

UŽITNÝ VZOR

(11) Číslo dokumentu:

37 498

(13) Druh dokumentu: **U1**

(51) Int. Cl.:

C08K 3/32 (2006.01)
C08K 3/30 (2006.01)
C08K 5/47 (2006.01)
C08K 5/205 (2006.01)
C08K 5/1535 (2006.01)
C08K 11/00 (2006.01)
C08K 7/02 (2006.01)
C08L 67/06 (2006.01)
C08L 29/14 (2006.01)
B82Y 30/00 (2011.01)

(19)
ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD
PRŮMYSLOVÉHO
VLASTNICTVÍ

(21) Číslo přihlášky: **2023-41397**
(22) Přihlášeno: **19.10.2023**
(47) Zapsáno: **20.11.2023**

- (73) Majitel:
Technická univerzita v Liberci, Liberec, Liberec I-
Staré Město, CZ
EPS biotechnology, s.r.o., Kunovice, CZ
- (72) Původce:
Ing. Karel Havlíček, Ph.D., Pěnčín, CZ
Mgr. Ing. Lukáš Dvořák, Ph.D., Praha 8, Libeň, CZ
Ing. Petr Beneš, Ph.D., Praha 6, Dejvice, CZ
Ing. Vít Paulíček, Praha 4, Nusle, CZ
Ing. Miroslav Minařík, Kunovice, CZ
Ing. Vlastimil Píštěk, Uherské Hradiště, Jarošov,
CZ
Ing. Vojtěch Beneš, Ph.D., Nymburk, CZ
Ing. Martina Siglová, Ph.D., Praha 8, Troja, CZ
- (74) Zástupce:
Hák, Janeček & Švestka, Patentová a známková
kancelář, Mgr. Jaroslav Švestka, U průhonu 827/5,
170 00 Praha 7, Holešovice

- (54) Název užitého vzoru:
**Kompozitní nanovláknenný nosič s
integrovanou živinovou složkou**

CZ 37498 U1

Kompozitní nanovláknenný nosič s integrovanou živinovou složkou

Oblast techniky

5

Technické řešení se obecně týká oblasti vinařství, konkrétněji pak kompozitního nanovláknenného nosiče s integrovanou živinovou složkou určeného pro zachytávání (sběr) specifických vinařských mikroorganismů a/nebo podporu jejich viability v průběhu technologického vinařského procesu.

10

Dosavadní stav techniky

Majoritní podíl vín je vyráběn s použitím řízené fermentace zahajované inokulací dodanou kulturou kvasinek. Při procesu fermentace vinného moštu tedy hrají kvasinky klíčovou roli. Ze strany producentů existuje kontinuální poptávka po nových kmenech s různými specifickými vlastnostmi, či s neobvyklými sensorickými projevy. Možnosti získání nových kmenů jsou přitom v konzervativním vinařském prostředí značně omezené a z velké míry závisí na izolaci nových kmenů prospekci z vinařského/vinohradnického prostředí.

Využívané technologie zahrnují například mikrokapsle obsahující živiny nebo kvasinky, které mohou být přidány přímo do vinného moštu. Tyto kapsle uvolňují živiny nebo kvasinky postupně během fermentace, což zajišťuje optimální podmínky pro růst a fermentaci. Další možností jsou bioreaktory, které umožňují kultivaci kvasinek v kontrolovaném prostředí, což má rozhodující vliv na efektivní růst biomasy a zároveň vede k vytvoření silných a zdravých kultur kvasinek. Tyto kvasinky mohou být následně přidány do moštu. Další teoretickou možností pak představují geneticky upravené kvasinky. Využití geneticky modifikovaných kvasinek má výrazný potenciál ovlivnit jak fermentační schopnost kvasinek, tak sensorický profil výsledného vína. Tyto kvasinky mohou být konstruovány tak, aby lépe zvládaly specifické podmínky technologického procesu vinifikace. Současná evropská legislativa, ani pravidla Mezinárodní organizace pro víno a révu, však využití GMO neumožňují.

Existuje však potřeba dalších a účinnějších možností získávání a konzervace kvasinek a dalších vinařských mikroorganismů. Tuto potřebu naplňuje kompozitní nanovláknenný nosič s integrovanou živinovou složkou podle předloženého technického řešení.

