereinfachten Aufarbeitungs- und Reinigungsverfahren erhaltenen Produkte umfassen neben Resten von Zelltrümmern in 35 der Regel ca. 80 bis 90 Gew.-% Proteine. Die Menge an Fusions-Hydrophobinen beträgt je nach Fusionskonstrukt und Fermentationsbedingungen in der Regel 30 bis 80 Gew.-% bezüglich der Menge aller Proteine.

35

40

Die isolierten, Fusions-Hydrophobine enthaltenden Produkte können als Feststoffe gelagert werden und zum Einsatz in den jeweils gewünschten Medien gelöst werden. Die Fusions-

Hydrophobine können als solche oder auch nach Abspaltung und Abtrennung des Fusionspartners als „reine“ Hydrophobine zur Ausführung dieser Erfindung verwendet werden. Eine Spaltung nimmt man vorteilhaft nach der Isolierung der Einschlusskörper und deren Auflösung vor.

5

In einer bevorzugten Ausführungsform der Erfindung handelt es sich bei dem eingesetzten Hydrophobin um mindestens ein Fusions-Hydrophobin mit einer Polypeptidsequenz ausgewählt aus der Gruppe von yaad-Xa-dewA-his (SEQ ID NO: 20), yaad-Xa-rodA-his (SEQ ID NO: 22) oder yaad-Xa-basfl-his (SEQ ID NO: 24) und yaad40-Xa-dewA-his (SEQ ID NO: 26 in PCT/EP2006/064720). Insbesondere bevorzugt ist der Einsatz eines Fusions-Hydrophobins mit einem verkürzten Fusionspartner wie Protein yaad40-Xa-dewA-his (SEQ ID NO: 26 in PCT/EP2006/064720), welches einen auf 40 Aminosäuren verkürzten yaad-Rest aufweist.

10

15

Die vorliegende Erfindung betrifft ein Verfahren zum Reinigen von hydrophoben, insbesondere harten, Oberflächen umfassend die Schritte:

a) Benetzen der Oberfläche mit einer wässrigen Zusammensetzung,

20

b) Aufnehmen der Verschmutzungen mittels geeigneter Mittel,

wobei die eingesetzte, wässrige Zusammensetzung mindestens die folgenden Komponenten enthält:

25

(i) mindestens ein Lösemittel (L), wobei das Lösemittel mindestens 90 Gew.-%, bevorzugt 95 %, besonders bevorzugt 98 % an Wasser enthält,

(ii) mindestens ein Hydrophobin (H), bevorzugt ausgewählt aus yaad-Xa-dewA-his (SEQ ID NO: 20), yaad-Xa-rodA-his (SEQ ID NO: 22), yaad-Xa-basfl-his (SEQ ID NO: 24) oder yaad40-Xa-dewA-his (SEQ ID NO: 26),

30

(iii) mindestens ein nicht grenzflächenaktives, wasserlösliches Additiv (A),

(iv) sowie gegebenenfalls ein Tensid (T),

wobei das Gewichtsverhältnis von Additiv (A) zu Hydrophobin (H) von 2:1 bis 100:1, oftmals auch von 5:1 bis 100:1 beträgt.

35

In einer Ausführungsform der Erfindung beträgt die Konzentration der Hydrophobin-Komponente (H) in der wässrigen Zusammensetzung 0,05 bis 50.000 ppm. In einer weiteren Ausführungsform der Erfindung beträgt die Konzentration der Hydrophobin-Komponente (H) in der wässrigen Zusammensetzung 1 bis 10.000 ppm, häufig auch 100 bis 1000 ppm (0,01 bis 0,1 Gew.-%), bevorzugt 200 bis 800 ppm (0,02 bis 0,08 Gew.-%), auch bevorzugt von 400 bis 600 ppm (0,04 bis 0,6 Gew.%).

40

In einer weiteren Ausführungsform der Erfindung (verdünnte Anwendung) beträgt die Konzentration der Hydrophobin-Komponente (H) in der wässrigen Zusammensetzung 0,05 bis 100 ppm, bevorzugt 0,05 bis 50 ppm, besonders bevorzugt von 0,05 bis 10 ppm.

- 5 Häufig beträgt die Summe der Konzentrationen aller Komponenten der wässrigen Zusammensetzung - mit Ausnahme des Lösungsmittels - 0,0001 bis 10 Gew.-% bezogen auf die Summe aller Komponenten der Reinigerformulierung.

10 In einer Ausführungsform enthält die Reinigerformulierung als einziges Lösemittel (L) Wasser. In einer weiteren Ausführungsform enthält sie als Lösemittel (L) Wasser und 0,001 bis 10 Gew.-% weiterer polarer Lösemittel. Bevorzugt enthält das Lösemittel geringe Mengen Alkohol (z. B. Ethanol) und/oder Ether (z. B. Glykolether). Bevorzugt enthält die Reinigerformulierung Wasser und Glykolether. Insbesondere umfasst das Lösemittel (L) neben Wasser Alkohol und/oder Ether in einer Menge kleiner als 1 Gew.-%, bevorzugt  
15 kleiner oder gleich 0,05 Gew.-% (jeweils bezogen auf die Gesamtmenge an Lösemittel).

Der pH-Wert der in dem erfindungsgemäßen Verfahren eingesetzten wässrigen Zusammensetzungen liegt insbesondere im Bereich von 1 bis 12, bevorzugt im Bereich von 2 bis 10, besonders bevorzugt im Bereich von 2 bis 8. Der pH-Wert der Zusammensetzung richtet sich insbesondere nach der Art der Anwendung.  
20

Die vorliegende Erfindung bezieht sich auf ein oben beschriebenes Verfahren, wobei das nicht grenzflächenaktive, wasserlösliche Additiv (A) insbesondere eine Verbindung ist, die in wässriger Lösung in Ionen dissoziiert und ausgewählt ist aus Salzen oder salzartigen  
25 Verbindungen oder polare organische Verbindungen mit mehreren, sauerstoffhaltigen funktionellen Gruppe, insbesondere -COOH und/oder -OH, bevorzugt mit mehrere -COOH-Gruppen.

Insbesondere kann das in der Reinigerformulierung enthaltene Additiv (A) ausgewählt sein aus folgenden Gruppen:  
30

- o Wasserlösliche anorganische Salze, wie NaCl, KCl, KBr, CaCl<sub>2</sub>, MgCl<sub>2</sub>, Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, und NaHCO<sub>3</sub>;
- 35 o Wasserlösliche anorganische Salze organischer Säuren, wie wasserlösliche Salze umfassend Formiate, Acetate, Oxalate, Citrate, Gluconate, Maleate, Succinate, insbesondere Natriumformiat, Kaliumformiat, Natriumacetat, Kaliumacetat, Natriumoxalate, Kaliumoxalate;
- 40 o Salze von Nitrilotriessigsäure (NTA), Ethylendiamintetraessigsäure (EDTA); Diethylentriaminpentaessigsäure (DTPA), Methylglycindiessigsäure

(MGDA), Hydroxyethylethylendiamintriessigsäure (HEDTA), insbesondere Natrium- oder Kaliumsalze

- 5           o polare organische Verbindungen mit mehreren, sauerstoffhaltigen funktionellen Gruppe, insbesondere -COOH und/oder -OH, bevorzugt mit mehrere -COOH-Gruppen, insbesondere Ameisensäure, Essigsäure, Citronensäure, Oxalsäure, Gluconsäure, Maleinsäure, Bernsteinsäure, Nitrilotriessigsäure (NTA), Ethylendiamintetraessigsäure (EDTA);  
10           Diethylentriaminpentaessigsäure (DTPA), HEDTA Methyl-glycin-diessigsäure (MGDA), Hydroxyethylethylen-diamin-triessigsäure (HEDTA)

Unter „wasserlöslich“ sind im Sinne der vorliegenden Erfindung Verbindungen zu verstehen, welche eine Löslichkeit in Wasser (bei Standardtemperatur 25 °C) von größer oder gleich 10 g/l aufweisen.

15

Unter „nicht grenzflächenaktiv“ versteht man im Sinne der vorliegenden Erfindung solche Verbindungen, welche die Oberflächenspannung von Wasser (72 N/m, bei 25°C) um nicht mehr als 10 % herabsetzen, wenn sie in Wasser bis zu einer Konzentration von 50 g/l gelöst werden.

20

Unter „in wässriger Lösung in Ionen dissoziierend“ versteht man im Sinne der vorliegenden Erfindung Verbindungen, die beim Lösen in Wasser (bzw. in einem Lösemittel enthaltend mindestens 90 Gew.% Wasser) nahezu vollständig in Ionen zerfallen.

25

Vorzugsweise werden die Additive (A) in Überschuss bezüglich der Hydrophobine eingesetzt, je verdünnter die Reinigerformulierung, desto vorteilhafter kann ein großes Verhältnis von Additiv zu Hydrophobin sein.

30

Das Gewichtsverhältnis von Additiv (A) zu Hydrophobin (H) beträgt vorzugsweise 2:1 bis 100:1, häufig auch 5:1 bis 100:1, bevorzugt 10:1 bis 80:1, bevorzugt auch 20:1 bis 70:1, im speziellen auch 40:1 bis 60:1

35

Die im erfindungsgemäßen Verfahren eingesetzte Reinigerformulierung enthält insbesondere 5 bis 100.000 ppm, bevorzugt 5 bis 50.000 ppm, besonders bevorzugt 10 bis 30.000 ppm, mindestens eines nicht-grenzflächenaktiven, wasserlöslichen, in wässriger Lösung in Ionen dissoziierendes Additiv (A).