35

Podstata technického řešení

Předložené technické řešení se týká kompozitního nanovláknenného nosiče s integrovanou živinovou složkou pro sběr a/nebo uchování vinařských mikroorganismů. Nosič může mít několik základních forem, které mohou sloužit k různým cílovým aplikacím.

Ve všech aspektech je základem a aktivní částí nosiče kompozitní nanovláknenná struktura plošného typu o plošné hmotnosti 10 až 20 g/m² z polymerů rozpustných v organických rozpouštědlech a jednoho nebo více aditiv vybraných ze skupiny obsahující cukry, peptidové hydrolyzáty, vitaminy, kvasničný extrakt, antibiotika a anorganické soli s obsahem dusíku, fosforu nebo zinku. Do plošné nanovláknenné struktury jsou účelně inkorporována aditiva, která zajišťují selektivitu, podporu adheze a životaschopnosti kvasinek. Aktivní část nosiče slouží zejména ke sběru, selektivní kultivaci a konzervaci (uchování) vinařských kvasinek.

50

Pro přípravu nosičů lze použít pouze takové polymery, které splňují požadavky pro cílovou aplikaci. V případě nosiče, který slouží pouze ke sběru mikroorganismů a nepříjde do přímého styku s potravinářským produktem, lze použít například polyvinylbutyral (PVB), který na základě dlouhodobých výzkumných prací je velmi vhodný pro adhezi mikroorganismů (materiál s hydrofobními vlastnostmi a vhodnou drsností povrchu). Nosič, jenž přichází do přímého styku

55

s potravinami, musí být nezávadný (vhodný pro potravinářství). To splňuje například polykaprolakton (PCL) – nejen z hlediska nezávadnosti, ale také má vhodnou drsnost povrchu a je dlouhodobě stabilní. Polymery musí být dobře rozpustné v organických rozpouštědlech (například etanol, chloroform a jejich směsi) a jejich polymerní roztoky musí umožnit homogenní distribuci vybraných aditiv. Výhodnými polymery jsou tedy zejména polyvinylbutyral (PVB) a polykaprolakton (PCL).

Jako aditiva lze použít takové látky, které lze zvolenou zvláknovací metodou přenést z polymerního roztoku do samotné struktury nanovláken. V tomto případě se jedná o cukry (například glukosa), peptidové hydrolyzáty (například pepton), vitaminy (například thiamin), kvasničný extrakt, antibiotika (například tetracyklin a/nebo kanamycin A), anorganické soli s obsahem dusíku, fosforu nebo zinku, tedy prvků nezbytných pro mikroorganismy (například dihydrogenfosforečnan amonný a síran zinečnatý).

Aditiva se zvolí dle potřeby, tedy dle cílové aplikace. Např. pokud je cílem selektivně podpořit adhezi a životaschopnost vinařských kvasinek, budou do polymerního roztoku přidána vhodná antibiotika pro potlačení růstu nežádoucích bakterií a dále budou přidány vhodné živiny (v tomto případě cukry). V případě nosiče, který bude sloužit pro konzervaci kvasinek a následné rozkvašení vinného moštu budou využity mikronutrienty, jež podporují udržení vitality a viability kvasinek v průběhu procesu konzervace, uchovávání, reaktivace a rozkvašení.

Výběr aditiv je tedy závislý na druhu polymeru, resp. na vlastnostech polymerního roztoku, na vlastnostech samotných aditiv (vodivost, velikost částic apod.) a samozřejmě na cílové aplikaci nanovláknenného nosiče. Množství použitých aditiv se zvolí dle provedených testů s různými koncentračními řadami; vhodné koncentrace mohou být například: glukosa – 20 g/kg, pepton – 20 g/kg, kvasničný extrakt – 10 g/kg, tetracyklin – 10 mg/kg, kanamycin A – 50 mg/kg, $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ – 2 g/kg, ZnSO_4 – 1 mg/kg, thiamin – 0,5 mg/kg. Koncentrace aditiv je vždy uvedena na jeden kg kompozitní nanovláknenné struktury.

Nanovláknenná struktura může být vyrobena například metodou DC elektrostatického zvláknování (zvláknování s využitím stejnosměrného proudu). V první fázi je připraven roztok vybraného polymeru, do kterého jsou přidána a homogenně distribuována vybraná aditiva následně plnicí svou funkcí. Aditiva musí být zvolena s ohledem na požadavky mikroorganismů, ale také s ohledem na principy zvláknování (aby došlo k přechodu aditiv z polymerního roztoku do nanovláknenné vrstvy). Připravený homogenní roztok s aditivou je zvlákněn například pomocí technologie NanospiderTM s využitím například struny jako elektrody, za definovaných podmínek (vlhkost, teplota, atmosférický tlak, napětí apod.). Připravená nanovláknenná vrstva je následně sterilizována etylenoxidem a připravena pro konkrétní aplikaci.

V jednom provedení má nosič primárně sloužit k uchovávání vinařských mikroorganismů (kvasinek) a jejich následnému použití při rozkvašení vinného moštu. V tomto provedení má kompozitní nanovláknenná struktura výhodně plošnou hmotnost 20 g/m² a obsahuje následující aditiva: $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$, ZnSO_4 a thiamin.

V rámci jednoho výhodného provedení nanovláknenná struktura obsahuje 2 g $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$, 1 mg ZnSO_4 , a 0,5 mg thiaminu, a to vždy na jeden kg kompozitní nanovláknenné struktury.

V rámci dalšího výhodného provedení je polymerem rozpustným v organických rozpouštědlech polykaprolakton.

V dalším provedení má nosič primárně sloužit ke sběru kvasinek na vinici. V tomto provedení nosič kromě aktivní části - plošné kompozitní nanovláknenné struktury s aditivou - zahrnuje dále ochranný obal z polymerního materiálu opatřený otvory. Otvory mohou být větší (například v průměru 0,8 cm), opatřené dále mřížkou, nebo menší (například 0,4 cm) bez mřížky. Obal chrání nanovláknennou strukturu a zachycené kvasinky před nežádoucími mechanickými vlivy okolního

prostředí (oděr, zvěř apod.). Plocha nanovláken je typicky uspořádána do tvaru, který odpovídá obalu, tedy například do více méně kulovitého tvaru. Nanovláknenná struktura ale může být využita v různých formách.

- 5 Ochranný obal je vyrobený z polymerního materiálu, kterým může být např. fotopolymerní pryskyřice nebo jiný vhodný polymer, a to například pomocí 3D tisku SLA nebo SLS technologií. Jako polymer může být použit jakýkoliv materiál pro 3D tisk, který splňuje následující požadavky – UV odolný, pevný a netoxický. Připravený obal obsahuje definované otvory, umožňující vstup kvasinek k jádru nosiče (k povrchu aditivovaných nanovláken).

10

V rámci jednoho výhodného provedení má kompozitní nanovláknenná struktura plošnou hmotnost 15 g/m² a obsahuje následující aditiva: glukosa, pepton, kvasničný extrakt, tetracyklin a kanamycin A.

- 15 V rámci jednoho výhodného provedení nanovláknenná struktura obsahuje 20 g glukosy, 20 g peptonu, 10 g kvasničného extraktu, 10 mg tetracyklinu a 50 mg kanamycinu A, a to vždy na jeden kg kompozitní nanovláknenné struktury.

- 20 V rámci dalšího výhodného provedení je polymerem rozpustným v organických rozpouštědlech polyvinylbutyral.

Cílová aplikace těchto nosičů je potom ve vinařském oboru, konkrétně jako prospekční nosič do vinic nebo konzervační/inokulační nosič ve vinařských procesech.

- 25 Nanovláknenný nosič pro prospekci (sběr) vinařských kvasinek v reálném prostředí vinné révy slouží jako článek procesu přípravy unikátních vín, která v maximální míře odráží specifické podmínky konkrétního vinohradu (terroir vína). Nosič bude sloužit jako efektivní „sběrač“ kvasinek přímo na vinici. Architektura nosiče je koncipována tak, aby bylo možné nosič snadno umístit do prostoru vinné révy a snadno s ním manipulovat. Nosič nabízí podmínky simulující
- 30 přirozené prostředí výskytu vinařských kvasinek – porušená zrající bobule – a umožní jejich sofistikovanou selektivní prospekci. Konkrétní podoba nanovláknenného nosiče pro prospekci – „sběrače“ se může lišit podle požadavků konkrétního vinaře. Kritickým předpokladem je neutrální vliv použitých kompozitních (nano)materiálů na zachycené kvasinky a jejich snadná

35

Konzervační/inokulační nosič s vhodnými aditivami na druhou stranu slouží v stěžejní části výroby vína, a to při rozkvašení. Konzervované kvasinky (z daných vinic) se použijí při rozkvašení vinného moštu s tím, že výsledné víno bude silněji odrážet charakter lokálních vinic, odkud kvasinky pochází.