40

In einer bevorzugten Ausführungsform der Erfindung handelt es sich bei dem Additiv (A) um mindestens eine Verbindung ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus: Nitrilotriessigsäure (NTA), Salzen der Nitrilotriessigsäure, Ethylendiamintetraessigsäure (EDTA), Salzen der Ethylendiamintetraessigsäure, Diethylentriaminpentaessigsäure

- (DTPA), Salzen der Diethylentriaminpentaessigsäure, Methylglycindiessigsäure (MGDA), Salzen der Methylglycindiessigsäure, Hydroxyethylethylendiamintriessigsäure (HEDTA), Salzen der Hydroxyethylethylendiamintriessigsäure, Tris-(hydroxymethyl)-aminomethan (Tris), NaCl, KCl, KBr, CaCl<sub>2</sub>, MgCl<sub>2</sub>, Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, NaHCO<sub>3</sub>, 1,2,3-Propantriol (Glycerol),
- 5 Gluconsäure, Salze der Gluconsäure, Bernsteinsäure, Salze der Bernsteinsäure, Ameisensäure, Salze der Ameisensäure, insbesondere Natriumformiat, Kaliumformiat, Essigsäure, Salze der Essigsäure, insbesondere Natriumacetat, Kaliumacetat, Citronensäure, Salze der Citronensäure, insbesondere Natriumeitrat und Kaliumeitrat.
- 10 In einer bevorzugten Ausführungsform handelt es sich bei dem Additiv (A) um mindestens eine Verbindung ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus Citronensäure, Salzen der Citronensäure, Gluconsäure, Salzen der Gluconsäure, Bernsteinsäure und Salzen der Bernsteinsäure. Insbesondere handelt es sich bei dem Additiv (A) um Citronensäure oder
- 15 ein Salz der Citronensäure, bevorzugt um eine Verbindung ausgewählt aus Natriumeitrat, Kaliumeitrat und/oder Citronensäure.

Bevorzugt handelt es sich bei dem Additiv (A) um niedermolekulare Verbindungen mit einem Molekulargewicht  $M_n$  kleiner als 500 g/mol, besonders bevorzugt kleiner als 350 g/mol

- 20 Die im oben beschriebenen Verfahren eingesetzten wässrigen Zusammensetzungen können optional weitere Zusatzstoffe enthalten. Als weitere Zusatzstoffe (Z) können insbesondere eine oder mehrere Substanzen ausgewählt aus

- 25 ○ Parfümierungsmittel
- Farbstoffe
- Säuren
- Laugen
- Konservierungsmittel
- optional anionische oder amphotere Tenside

- 30 enthalten sein.

- In einer bevorzugten Ausführungsform der Erfindung enthält die in dem erfindungsgemäßen Verfahren eingesetzte wässrige Zusammensetzung mit Ausnahme des Hydrophobins
- 35 keine weiteren Tenside.

- In einer bevorzugten Ausführungsform der Erfindung kann die in dem erfindungsgemäßen Verfahren eingesetzte wässrige Zusammensetzung optional eine geringe Menge an einem weiteren Tensid enthalten. Das in der Reinigerformulierung enthaltene Hydrophobin wird
- 40 im Sinne der Erfindung nicht als Tensid bezeichnet.

In einer weiteren Ausführungsform der Erfindung enthält die wässrige Zusammensetzung zusätzlich mindestens ein Tensid (T), vorzugsweise in einer Menge von 0,01 bis 10.000 ppm (10E-6 bis 1 Gew.%), bevorzugt in einer Menge von 0,01 bis 5.000 ppm.

- 5 In einer Ausführungsform betrifft die wässrige Zusammensetzung ein Reiniger-konzentrat und enthält ein Tensid (T) (neben dem Hydrophobin) in einer Menge im Bereich von 0,01 bis 1 Gew.-% insbesondere von 0,05 bis 0,5 Gew.-%.

- 10 In einer Ausführungsform betrifft die wässrige Zusammensetzung einen verdünnten Reiniger und enthält ein Tensid (T) (neben dem Hydrophobin) in einer Menge im Bereich von 0,01 bis 1000 ppm, bevorzugt 0,01 bis 100 ppm, besonders bevorzugt 0,01 ppm bis 50 ppm.

- 15 Als Tensid (T) (neben dem Hydrophobin) können anionische oder amphotere Tenside eingesetzt werden, insbesondere wird mindestens ein Tensid ausgewählt aus Zuckertenside, Betaine und Fettalkoholethersulfate, insbesondere aus Alkylpolyglykoside, Pentoside und Alkylamidopropylbetain verwendet.

- 20 In einer bevorzugten Ausführungsform der Erfindung enthält die im erfindungsgemäßen Verfahren eingesetzte Reinigerformulierung ein Tensid (T) (neben dem Hydrophobin) in einer Menge von nicht mehr als 0,5 Gew.-%.

- 25 Eine Ausführungsform der Erfindung betrifft ein Verfahren zum Reinigen von hydrophoben Oberflächen umfassend die Schritte:

- a) Benetzen der Oberfläche mit einer wässrigen Zusammensetzung,
- b) Aufnehmen der Verschmutzungen mittels geeigneter Mittel,

- 30 wobei die eingesetzte, wässrige Zusammensetzung mindestens die folgenden Komponenten enthält (bzw. daraus besteht):

- (i) 90 bis 99,96 Gew.% mindestens eines Lösemittel (L),

- 35 wobei das Lösemittel häufig mindestens 90 Gew.-%, bevorzugt mindestens 95 %, besonders bevorzugt mindestens 98 %, Wasser enthält,

- (ii) 0,05 bis 50.000 ppm mindestens eines Hydrophobin (H),

- 40 (iii) 5 bis 100.000 ppm % mindestens eines nicht grenzflächenaktiven, wasserlöslichen, in wässriger Lösung in Ionen dissoziierendes Additiv (A), und

(iv) gegebenenfalls 0,01 bis 10.000 ppm eines Tensids (T),

wobei das Gewichtsverhältnis von Additiv (A) zu Hydrophobin (H) im Bereich von 2:1 bis 100:1 liegt.

5

An professionelle Reiniger (z.B. Reinigungsfirmen) aber auch für die Anwendung als Haushaltsreiniger werden üblicherweise Reinigerkonzentrate vermarktet, die später auf die gewünschte Konzentration verdünnt werden. Beim professionellen Reinigen wird in der Regel unterschieden zwischen einer gelegentlich durchgeführten Intensivreinigung (auch

10 Ersteinpflege) und nachfolgenden Reinigungen mit verdünntem Reiniger (so genannte Unterhaltsreinigung).

In dem erfindungsgemäßen Verfahren kann bevorzugt als wässrige Zusammensetzung eine Mischung eines Reinigerkonzentrats enthaltend (bzw. bestehend aus)

15

(i) 90 bis 99,96 Gew.% mindestens eines Lösemittel (L), wobei das Lösemittel mindestens 90 Gew.-%, bevorzugt mindestens 95 %, besonders bevorzugt mindestens 98 %, Wasser enthält,

20

(ii) 0,05 bis 50.000 ppm mindestens eines Hydrophobin (H),

(iii) 5 bis 100.000 ppm mindestens eines nicht grenzflächenaktiven, wasserlöslichen, in wässriger Lösung in Ionen dissoziierendes Additiv (A), und

25

(iv) gegebenenfalls 0,01 bis 10.000 ppm eines Tensids (T),

und Wasser eingesetzt werden, wobei das Reinigerkonzentrat in einer Konzentration von 0,01 bis 60 Gew.% (bezogen auf die gesamte wässrige Zusammensetzung) eingesetzt wird.

30

In einer Ausführungsform bezieht sich das oben beschriebene erfindungsgemäße Verfahren auf eine Intensivreinigung (bzw. Ersteinpflege), wobei das oben beschriebene Reinigerkonzentrat in einer Konzentration von 20 bis 60 Gew.%, bevorzugt 20 bis 40 Gew.%, besonders bevorzugt von 20 bis 25 % eingesetzt wird. In dieser Ausführungsform

35 handelt es sich um eine Intensivreinigung. Die Konzentration der Hydrophobin-Komponente (H) in der wässrigen Zusammensetzung beträgt häufig von 20 bis 1000 ppm, oftmals 50 bis 300 ppm, bevorzugt auch 50 bis 200 ppm, besonders bevorzugt 80 bis 125 ppm.

40

Eine Ausführungsform der Erfindung betrifft ein Verfahren zum Reinigen von hydrophoben Oberflächen umfassend die Schritte:

- a) Benetzen der Oberfläche mit einer wässrigen Zusammensetzung,
- b) Aufnehmen der Verschmutzungen mittels geeigneter Mittel,

wobei die eingesetzte, wässrige Zusammensetzung mindestens die folgenden Komponenten enthält:

- (i) 90 bis 99,96 Gew.% mindestens eines Lösemittel (L), wobei das Lösemittel mindestens 90 Gew.-%, bevorzugt mindestens 95 %, besonders bevorzugt mindestens 98 %, Wasser enthält,
- (ii) 20 bis 1000 ppm mindestens eines Hydrophobins (H),
- (iii) 40 bis 100.000 ppm, oftmals 50 bis 30.000 ppm, bevorzugt 100 bis 20.000 ppm mindestens eines nicht grenzflächenaktiven, wasserlöslichen Additiv (A),
- (iv) optional 0,01 bis 10.000 ppm, bevorzugt 0,2 bis 4.000 ppm mindestens eines Tensids (T),

wobei das Gewichtsverhältnis von Additiv (A) zu Hydrophobin (H) im Bereich von 2:1 bis 100:1 liegt.