40

Příklady uskutečnění technického řešení

- 45 Rozumí se, že níže popsané příklady provedení technického řešení slouží pouze pro ilustraci a nemají za cíl omezit technické řešení na tyto příklady. Odborník v daném oboru bude samozřejmě schopen za pomoci rutinního experimentování připravit ekvivalenty ke specifickým provedením technického řešení popsaným v tomto dokumentu. I tyto ekvivalenty jsou přitom zahrnuty do rozsahu ochrany vymezeného následujícími nároky na ochranu.

- 50 **Příklad 1**

Byl vyroben nosič určený ke konzervaci kvasinek a následnému rozkvašení vinného moštu s následujícími parametry:

- nanovláknenná vrstva s aditivou o velikosti 50x50 cm s plošnou homogenní strukturou a s plošnou hmotností 20 g/m²
- polymer: polykaprolakton (PCL)
- aditiva: NH₄H₂PO₄ - 2 g/kg, ZnSO₄ - 1 mg/kg, thiamin – 0,5 mg/kg

5

Do zvláknovacího polymerního roztoku (16% PCL v roztoku chloroform:etanol 8:2) byla přidána aditiva. Celý roztok byl míchán do dosažení homogenity. Polymerní roztok byl následně vložen do zásobníku zvláknovacího zařízení (Nanospider™) a dle nastavených parametrů byla postupně tvořená nanovláknenná vrstva sbírána na kolektor. Vrstvy byly sterilizovány etylenoxidem.

10

Struktura nanovláken je homogenní s kapkovitými defekty a větší distribucí tloušťky jednotlivých vláken, což je běžné pro PCL materiály. Aditiva jsou více méně rovnoměrně roz distribuována do polymerní matrice.

15

Příklad 2

Byl vyroben nosič určený pro sběr kvasinek na vinicích s následujícími parametry:

20

- kulovitý obal z fotopolymerní pryskyřice připravený 3D tiskem SLA technologií s průměrem 5 cm a s mřížovanými otvory o velikosti 0,8 cm rozmístěnými pravidelně po povrchu obalu
- nanovláknenná vrstva s aditivou o velikosti 6x6 cm s plošnou homogenní strukturou a s plošnou hmotností 15 g/m²
- polymer: polyvinylbutyral (PVB)
- aditiva: glukosa – 20 g/kg, pepton – 20 g/kg, kvasničný extrakt – 10 g/kg, tetracyklin – 10 mg/kg, kanamycin A – 50 mg/kg

25

30

Do zvláknovacího polymerního roztoku (10% PVB v etanolu) byla přidána aditiva. Celý roztok byl míchán do dosažení homogenity. Polymerní roztok byl následně vložen do zásobníku zvláknovacího zařízení (Nanospider™) a dle nastavených parametrů byla postupně tvořená nanovláknenná vrstva sbírána na kolektor. Vrstvy byly sterilizovány etylenoxidem.

35

Struktura nanovláken je poměrně homogenní s jemnými defekty, které nemají vliv na funkčnost nosičů. Aditiva jsou více méně rovnoměrně roz distribuována do polymerní matrice.

40

Nanovláknenná vrstva je umístěna do obalu z fotopolymerní pryskyřice.

Příklad 3

Pro ověření funkčnosti nanovláknenných nosičů kvasničné biomasy byl v přítomnosti těchto nosičů kultivován běžný komerční kmen vinařské kvasinky Zymaflore X5 (*Saccharomyces cerevisiae*). Povrch materiálu byl sledován mikroskopicky a byla stanovena metabolická aktivita adheovaných buněk.

45

Výsledky prokázaly přítomnost buněk na nosiči, a to nejenom na jeho povrchu, ale uvnitř celé struktury.

50

Metabolická aktivita buněk zachycených na nosiči byla porovnávána s aktivitou buněk zachycených v kontrolní jamce bez nosiče. Pozorovaná optická denzita u všech vzorků s nosičem převyšuje hodnotu kontroly o cca 50 až 100 %.