Nach der so genannten Ersteinpflege oder nach einer Intensivreinigung wird bevorzugt nur noch mit einem verdünnten Unterhaltsreiniger gereinigt, wobei das oben beschriebene Reinigerkonzentrat in der wässrigen Zusammensetzung in einer Konzentration von 0,01 bis 20 Gew.%, bevorzugt 0,01 bis 10 Gew.%, besonders bevorzugt von 0,01 bis 2 % enthalten ist.

In einer Ausführungsform betrifft die Erfindung ein Verfahren, bei dem es sich um eine Unterhaltsreinigung handelt, und bei dem die Konzentrationen der Hydrophobin-Komponente (H) in der wässrigen Zusammensetzung von 0,05 bis 50.000 ppm, bevorzugt von 0,05 bis 5.000 ppm beträgt. Gegebenenfalls kann eine Zwischenreinigung sogar nur mit Wasser erfolgen.

Die beschriebene Intensivreinigung oder Ersteinpflege und die verdünnte Anwendung (Unterhaltsreinigung) können dauerhaft oder im Wechsel erfolgen. Eine konzentrierte Anwendung kann als Ersteinpflege mit einer anschließenden Unterhaltsreinigung erfolgen.

Die Menge an Hydrophobinen hängt auch von der Art der Oberfläche ab; bei stark wasserabweisenden Oberflächen (z.B. mit PUR vergütete Bodenbeläge, PVC-Böden) benötigt man eine höhere Hydrophobin-Konzentration im Wischwasser als bei einer hydrophileren Oberflächen.

Bevorzugt sollte die zu reinigende hydrophobe Oberfläche einmal vollständig mit der wässrigen Zusammensetzung benetzt werden. Es ist weiterhin vorteilhaft die Oberfläche zwischen durch nicht mit (herkömmlichen) Tensid-Reinigern zu reinigen. Insbesondere bezieht sich die Erfindung auf ein Verfahren zur Reinigung von harten und elastischen Oberflächen.

Die Begriffe "harte Oberflächen" und „elastische Oberflächen" sind dem Fachmann bekannt. Es handelt sich bei "harten Oberflächen" um nicht oder nur in geringem Masse kompressible Oberflächen, insbesondere um glatte Oberflächen, zum Beispiel Oberflächen aus Glas, Keramik, Metallen, wie beispielsweise Edelstahl oder Messing, Emaille, Kunststoff und/oder um lackierte Oberflächen. Beispiele lackierter Oberflächen umfassen die Oberfläche von lackierten Automobilkarosserien oder die Oberfläche von Haushaltsgeräten. Bei den harten Oberflächen kann es sich insbesondere um typische, im Haushalt vorkommende Oberflächen handeln, wie beispielsweise die Oberfläche von Fliesen, Fußböden, insbesondere Kunststoff-Fußböden, Armaturen, Waschbecken, Duschwannen, Badwannen, Toiletten, Duschkabinen, Badezimmermöbeln, Küchenmöbeln wie Tischen, Stühlen, Schränken, Arbeitsflächen oder sonstigen Möbeln, Spiegeln, Fenstern, Geschirr, Besteck, Gläsern, Porzellangegenständen oder die Oberflächen von Haushaltsgeräten wie Waschmaschinen, Geschirrspülmaschinen, Herde oder Dunstabzugshauben.

Bei Verschmutzungen (oder Schmutz) handelt es sich in bekannter Art und Weise um alle Arten unerwünschter Materie auf Oberflächen in Form von festen und/oder flüssigen Stoffen. Beispiele von Schmutz umfassen Fette, Öle, Eiweiße, Speisereste, Staub oder Erde. Bei Verschmutzungen kann es sich auch um Kalkablagerungen wie beispielsweise eingetrocknete Wasserspuren handeln, die sich aufgrund der Wasserhärte bilden. Weitere Beispiele umfassen Reste von Reinigungs- und Pflegemitteln.

Insbesondere bezieht sich das erfindungsgemäße Verfahren auf die Reinigung einer hydrophoben, insbesondere harten, schlecht benetzbaren Oberfläche. Die Oberfläche ist insbesondere eine Kunststoff-Oberfläche, wie sie typischerweise für Fußböden oder Haushaltsgegenstände verwendet wird. Bevorzugt bezieht sich das erfindungsgemäße Verfahren auf die Reinigung einer harten, hydrophoben Oberfläche ausgewählt aus Polyethylen PE, Polypropylen PP, Polyvinylchlorid PVC, Polyethylenterephthalat PET, Polyurethan PUR, Linoleum und Gummi.

Bevorzugt bezieht sich die Erfindung auf ein oben beschriebenes Verfahren, dadurch gekennzeichnet, dass es sich bei den hydrophoben Oberflächen um Kunststoff-Fußböden handelt. Insbesondere handelt es sich bei den hydrophoben Oberflächen um Fußböden aus einem Material ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus Polyethylen PE, Polypropylen PP, Polyvinylchlorid PVC, Polyethylenterephthalat PET, Polyurethan PUR, Linoleum und Gummi bzw. Mischungen und Kombinationen daraus.

Unter einer hydrophoben Oberfläche im Sinne der vorliegenden Erfindung ist eine Oberfläche zu verstehen, bei der der Kontaktwinkel eines Wassertropfens auf der Oberfläche größer als 50°, bevorzugt größer als 60° ist, wobei sich die Werte auf eine unbehandelte Oberfläche beziehen.

5

Die vorliegende Erfindung betrifft weiterhin eine Zusammensetzung zum Reinigen von hydrophoben Oberflächen, insbesondere ein Reinigerkonzentrat, enthaltend:

- 10 - 90 bis 99,96 Gew.% mindestens ein Lösemittel (L), wobei das Lösemittel mindestens 90 Gew.-%, bevorzugt mindestens Gew. 95 %, besonders bevorzugt mindestens 98 Gew.%, Wasser enthält,
- 15 - 0,001 bis 0,5 Gew.-% mindestens eines Hydrophobins (H), bevorzugt ausgewählt aus yaad-Xa-dewA-his (SEQ ID NO: 20), yaad-Xa-rodA-his (SEQ ID NO: 22), yaad-Xa-basfl-his (SEQ ID NO: 24) oder yaad40-Xa-dewA-his (SEQ ID NO: 26),  
1 bis 10 Gew.-%, oftmals 1 bis 5 Gew.-% (bevorzugt 1-3 Gew.%) mindestens eines nicht-Grenzflächen-aktiven, wasserlöslichen Additivs (A),
- 20 - optional 0,1 bis 1 Gew.-% Tensid (T),

wobei das Gewichtsverhältnis von Additiv (A) zu Hydrophobin (H) von 2:1 bis 100:1 beträgt, und wobei das Additiv (A) ausgewählt ist aus der Gruppe bestehend aus Citronensäure, Gluconsäure, Bernsteinsäure sowie jeweils deren Salzen.

25

In den erfindungsgemäßen Zusammensetzungen zum Reinigen können insbesondere die oben im Zusammenhang mit dem erfindungsgemäßen Verfahren beschriebenen Komponenten (Lösemittel (L), Hydrophobin (H), Additiv (A), Tensid (T), weitere Zusatzstoffe (Z) ) enthalten sein.

30

Bevorzugt enthält die Zusammensetzung zum Reinigen von hydrophoben Oberflächen (bzw. besteht aus):

- 35 90 bis 99,96 Gew.% mindestens ein Lösemittel (L), wobei das Lösemittel mindestens 90 Gew.-%, bevorzugt mindestens Gew. 95 %, besonders bevorzugt mindestens 98 Gew.%, Wasser enthält,
- 40 0,04 bis 0,06 Gew.-% mindestens ein Hydrophobin (H), bevorzugt ausgewählt aus yaad-Xa-dewA-his (SEQ ID NO: 20), yaad-Xa-rodA-his (SEQ ID NO: 22), yaad-Xa-basfl-his (SEQ ID NO: 24) oder yaad40-Xa-dewA-his (SEQ ID NO: 26),

1 bis 10 Gew.-%, oftmals 1 bis 3 Gew.-%, mindestens ein nicht-grenzflächenaktives, wasserlösliches Additiv (A), optional 0,1 bis 0,6 Gew.-% Tensid (T),

5 wobei das Gewichtsverhältnis von Additiv (A) zu Hydrophobin (H) von 5:1 bis 100:1 beträgt, und wobei das Additiv (A) ausgewählt ist aus der Gruppe bestehend aus Citronensäure, Gluconsäure, Bernsteinsäure sowie jeweils deren Salze, bevorzugt deren Alkali- und Erdalkalimetallsalze.

10 Die Erfindung betrifft auch ein Verfahren zum Reinigen von hydrophoben Oberflächen umfassend die Schritte:

- a) Benetzen der Oberfläche mit einer wässrigen Zusammensetzung,
- b) Aufnehmen der Verschmutzungen mittels geeigneter Mittel,

15

wobei die eingesetzte, wässrige Zusammensetzung mindestens die folgenden Komponenten enthält:

20

- (i) mindestens ein Lösemittel (L), wobei das Lösemittel mindestens 90 Gew.-% Wasser enthält,
- (ii) mindestens ein Hydrophobin (H),
- (iii) mindestens ein nicht grenzflächenaktives, wasserlösliches Additiv (A),
- (iv) sowie gegebenenfalls ein Tensid (T),

25

wobei das Gewichtsverhältnis von Additiv (A) zu Hydrophobin (H) von 2:1 bis 100:1 beträgt.

30 Bevorzugt wird auch eine Zusammensetzung zum Reinigen von hydrophoben Oberflächen enthaltend (bzw. bestehend aus):

90 bis 99,96 Gew.% an Lösemittel (L),  
wobei das Lösemittel mindestens 90 Gew.-% enthält,  
1 bis 10.000 ppm mindestens eines Hydrophobin (H),  
35 5 bis 100.000 ppm mindestens eines nicht-grenzflächenaktiven,  
wasserlöslichen Additivs (A), und gegebenenfalls  
0,01 bis 10.000 ppm eines Tensid (T),

40

wobei das Gewichtsverhältnis von Additiv (A) zu Hydrophobin (H) von 5:1 bis 100:1 beträgt, und wobei es sich bei dem Additiv (A) um Citronensäure oder ein Salz der Citronensäure handelt.

Insbesondere besteht die erfindungsgemäße Zusammensetzung zum Reinigen von hydrophoben Oberflächen aus den oben genannten Komponenten.

5 In einer Ausführungsform bezieht sich die vorliegende Erfindung auf eine oben beschriebene Zusammensetzung, dadurch gekennzeichnet, dass das Additiv (A) ausgewählt ist aus Citronensäure, Gluconsäure und Bernsteinsäure

10 In einer Ausführungsform bezieht sich die vorliegende Erfindung auf eine oben beschriebene Zusammensetzung, dadurch gekennzeichnet, dass das Additiv (A) ausgewählt ist aus Citronensäure, Natriumeitrat und Kaliumeitrat, besonders bevorzugt Zitronensäure bzw. Natriumeitrat.

15 In einer Ausführungsform enthält die erfindungsgemäße Zusammensetzung zum Reinigen ein Tensid (T) (neben dem Hydrophobin) in einer Menge im Bereich von 0,01 bis 0,5 Gew.-%, insbesondere von 0,05 bis 0,5 Gew.%, bevorzugt 0,1 bis 0,5 Gew.%. Das in der Zusammensetzung zum Reinigen enthaltenen Hydrophobin wird im Sinne der Erfindung nicht als Tensid bezeichnet. Insbesondere enthält die Reinigerformulierung ein Tensid (T) (neben dem Hydrophobin) in einer Menge von nicht mehr als 0,5 Gew.-%. Als Tensid (T) (neben dem Hydrophobin) können insbesondere anionische oder amphotere Tenside eingesetzt werden, insbesondere wird mindestens ein Tensid ausgewählt aus Zuckertensiden, Betainen und Fettalkoholethersulfate, insbesondere aus Alkylpolyglykosiden, Pentosiden und Alkylamidopropylbetainen verwendet.

25 Weiterhin betrifft die vorliegende Erfindung ein Verfahren zur Herstellung der oben beschriebenen Zusammensetzung zum Reinigen von hydrophoben Oberflächen, wobei die genannten Komponenten vermischt werden. Bevorzugt wird eine Lösung des Hydrophobins (H) in einem Teil des Lösemittels (L) mit einer Lösung des Additivs (A) in einem andern Teil des Lösemittels (L) vermischt.

30 Weiterhin betrifft die vorliegende Erfindung die Verwendung einer wässrigen Zusammensetzung enthaltend mindestens ein Hydrophobin (H) und mindestens ein nicht-grenzflächenaktives, wasserlösliches (insbesondere in wässriger Lösung in Ionen dissoziierendes) Additiv (A) zur Reinigung von hydrophoben, harten Oberflächen. Insbesondere handelt es sich um die Verwendung zur Reinigung von Kunststoff-Fußböden, bevorzugt von Kunststoff-Fußböden ausgewählt aus Polyethylen PE, Polypropylen PP, Polyvinylchlorid PVC, Polyethylenterephthalat PET, Polyurethan PUR Linoleum und Gummi.

40 Bevorzugt erfolgt die Verwendung der erfindungsgemäßen Zusammensetzung als Industriereiniger, Haushaltsreiniger, Auto-Pflege- und/oder Reinigungsmitteln, Glasreiniger, Fußbodenreiniger, Allzweckreiniger, Badreiniger, Klarspüler, Geschirrspülmittel zur Hand- oder

Maschinenreinigung von Geschirr, Maschinenreiniger, Metallentfetter, Hochdruckreiniger, alkalische Reiniger, saure Reiniger oder Molkereireiniger.

Die vorliegende Erfindung wird durch die nachfolgenden Beispiele näher erläutert.

5

Beispiel 1: Herstellung der Hydrophobine

Für die Beispiele wurde ein Fusions-Hydrophobin mit einem auf 40 Aminosäuren verkürzten Fusionspartner yaad40-Xa-dewA-his (im Folgenden auch als Hydrophobin-Protein B oder H\*-Protein B bezeichnet) eingesetzt.

10

Die Herstellung der Hydrophobine erfolgte gemäß der in WO 2006/082253 beschriebenen Verfahrensweise. Die Produkte wurden nach dem vereinfachten Reinigungsverfahren gemäß Beispiel 9 von WO 2006/82253 aufgearbeitet und gemäß Beispiel 10 sprühgetrocknet.

15

Der Gesamtproteingehalt der erhaltenen, getrockneten Produkte betrug jeweils ca. 70 bis 95 Gew.-%, der Gehalt an Hydrophobinen betrug ca. 40 bis 90 Gew.-% bezüglich des Gesamtproteingehaltes. Die Produkte wurden als solche für die Versuche eingesetzt.

Tabell : Rezepturen Beispiel 1

|                           | Rezeptur A | Rezeptur B | Rezeptur C |
|---------------------------|------------|------------|------------|
| Rohstoff                  | [%]        | [%]        | [%]        |
| Wasser                    | 98,00      | 99,95      | 97,95      |
| Hydrophobin-Protein B     | ----       | 0,05       | 0,05       |
| Iminodisuccinat Na - Salz | 2,00       | ----       | 2,00       |

20

Beispiel 2: Benetzungswirkung der Kombination:

Es wurden Kontaktwinkelmessungen durchgeführt.

25

Folgende Rezepturen wurden durch Mischen der Komponenten hergestellt

5 ml\_ der wie oben beschrieben hergestellten Lösungen wurden auf einem 15 x 15 cm großen Stück Tanzboden (PVC Fußbodenbelag) aufgetragen und 24 h bei Raumtemperatur getrocknet.

30

Auf diesen Prüfbelägen wurde der Kontaktwinkel von Wasser gemessen, wobei der Mittelwert aus 5 Messungen gebildet wurde.

Es wurde ein Kontaktwinkelmessgerät vom Typ DSA 10 MK2 (Krüss GmbH) verwendet. Zur Messung des Kontaktwinkels wurde ein Wassertropfen von  $5\mu\text{L}$  verwendet. Die Messungen wurden bei einer Temperatur von  $20\text{ }^{\circ}\text{C}$  durchgeführt. Die Ergebnisse sind in Tabelle 2 zusammengefasst.

5

Tabelle 2: Ergebnisse der Kontaktwinkel-Messung

|            | Bodenbelag<br>unbehandelt | Rezeptur A | Rezeptur B | Rezeptur C |
|------------|---------------------------|------------|------------|------------|
| 1.Messung  | 92,7                      | 80,8       | 48,5       | 14,4       |
| 2.Messung  | 91,4                      | 79,5       | 35,5       | 16,2       |
| 3.Messung  | 90,3                      | 80,4       | 48,9       | 15,3       |
| 4.Messung  | 88,1                      | 82,3       | 44,9       | 17,3       |
| 5.Messung  | 87,5                      | 82,9       | 41,1       | 13,8       |
| Mittelwert | 90,0                      | 81,2       | 43,8       | 15,4       |

Beispiel 3:

10

Von H<sup>\*</sup> Protein B (EV 153178) wurde eine Stammlösung von 5000ppm (0,5 Gew.%) in VE-Wasser hergestellt. Davon wurden entsprechende Mengen in zuvor vorbereitete Additivlösungen gegeben, so dass eine Proteinkonzentration von 500ppm (0,05 Gew.%) entstand.

15

Es wurden Additivlösungen gemäß Tabelle 3 hergestellt. Die Ergebnisse zum Benetzungsverhalten sind ebenfalls in Tabelle 3 wiedergegeben.

In diese Lösungen wurden unpolare Kunststoffoberflächen wie in Tabelle 3 angegeben getaucht und nach 5 Sekunden aus der jeweiligen Lösung entfernt.