55

Provedené experimenty poskytují důkazy o schopnosti *S. cerevisiae* kolonizovat testované nanovláčkové materiály. Pozorované buňky na nosičích jsou viabilní a metabolicky aktivní, bez problémů proliferují a vytváří biomasu. Materiály tak lze z pohledu biokompatibility považovat za způsobilé.

Příklad 4

Na prospekčním nosiči (viz příklad 2), který byl umístěn na vinice po dobu několika týdnů (3 různé lokace), byla pomocí metod molekulární-biologie a SEM určena přítomnost kvasinek. Nanovláčková aditivovaná vrstva PVB byla za pomoci sterilních nástrojů vyjmuta z konstrukce (ochranného obalu) jež spolu s nanovláčkou tvoří nosič jako celek. Pro každé stanovení potom byl ustrižen požadovaný kus nanovláčkového materiálu a podroben analýzám (izolace DNA pomocí kitu NucleoSpin Soil (Macherey-Nagel, Německo), sekvenace nové generace, tj. next-generation sequencing (NGS) na systému Ion Torrent Genexus System (Thermo Fisher Scientific).

Na nosičích z vinic byly detekovány tři rody kvasinek *Starmerella* (*Starmerella bacillaris*), *Saccharomyces* (*Saccharomyces cerevisiae* a *Saccharomyces paradoxus*) a *Rhodotorula*. Dále byly na nosičích z vinic identifikovány plísňe *Aureobasidium*, *Epicoccum*, *Alternaria*, a *Botrytis*, jejichž zástupci patří mezi nejhojnější druhy šířící se vzduchem. Kromě plísní byly pravděpodobně prostřednictvím výtrusů na nosičích detekovány houby z rodů *Inocybe* (vláčnice), *Coprinellus* (hnojník) a *Amphinema* (pavučiník).

Byla tedy potvrzena schopnost nosiče zachytit relevantní mikroflóru hroznů a umožnit její selektivní izolaci.

Příklad 5

Použitý konzervační/inokulační nosič (viz příklad 1) byl po ukončení hlavního kvašení dále sledován, a zejména byly sledovány stav nanovláčkového materiálu nosiče (míra degradace) a přítomnost cizích mikroorganismů. PCL nanovláčková vrstva zcela zachovala svoji původní strukturu a nebyla vůbec mechanicky poškozena. Navíc bylo na materiálu vidět značné množství zachycené kvasničné biomasy.

Byla provedena základní mikrobiologická zkouška (na agaru) na přítomnost kvasinek na nanovláčkových materiálech, kde byly zjištěny kvasinky, ale nebyla zjištěna přítomnost plísní.

Na vzorcích bylo konsorcium tvořeno zejména majoritními taxony, tedy byla na nich pozorována nižší mikrobiální diverzita v porovnání s dříve testovanými nosiči z vinic. Na vzorcích byly dominantní kvasinky z řádu *Saccharomycetales*: *Saccharomyces* (85 %), *Starmerella* (9 %), *Metschnikowia* (2 %) a *Hanseniaspora* (1,5 %).

Je patrné, že kvasinky pokrývají celý nanovláčkový povrch a je tedy jednoznačně prokázáno, že nosiče plní svůj účel.

Průmyslová využitelnost

Uplatnitelnost těchto nosičů se nachází především ve vinařství, a to v různých stupních. Prospekční nosič obsahující vhodná aditiva se použije již na počátku, tedy ve vinicích, kde slouží ke sběru lokálních vinařských kvasinek. Konzervační/inokulační nosič s vhodnými aditivami se zase použije v stěžejní části výroby vína, a to při rozkvášení. Konzervované kvasinky (z daných vinic) se použijí při rozkvášení vinného moštu s tím, že výsledné víno bude silněji odrážet charakter lokálních vinic, odkud kvasinky pochází.

Využití kompozitních nanovlákných nosičů usnadňuje sběr kvasinek přímo z vinic. Součástí těchto nosičů mohou být materiály, které mají afinitu ke kvasničným buňkám, obsahují aditiva s pozitivním vlivem na životaschopnost kvasinek a inhibující růst ostatních mikroorganismů. To v konečném důsledku přispívá k rychlejší a čistší izolaci kvasinek z přírodního prostředí.