20

Das Netzvermögen dieser Lösungen auf den Oberflächen wurde wie folgt visuell beurteilt:

25

- + nicht vollständige Benetzung
- ++ fast vollständige Benetzung, Randbereiche problematisch
- +++ gleichmäßige Benetzung

30

Tabelle 3: Beurteilung des Netzverhaltens

| Nr. | Additiv   | Konz. in % | mmol/L | pH-Wert | Netzwirkung auf Kunststoffoberflächen |
|-----|---|------------|--------|---------|---------------------------------------|
| 1   | ohne  | -          | -      | 8,8     | +                                     |
| 2   | Nitrilotriessigsäure (NTA, Trilon A)                                    | 0,5        | 19,5   | 11,6    | +++                                   |
| 3   | Ethylendiamintetraessigsäure (EDTA, Trilon B)                           | 0,5        | 13,2   | 11,5    | +++                                   |
| 4   | Ethylendiamintetraessigsäure mit Triammonium neutralisiert (Trilon BAT) | 0,5        | 14,6   | 8,0     | +++                                   |
| 5   | Diethylentriaminpentaessigsäure (DTPA, Trilon C)                        | 0,5        | 9,9    | 11,5    | +++                                   |
| 6   | Hydroxyethylethylendiamintriessigsäure (HEDTA, Trilon D)                | 0,5        | 14,5   | 11,6    | ++                                    |
| 7   | Methylglycindiessigsäure (MGDA, Trilon M)                               | 0,5        | 18,5   | 11,5    | +++                                   |
| 8   | Tris-(hydroxymethyl)-aminomethan (TRIS)                                 | 0,606      | 50,0   | 8,0     | +++                                   |

5

| Nr. | Additiv                             | Konz. in % | mmol/L | pH-Wert | Netzwirkung auf Kunststoffoberflächen |
|-----|-------------------------------------|------------|--------|---------|---------------------------------------|
| 9   | Natriumchlorid (NaCl)               | 0,580      | 100,0  | 8,1     | +++                                   |
| 10  | Calciumchlorid (CaCl <sub>2</sub> ) | 0,735      | 50,0   | 7,2     | +++                                   |
|     |                                     |            |        |         |                                       |
| 12  | Gluconsäure                         | 1,091      | 50,0   | 7,1     | +++                                   |
| 13  | Bernsteinsäure                      | 0,810      | 50,0   | 8,7     | +++                                   |

Beispiel 4:

10 Es wurde eine Hydrophobin-Protein B Stammlösung in Wasser von 5000 ppm (bezogen auf Feststoffgehalt) hergestellt.

Es wurden wässrige Lösungen der folgenden Additive (A) Tris-(hydroxymethyl)-aminomethan (Tris), NaCl, Natriumformiat, Kaliumformiat, Trinatriumcitrat und CaCl<sub>2</sub> gemäß Tabelle 4 hergestellt.

15

Tabelle 4: Additivlösungen für Beispiel 4

| Nr. | Additiv                | Konzentration | Gew. % | pH  |
|-----|------------------------|---------------|--------|-----|
| 1   | --                     |               |        | 8,8 |
| 2   | NaCl                   | 100mmol       | 0,58%  | 8,1 |
| 3   | Na <sub>3</sub> Citrat | 25 mmol       | 0,65%  | 9,0 |
| 4   | CaCl <sub>2</sub>      | 50 mmol       | 0,74%  | 7,2 |

5 Je 40 ml der oben genannten Lösungen wurden mit einer entsprechenden Menge (0,04 ml, 0,08 ml, 0,2 ml, 0,4 ml, 0,8 ml, 4,0 ml) an Hydrophobin-Stammlosung versetzt, so dass sich Gesamtkonzentrationen an Hydrophobin B von 5, 10, 25, 50, 100 und 500 ppm ergaben.

10 Die so erhaltenen Lösungen wurden auf Platten aus folgenden Kunststoffen aufgebracht: Polycarbonat, Polymethylmethacrylat PMMA, Polyvinylchlorid, Polyethylenterephthalat PET, Polypropylen PP, Polyethylen PE. Das Benetzungsverhalten wurde wie folgt visuell beurteilt:

- 15
- 0 keine Netzung
  - + geringe Netzwirkung auf dem Substrat, die aufgesetzten Tropfen kann man aber als Streifen vereinigen
  - ++ nahezu vollständige Benetzung des Substrates, nur an den Ränder leichte Rückzugtendenzen, mehrmalige mechanische Verteilung notwendig
  - +++ vollständige, flächige und durch einfache Verteilung erreichbare Benetzung

20 In der folgenden Tabelle 5 sind die Ergebnisse für die verschiedenen Kunststoff-Oberflächen zusammengefasst.

Tabelle 5: Beurteilung des Netzverhaltens bei unterschiedlichen Hydrophobin-Konzentrationen

25

| Protein<br>Konzentration | Polycarbonat |  |     |     |     |
|--------------------------|--------------|--|-----|-----|-----|
|                          | 1            |  | 2   | 3   | 4   |
| Methode                  | 1            |  | 2   | 3   | 4   |
| ohne                     | 0            |  | 0   | 0   | 0   |
| 5 ppm                    | 0            |  | 0   | +   | 0   |
| 10 ppm                   | 0            |  | +   | +   | 0   |
| 25 ppm                   | 0            |  | +   | ++  | +   |
| 50 ppm                   | 0            |  | ++  | +++ | ++  |
| 100 ppm                  | 0            |  | +++ | +++ | +++ |
| 500 ppm                  | +            |  | +++ | +++ | +++ |

| PMMA    |   |  |     |     |     |
|---------|---|--|-----|-----|-----|
|         | 1 |  | 2   | 3   | 4   |
| Ohne    | 0 |  | 0   | 0   | 0   |
| 5 ppm   | 0 |  | +   | +   | 0   |
| 10 ppm  | 0 |  | +   | +   | 0   |
| 25 ppm  | 0 |  | +   | ++  | +   |
| 50 ppm  | 0 |  | ++  | +++ | ++  |
| 100 ppm | 0 |  | +++ | +++ | +++ |
| 500 ppm | + |  | +++ | +++ | +++ |
| PVC     |   |  |     |     |     |
| Ohne    | 0 |  | 0   | 0   | 0   |
| 5 ppm   | 0 |  | +   | +   | +   |
| 10 ppm  | 0 |  | +   | ++  | +   |
| 25 ppm  | + |  | ++  | +++ | ++  |
| 50 ppm  | + |  | +++ | +++ | ++  |
| 100 ppm | + |  | +++ | +++ | +++ |
| 500 ppm | + |  | +++ | +++ | +++ |

| PET     |    |  |     |     |     |
|---------|----|--|-----|-----|-----|
|         | 1  |  | 2   | 3   | 4   |
| ohne    | 0  |  | 0   | 0   | 0   |
| 5 ppm   | 0  |  | +   | +   | +   |
| 10 ppm  | +  |  | +   | ++  | +   |
| 25 ppm  | +  |  | +   | ++  | +   |
| 50 ppm  | +  |  | ++  | +++ | ++  |
| 100 ppm | +  |  | +++ | +++ | +++ |
| 500 ppm | ++ |  | +++ | +++ | +++ |
| PP      |    |  |     |     |     |
|         | 1  |  | 2   | 3   | 4   |
| ohne    | 0  |  | 0   | 0   | 0   |
| 5 ppm   | 0  |  | 0   | +   | 0   |
| 10 ppm  | 0  |  | +   | +   | +   |
| 25 ppm  | 0  |  | +   | ++  | +   |
| 50 ppm  | 0  |  | ++  | ++  | ++  |
| 100 ppm | 0  |  | +++ | +++ | +++ |
| 500 ppm | +  |  | +++ | +++ | +++ |
| PE      |    |  |     |     |     |
|         | 1  |  | 2   | 3   | 4   |
| ohne    | 0  |  | 0   | 0   | 0   |

|         |   |  |     |     |     |
|---------|---|--|-----|-----|-----|
| 5 ppm   | 0 |  | 0   | +   | 0   |
| 10 ppm  | 0 |  | +   | +   | +   |
| 25 ppm  | 0 |  | +   | ++  | +   |
| 50 ppm  | 0 |  | ++  | +++ | ++  |
| 100 ppm | 0 |  | +++ | +++ | +++ |
| 500 ppm | + |  | +++ | +++ | +++ |

Zuordnung der Sequenznamen zu DNA- und Polypeptidesequenzen im Sequenzprotokoll

|   |               |
|---|---------------|
| dewA DNA and Polypeptide sequence               | SEQ ID NO: 1  |
| dewA Polypeptide sequence                       | SEQ ID NO: 2  |
| rodA DNA and Polypeptide sequence               | SEQ ID NO: 3  |
| rodA Polypeptide sequence                       | SEQ ID NO: 4  |
| hypA DNA and Polypeptide sequence               | SEQ ID NO: 5  |
| hypA Polypeptide sequence                       | SEQ ID NO: 6  |
| hypB DNA and Polypeptide sequence               | SEQ ID NO: 7  |
| hypB Polypeptide sequence                       | SEQ ID NO: 8  |
| sc3 DNA and Polypeptide sequence                | SEQ ID NO: 9  |
| sc3 Polypeptide sequence                        | SEQ ID NO: 10 |
| basfl DNA and Polypeptide sequence              | SEQ ID NO: 11 |
| basfl Polypeptide sequence                      | SEQ ID NO: 12 |
| basf2 DNA and Polypeptide sequence              | SEQ ID NO: 13 |
| basf2 Polypeptide sequence                      | SEQ ID NO: 14 |
| yaad DNA and Polypeptide sequence               | SEQ ID NO: 15 |
| yaad Polypeptide sequence                       | SEQ ID NO: 16 |
| yaae DNA and Polypeptide sequence               | SEQ ID NO: 17 |
| yaae Polypeptide sequence                       | SEQ ID NO: 18 |
| yaad-Xa-dewA-his DNA and Polypeptide sequence   | SEQ ID NO: 19 |
| yaad-Xa-dewA-his Polypeptide sequence           | SEQ ID NO: 20 |
| yaad-Xa-rodA-his DNA and Polypeptide sequence   | SEQ ID NO: 21 |
| yaad-Xa-rodA-his Polypeptide sequence           | SEQ ID NO: 22 |
| yaad-Xa-basf1-his DNA and Polypeptide sequence  | SEQ ID NO: 23 |
| yaad-Xa-basf1-his Polypeptide sequence          | SEQ ID NO: 24 |
| yaad40-Xa-dewA-his DNA and Polypeptide sequence | SEQ ID NO: 25 |
| yaad40-Xa-dewA-his Polypeptide sequence         | SEQ ID NO: 26 |

## Patentansprüche

1. Verfahren zum Reinigen von hydrophoben Oberflächen umfassend die Schritte:
  - a) Benetzen der Oberfläche mit einer wässrigen Zusammensetzung,
  - b) Aufnehmen der Verschmutzungen mittels geeigneter Mittel,wobei die eingesetzte, wässrige Zusammensetzung mindestens die folgenden Komponenten enthält:
  - (i) mindestens ein Lösemittel (L), wobei das Lösemittel mindestens 90 Gew. % Wasser enthält,
  - (ii) mindestens ein Hydrophobin (H),
  - (iii) mindestens ein nicht grenzflächenaktives, wasserlösliches Additiv (A),
  - (iv) sowie gegebenenfalls ein Tensid (T),wobei das Gewichtsverhältnis von Additiv (A) zu Hydrophobin (H) von 2:1 bis 100:1 beträgt.
2. Verfahren gemäß Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass die Konzentration der Hydrophobin-Komponent (H) in der wässrigen Zusammensetzung 0,05 bis 50.000 ppm beträgt.
3. Verfahren gemäß einem der Ansprüche 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, dass die wässrige Zusammensetzung ein Tensid (T) in einer Menge von 0,01 bis 10.000 ppm enthält.
4. Verfahren gemäß einem der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, dass es sich bei dem Additiv (A) um mindestens eine Verbindung ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus Nitrilotriessigsäure (NTA), Salzen der Nitrilotriessigsäure, Ethylendiamintetraessigsäure (EDTA), Salzen der Ethylendiamintetraessigsäure, Diethylentriaminpentaessigsäure (DTPA), Salzen der Diethylentriaminpentaessigsäure, Methylglycindiessigsäure (MGDA), Salzen der Methylglycindiessigsäure, Hydroxyethylethylendiamintriessigsäure (HEDTA), Salzen der Hydroxyethylethylendiamintriessigsäure, Tris-(hydroxymethyl)-aminomethan (Tris), NaCl, KCl, KBr, CaCl<sub>2</sub>, MgCl<sub>2</sub>, Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, NaHCO<sub>3</sub>, 1,2,3-Propantriol (Glycerol), Gluconsäure, Salzen der Gluconsäure, Bernsteinsäure, Salzen der Bernsteinsäure, Ameisensäure, Salzen der Ameisensäure, Essigsäure, Salzen der Essigsäure, Zitronensäure und Salzen der Zitronensäure handelt.
5. Verfahren gemäß einem der Ansprüche 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, dass es sich bei dem Additiv (A) um mindestens eine Verbindung ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus Citronensäure, Salzen der Citronensäure, Gluconsäure, Salzen der Gluconsäure, Bernsteinsäure und Salzen der Bernsteinsäure handelt.

6. Verfahren gemäß einem der Ansprüche 1 bis 5, dadurch gekennzeichnet, dass es sich bei dem Additiv (A) um Zitronensäure oder ein Salz der Citronensäure handelt.
7. Verfahren gemäß einem der Ansprüche 1 bis 6, dadurch gekennzeichnet, dass es sich bei den hydrophoben Oberflächen um Fußböden aus Kunststoff handelt.
8. Verfahren gemäß einem der Ansprüche 1 bis 7, dadurch gekennzeichnet, dass es sich bei den hydrophoben Oberflächen um Fußböden aus einem Material ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus Polyethylen PE, Polypropylen PP, Polyvinylchlorid PVC, Polyethylenterephthalat PET, Polyurethan PUR, Linoleum und Gummi handelt.
9. Verfahren gemäß einem der Ansprüche 1 bis 8, dadurch gekennzeichnet, dass es sich um eine Intensivreinigung handelt, und die Konzentrationen der Hydrophobin-Komponente (H) in der wässrigen Zusammensetzung von 20 bis 2.000 ppm beträgt.
10. Verfahren gemäß einem der Ansprüche 1 bis 8, dadurch gekennzeichnet, dass es sich um eine Unterhaltsreinigung handelt, und die Konzentrationen der Hydrophobin-Komponente (H) in der wässrigen Zusammensetzung von 0,05 bis 100 ppm beträgt.
11. Zusammensetzung zum Reinigen von hydrophoben Oberflächen, enthaltend folgende Komponenten:
- 90 bis 99,96 Gew.% an Lösemittel (L),  
wobei das Lösemittel mindestens 90 Gew. % Wasser enthält,  
0,05 bis 50.000 ppm mindestens eines Hydrophobins (H),  
5 bis 100.000 ppm mindestens eines nicht-grenzflächenaktiven,  
wasserlöslichen Additivs (A),  
und gegebenenfalls 0,01 bis 10.000 ppm eines Tensids (T),
- wobei das Gewichtsverhältnis von Additiv (A) zu Hydrophobin (H) von 2:1 bis 100:1 beträgt,  
und wobei das Additiv (A) ausgewählt ist aus der Gruppe bestehend aus: Citronensäure, Gluconsäure, Bernsteinsäure sowie jeweils deren Salzen.
12. Zusammensetzung zum Reinigen gemäß Anspruch 11 enthaltend folgende Komponenten:
- 90 bis 99,96 Gew.% an Lösemittel (L),  
wobei das Lösemittel mindestens 90 Gew. % Wasser enthält,  
1 bis 10.000 ppm mindestens eines Hydrophobins (H),  
5 bis 100.000 ppm mindestens eines nicht-grenzflächenaktiven,

wasserlöslichen Additivs (A),  
und gegebenenfalls 0,01 bis 10.000 ppm eines Tensids (T),

5 wobei das Gewichtsverhältnis von Additiv (A) zu Hydrophobin (H) von 5:1 bis 100:1  
beträgt, und wobei es sich bei dem Additiv (A) um Citronensäure oder ein Salz der  
Citronensäure handelt.

10 13. Verwendung einer wässrigen Zusammensetzung enthaltend mindestens ein  
Hydrophobin (H) und mindestens ein nicht-grenzflächenaktives, wasserlösliches Ad-  
ditiv (A) zur Reinigung von hydrophoben Oberflächen.

15 14. Verwendung einer wässrigen Zusammensetzung gemäß Anspruch 13, dadurch ge-  
kennzeichnet, dass sie 0,05 bis 50.000 ppm mindestens eines Hydrophobins (H) ent-  
hält.

20 15. Verwendung einer wässrigen Zusammensetzung gemäß Anspruch 13 oder 14, da-  
durch gekennzeichnet, dass es sich um die Reinigung von Kunststoff-Fußböden  
handelt.

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

|   |
|---|
| International application No<br>PCT/EP2011/061299 |
|---|

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER  
**INV. B08B7/00 C11D1/00 C11D3/38 C11D11/00**  
 ADD.  
 According to International Patent Classification (IPC) onto both national Classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED  
 Minimum documentation searched (Classification System followed by Classification Symbols)  
**B08B C11D**

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)  
**EPO-Internal , BIOSIS, WPI Data, Sequence Search**

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category* | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages   | Relevant to Claim No. |
|-----------|--|-----------------------|
| Y         | wo 2006/103215 AI (BASF AG [DE]; BECKER HEI KE [DE]; BOLLSCHWEI LER CLAUS [DE]; SUBKOWSKI T) 5 October 2006 (2006-10-05) Seite 14 Zei le 17- Seite 15 Zei le 40; Sei te Zei le 1-18; Bei spi el 9; Ansprüche 1-17<br>----- | 1-15                  |
| X         | wo 2007/014897 AI (BASF AG [DE]; B0ECKH DI ETER [DE]; SCHWENDEMANN VOLKER [DE]; BAUS ULF []) 8 February 2007 (2007-02-08) page 2, line 2 - line 6; Claims 17-26<br>-----   | 13 , 14               |
| Y         | wo 2008/110456 A2 (CIBA HOLDING INC [CH]; GABOR ESTHER [DE]; BUTHE ANDREAS [DE]; ECK JUER) 18 September 2008 (2008-09-18) page 8, line 13 - page 9, line 12; claim 2<br>-----  | 1-12 , 15             |
| Y         | wo 2008/110456 A2 (CIBA HOLDING INC [CH]; GABOR ESTHER [DE]; BUTHE ANDREAS [DE]; ECK JUER) 18 September 2008 (2008-09-18) page 8, line 13 - page 9, line 12; claim 2<br>-----  | 1-15                  |
|           | -/- .  |                       |

Further documents are listed in the continuation of Box C.       See patent family annex.

\* Special categories of cited documents :

|  |  |
|--|--|
| <p>"A" document defining the general State of the art which is not considered to be of particular relevance</p> <p>"E" earlier document but published on or after the international filing date</p> <p>"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)</p> <p>"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means</p> <p>"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed</p> | <p>"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention</p> <p>"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone</p> <p>"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.</p> <p>"&amp;" document member of the same patent family</p> |
|--|--|

|   |   |
|---|---|
| Date of the actual completion of the international search<br><b>26 October 2011</b> | Date of mailing of the international search report<br><b>08/11/2011</b> |
|---|---|

|  |   |
|--|---|
| Name and mailing address of the ISA/<br>European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2<br>NL - 2280 HV Rijswijk<br>Tel. (+31-70) 340-2040,<br>Fax: (+31-70) 340-3016 | Authorized officer<br><br><b>Moonen , Peter</b> |
|--|---|

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No  
PCT/EP2011/061299

| C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT |   |                       |
|--|---|-----------------------|
| Category*  | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages  | Relevant to Claim No. |
| Y  | wo 2009/050000 AI (BASF SE [DE] ; BARG HEI KO [DE] ; SUBKOWSKI THOMAS [DE] ; KAROS MARVIN [DE] 23 April 2009 (2009-04-23) Seite 22, Zeile 4- Zeile 6; page 14, line 29 - line 39<br>-----   | 1-15                  |
| A  | wo 2005/068087 A2 (APPLIED NANOSYSTEMS BV [NL] ; RINK RICK [NL] ; SCHOLTMEIJER KARIN [NL] ) 28 July 2005 (2005-07-28) Claims 1, 12-14; example 12<br>-----  | 1-15                  |
| A  | US 7 476 537 B2 (SWEIGARD JAMES A [US] ET AL) 13 January 2009 (2009-01-13) the whole document<br>-----  | 1-15                  |
| A  | wo 2005/033316 A2 (BASF AG [DE] ; OSTERMANN KAI [DE] ; ROEDEL GERHARD [DE] ) 14 April 2005 (2005-04-14) abstract; Claims 27-28<br>-----   | 1-15                  |
| A  | wo 96/41882 AI (PROEFSTATION V00R DE CHAMPIGNO [NL] ; RIJKSLANDBOUWH0GESCH00L [NL] ; GRI) 27 December 1996 (1996-12-27) page 9, line 16 - line 20<br>-----  | 1-15                  |
| A  | SCHOLTMEIJER K ET AL: "The use of hydrophobins to functionalize surfaces" , BIO-MEDICAL MATERIALS AND ENGINEERING, IOS PRESS, AMSTERDAM, NL, vol . 14, no. 4, 1 January 2004 (2004-01-01) , pages 447-454, XP008144381 , ISSN: 0959-2989 the whole document<br>-----                              | 1-15                  |
| A  | LINDER M B ET AL: "Hydrophobins: the protein-amphiphiles of filamentous fungi " , FEMS MICROBIOLOGY REVIEWS, ELSEVIER, AMSTERDAM, NL, vol . 29, no. 5, 1 November 2005 (2005-11-01) , pages 877-896, XP027666169 , ISSN: 0168-6445 [retrieved on 2005-11-01] paragraphs [06. 1] , [0007]<br>----- | 1-15                  |
|  | -/- .   |                       |

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No  
PCT/EP2011/061299

| C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT |   |                       |
|--|---|-----------------------|
| Category*  | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages  | Relevant to Claim No. |
| A, P   | <p>KeimFarben GmbH &amp; Co: "Technical Data Sheet: KEIM Hydrophobin-2000", DE-86420 Diendorf</p> <p>,<br/>April 2011 (2011-04), XP002662157,<br/>Retrieved from the Internet:<br/>URL: <a href="http://www.keimfarben.de/uploads/tx_keimproducts/ktm/5441/2/KEIM_Hydrophobin-2000.pdf">http://www.keimfarben.de/uploads/tx_keimproducts/ktm/5441/2/KEIM_Hydrophobin-2000.pdf</a><br/>[retrieved on 2011-11-26]<br/>the whole document</p> <p>-----</p> | 1-15                  |

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/EP2011/061299

| Patent document cited in search report | Publication date | Patent family member(s) | Publication date            |
|--|------------------|-------------------------|-----------------------------|
| Wo 2006103215                          | AI               | 05-10 -2006             | AT 483009 T 15-10-2010      |
|  |                  |                         | CA 2602155 AI 05-10-2006    |
|  |                  |                         | EP 1866401 AI 19-12-2007    |
|  |                  |                         | JP 2008534726 A 28-08-2008  |
|  |                  |                         | KR 20080000590 A 02-01-2008 |
|  |                  |                         | US 2009305930 AI 10-12-2009 |
|  |                  |                         | -----                       |
| Wo 2007014897                          | AI               | 08-02 -2007             | AT 485359 T 15-11-2010      |
|  |                  |                         | AU 2006274836 AI 08-02-2007 |
|  |                  |                         | BR PI0614703 A2 23-08-2011  |
|  |                  |                         | CA 2617092 AI 08-02-2007    |
|  |                  |                         | CN 101233220 A 30-07-2008   |
|  |                  |                         | EP 1913123 AI 23-04-2008    |
|  |                  |                         | ES 2352970 T3 24-02-2011    |
|  |                  |                         | JP 2009503280 A 29-01-2009  |
|  |                  |                         | KR 20080041228 A 09-05-2008 |
|  |                  |                         | US 2009101167 AI 23-04-2009 |
|  |                  |                         | ZA 200801881 A 26-08-2009   |
|  |                  |                         | -----                       |
| wo 2008110456                          | A2               | 18-09 -2008             | AU 2008225890 AI 18-09-2008 |
|  |                  |                         | CA 2679719 AI 18-09-2008    |
|  |                  |                         | EP 2134901 A2 23-12-2009    |
|  |                  |                         | US 2010330384 AI 30-12-2010 |
| -----                                  |                  |                         |                             |
| wo 2009050000                          | AI               | 23-04 -2009             | CA 2699575 AI 23-04-2009    |
|  |                  |                         | CN 101868224 A 20-10-2010   |
|  |                  |                         | EP 2042155 AI 01-04-2009    |
|  |                  |                         | EP 2042156 AI 01-04-2009    |
|  |                  |                         | EP 2205206 AI 14-07-2010    |
|  |                  |                         | JP 2010540486 A 24-12-2010  |
|  |                  |                         | KR 20100063132 A 10-06-2010 |
|  |                  |                         | US 2010311629 AI 09-12-2010 |
| -----                                  |                  |                         |                             |
| wo 2005068087                          | A2               | 28-07 -2005             | CN 1909979 A 07-02-2007     |
|  |                  |                         | EP 1703994 A2 27-09-2006    |
|  |                  |                         | US 2007166346 AI 19-07-2007 |
| -----                                  |                  |                         |                             |
| US 7476537                             | B2               | 13-01 -2009             | US 2007298490 AI 27-12-2007 |
|  |                  |                         | US 2006040349 AI 23-02-2006 |
| -----                                  |                  |                         |                             |
| wo 2005033316                          | A2               | 14-04 -2005             | CA 2537492 AI 14-04-2005    |
|  |                  |                         | CN 1852983 A 25-10-2006     |
|  |                  |                         | DE 10342794 AI 21-04-2005   |
|  |                  |                         | EP 1664306 A2 07-06-2006    |
|  |                  |                         | JP 2007505602 A 15-03-2007  |
|  |                  |                         | US 2007077619 AI 05-04-2007 |
| -----                                  |                  |                         |                             |
| wo 9641882                             | AI               | 27-12 -1996             | AU 5914196 A 09-01-1997     |
| -----                                  |                  |                         |                             |

## Feld Nr. I Nucleotid- und/oder Aminosäuresequenz(en) (Fortsetzung von Punkt 1 c) auf Blatt 1)

1. Hinsichtlich der **Nucleotid- und/oder Aminosäuresequenz**, die in der internationalen Anmeldung offenbart wurde und für die beanspruchte Erfindung erforderlich ist, ist die internationale Recherche auf folgender Grundlage durchgeführt worden:
- a. (Form)
- in Papierform
- in elektronischer Form
- b. (Zeitpunkt)
- in der eingereichten internationalen Anmeldung
- zusammen mit der internationalen Anmeldung in elektronischer Form
- bei dieser Behörde nachträglich für die Zwecke der Recherche eingereicht wurde.
2.  Wurden mehr als eine Version oder Kopie eines Sequenzprotokolls und/oder einer dazugehörigen Tabelle eingereicht, so sind zusätzlich die erforderlichen Erklärungen, dass die Information in den nachgereichten oder zusätzlichen Kopien mit der Information in der Anmeldung in der eingereichten Fassung übereinstimmt bzw. nicht über sie hinausgeht, vorgelegt worden.
3. Zusätzliche Bemerkungen:

**A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES**  
 INV. B08B7/00 C11D1/00 C11D3/38 C11D11/00  
 ADD.  
 Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPC) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPC

**B. RECHERCHIERTE GEBIETE**  
 Recherchiertes Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole )  
 B08B C11D

Recherchierte, aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)  
 EPO-Internal , BIOSIS, WPI Data, Sequence Search

**C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN**

| Kategorie* | Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile  | Betr. Anspruch Nr. |
|------------|---|--------------------|
| Y          | wo 2006/103215 AI (BASF AG [DE]; BECKER HEI KE [DE]; BOLLSCHWEI LER CLAUS [DE]; SUBKOWSKI T) 5. Oktober 2006 (2006-10-05) Seite 14 Zei le 17- Seite 15 Zei le 40; Seite Zei le 1-18; Bei spi el 9; Ansprüche 1-17 | 1-15               |
| X          | wo 2007/014897 AI (BASF AG [DE]; BÖECKH DI ETER [DE]; SCHWENDEMANN VOLKER [DE]; BAUS ULF []) 8. Februar 2007 (2007-02-08) Seite 2, Zei le 2 - Zei le 6; Ansprüche 17-26   | 13, 14             |
| Y          | wo 2008/110456 A2 (CIBA HOLDING INC [CH]; GABOR ESTHER [DE]; BUTHE ANDREAS [DE]; ECK JUER) 18. September 2008 (2008-09-18) Seite 8, Zei le 13 - Seite 9, Zei le 12; Anspruch 2                                    | 1-12, 15           |
| Y          | wo 2008/110456 A2 (CIBA HOLDING INC [CH]; GABOR ESTHER [DE]; BUTHE ANDREAS [DE]; ECK JUER) 18. September 2008 (2008-09-18) Seite 8, Zei le 13 - Seite 9, Zei le 12; Anspruch 2                                    | 1-15               |
|            | -----<br>-/-  |                    |

Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen  Siehe Anhang Patentfamilie

\* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :  
 "A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist  
 "E" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist  
 "L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft er-scheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)  
 "O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht  
 "P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist  
 "T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist  
 "X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden  
 "Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist  
 "&" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

|   |   |
|---|---|
| Datum des Abschlusses der internationalen Recherche | Absendedatum des internationalen Recherchenberichts |
| 26. Oktober 2011                                    | 08/11/2011  |

|  |   |
|--|---|
| Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde<br>Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2<br>NL - 2280 HV Rijswijk<br>Tel. (+31-70) 340-2040,<br>Fax: (+31-70) 340-3016 | Bevollmächtigter Bediensteter<br><br>Moonen , Peter |
|--|---|

| C. (Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN |  |                    |
|---|--|--------------------|
| Kategorie*  | Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile   | Betr. Anspruch Nr. |
| Y   | wo 2009/050000 AI (BASF SE [DE] ; BARG HEIKO [DE] ; SUBKOWSKI THOMAS [DE] ; KAROS MARVIN [DE] 23. April 2009 (2009-04-23)<br>Seite 22, Zeile 4- Zeile 6;<br>Seite 14, Zeile 29 - Zeile 39<br>-----   | 1-15               |
| A   | wo 2005/068087 A2 (APPLIED NANOSYSTEMS BV [NL] ; RINK RICK [NL] ; SCHOLTMEIJER KARIN [NL] ) 28. Juli 2005 (2005-07-28)<br>Ansprüche 1, 12-14; Beispiel 12<br>-----   | 1-15               |
| A   | US 7 476 537 B2 (SWEIGARD JAMES A [US] ET AL) 13. Januar 2009 (2009-01-13)<br>das ganze Dokument<br>-----  | 1-15               |
| A   | wo 2005/033316 A2 (BASF AG [DE] ; OSTERMANN KAI [DE] ; ROEDEL GERHARD [DE] ) 14. April 2005 (2005-04-14)<br>Zusammenfassung; Ansprüche 27-28<br>-----  | 1-15               |
| A   | wo 96/41882 AI (PROEFSTATION VOOR DE CHAMPIGNO [NL] ; RIJSLANDBOUWHOGESCHOOL [NL] ; GRI) 27. Dezember 1996 (1996-12-27)<br>Seite 9, Zeile 16 - Zeile 20<br>-----   | 1-15               |
| A   | SCHOLTMEIJER K ET AL: "The use of hydrophobins to functionalize surfaces" , BIO-MEDICAL MATERIALS AND ENGINEERING, IOS PRESS, AMSTERDAM, NL,<br>Bd. 14, Nr. 4, 1. Januar 2004 (2004-01-01)<br>, Seiten 447-454, XP008144381 ,<br>ISSN: 0959-2989<br>das ganze Dokument<br>-----  | 1-15               |
| A   | LINDER M B ET AL: "Hydrophobins: the protein-amphiphiles of filamentous fungi" , FEMS MICROBIOLOGY REVIEWS, ELSEVIER, AMSTERDAM, NL,<br>Bd. 29, Nr. 5,<br>1. November 2005 (2005-11-01) , Seiten 877-896, XP027666169 ,<br>ISSN: 0168-6445<br>[gefunden am 2005-11-01]<br>Absätze [06. 1] , [0007]<br>-----  | 1-15               |
| A, P  | KeimFarben GmbH & Co: "Technical Data Sheet: KEIM Hydrophobin-2000" , DE-86420 Diendorf<br>,<br>April 2011 (2011-04) , XP002662157 ,<br>Gefunden im Internet:<br>URL: <a href="http://www.keimfarben.de/uploads/tx_keimproducts/ktm/5441/2/KEIM_Hydrophobin-2000.pdf">http://www.keimfarben.de/uploads/tx_keimproducts/ktm/5441/2/KEIM_Hydrophobin-2000.pdf</a><br>[gefunden am 2011-11-26]<br>das ganze Dokument<br>----- | 1-15               |

## INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP2011/061299

| Im Recherchenbericht<br>angeführtes Patentdokument | Datum der<br>Veröffentlichung | Mitglied(er) der<br>Patentfamilie | Datum der<br>Veröffentlichung |
|--|-------------------------------|-----------------------------------|-------------------------------|
| WO 2006103215 AI                                   | 05-10-2006                    | AT 483009 T                       | 15-10-2010                    |
|  |                               | CA 2602155 AI                     | 05-10-2006                    |
|  |                               | EP 1866401 AI                     | 19-12-2007                    |
|  |                               | JP 2008534726 A                   | 28-08-2008                    |
|  |                               | KR 20080000590 A                  | 02-01-2008                    |
|  |                               | US 2009305930 AI                  | 10-12-2009                    |
| WO 2007014897 AI                                   | 08-02-2007                    | AT 485359 T                       | 15-11-2010                    |
|  |                               | AU 2006274836 AI                  | 08-02-2007                    |
|  |                               | BR PI0614703 A2                   | 23-08-2011                    |
|  |                               | CA 2617092 AI                     | 08-02-2007                    |
|  |                               | CN 101233220 A                    | 30-07-2008                    |
|  |                               | EP 1913123 AI                     | 23-04-2008                    |
|  |                               | ES 2352970 T3                     | 24-02-2011                    |
|  |                               | JP 2009503280 A                   | 29-01-2009                    |
|  |                               | KR 20080041228 A                  | 09-05-2008                    |
|  |                               | US 2009101167 AI                  | 23-04-2009                    |
|  |                               | ZA 200801881 A                    | 26-08-2009                    |
| WO 2008110456 A2                                   | 18-09-2008                    | AU 2008225890 AI                  | 18-09-2008                    |
|  |                               | CA 2679719 AI                     | 18-09-2008                    |
|  |                               | EP 2134901 A2                     | 23-12-2009                    |
|  |                               | US 2010330384 AI                  | 30-12-2010                    |
| WO 2009050000 AI                                   | 23-04-2009                    | CA 2699575 AI                     | 23-04-2009                    |
|  |                               | CN 101868224 A                    | 20-10-2010                    |
|  |                               | EP 2042155 AI                     | 01-04-2009                    |
|  |                               | EP 2042156 AI                     | 01-04-2009                    |
|  |                               | EP 2205206 AI                     | 14-07-2010                    |
|  |                               | JP 2010540486 A                   | 24-12-2010                    |
|  |                               | KR 20100063132 A                  | 10-06-2010                    |
|  |                               | US 2010311629 AI                  | 09-12-2010                    |
| WO 2005068087 A2                                   | 28-07-2005                    | CN 1909979 A                      | 07-02-2007                    |
|  |                               | EP 1703994 A2                     | 27-09-2006                    |
|  |                               | US 2007166346 AI                  | 19-07-2007                    |
| US 7476537 B2                                      | 13-01-2009                    | US 2007298490 AI                  | 27-12-2007                    |
|  |                               | US 2006040349 AI                  | 23-02-2006                    |
| WO 2005033316 A2                                   | 14-04-2005                    | CA 2537492 AI                     | 14-04-2005                    |
|  |                               | CN 1852983 A                      | 25-10-2006                    |
|  |                               | DE 10342794 AI                    | 21-04-2005                    |
|  |                               | EP 1664306 A2                     | 07-06-2006                    |
|  |                               | JP 2007505602 A                   | 15-03-2007                    |
|  |                               | US 2007077619 AI                  | 05-04-2007                    |
| WO 9641882 AI                                      | 27-12-1996                    | AU 5914196 A                      | 09-01-1997                    |