5

Využití kompozitních nanovlákných nosičů pro sběr vinařských kvasinek přímo z vinic může přinést několik výhod. Tyto nosiče mohou být navrženy tak, aby preferenčně podporovaly záchyt saccharomycetních kvasinek, což usnadňuje jejich separaci od ostatních mikroorganismů v prostředí vinice. Kromě toho mohou nanovlákná poskytovat vhodné podmínky pro růst kvasinek, což může zvýšit schopnost přežití a následnou kultivovatelnost sbíraných kvasinek. Tato technologie může být šetrnější k životnímu prostředí a pracovně i materiálově efektivnější než tradiční metody sběru kvasinek.

10

Integrace vinařských kvasinek s kompozitními nanovláknými nosiči může mít také velký potenciál při procesu rozkvašování vinného moštu. Kvasinky vázané v konzervované podobě na nosiči mohou být snadno přidány do moštu pro rychlé a spolehlivé zahájení fermentace. Nosič během fermentace představuje optimální prostředí pro proliferaci a metabolickou aktivitu kvasinek, což může vést ke zvýšení spolehlivosti vinifikace s nižšími riziky předčasného ukončení fermentace, rozvoje nežádoucí mikroflóry a vzniku senzorických vad.

15

Integrace nanovlákných nosičů s vinařskými kvasinkami může vést k optimalizaci vinifikace, včetně souvisejících technologických operací. Nosiče mohou posloužit jako transportní prostředek pro přidání kvasinek do moštu, čímž se zajišťuje rychlý a spolehlivý start fermentace. Kvasinky vázané na nosiči mohou efektivně kvasit mošt, přičemž nosič poskytuje vhodné mikroprostředí pro jejich růst a metabolickou aktivitu.

20

Pokročilé kompozitní nanovlákné nosiče mohou hrát klíčovou roli i při konzervaci vinařských kvasinek. Kvasinky mohou být naneseny na povrch nosiče, který poskytne ochranu před nepříznivými vlivy během konzervace a uchovávání, jako jsou teplotní změny, vysoušení, působení kyslíku nebo UV záření. Tím se prodlouží životnost kvasinek a zároveň se udrží jejich vitalita a technologické vlastnosti.

25

30

NÁROKY NA OCHRANU

- 5 1. Kompozitní nanovláknenný nosič s integrovanou živinovou složkou pro sběr a/nebo uchovávání vinařských mikroorganismů, **vyznačující se tím**, že zahrnuje kompozitní nanovláknennou strukturu o plošné hmotnosti 10 až 20 g/m² z polymerů rozpustných v organických rozpouštědlech a jednoho nebo více aditiv vybraných ze skupiny obsahující cukry, peptidové hydrolyzáty, vitaminy, kvasničný extrakt, antibiotika a anorganické soli s obsahem dusíku, fosforu nebo zinku.
- 10 2. Kompozitní nanovláknenný nosič s integrovanou živinovou složkou pro uchovávání vinařských mikroorganismů podle nároku 1, **vyznačující se tím**, že kompozitní nanovláknenná struktura má plošnou hmotnost 20 g/m² a obsahuje následující aditiva: NH₄H₂PO₄, ZnSO₄ a thiamin.
- 15 3. Kompozitní nanovláknenný nosič s integrovanou živinovou složkou pro uchovávání vinařských mikroorganismů podle nároku 2, **vyznačující se tím**, že kompozitní nanovláknenná struktura obsahuje 2 g NH₄H₂PO₄, 1 mg ZnSO₄, a 0,5 mg thiaminu, a to vždy na jeden kg kompozitní nanovláknenné struktury.
- 20 4. Kompozitní nanovláknenný nosič s integrovanou živinovou složkou pro uchovávání vinařských mikroorganismů podle kteréhokoliv z nároků 1 až 3, **vyznačující se tím**, že polymerem rozpustným v organických rozpouštědlech je polykaprolakton.
- 25 5. Kompozitní nanovláknenný nosič s integrovanou živinovou složkou pro sběr vinařských mikroorganismů podle nároku 1, **vyznačující se tím**, že dále zahrnuje obal z polymerního materiálu opatřený otvory.
- 30 6. Kompozitní nanovláknenný nosič s integrovanou živinovou složkou pro sběr vinařských mikroorganismů podle nároku 5, **vyznačující se tím**, že kompozitní nanovláknenná struktura má plošnou hmotnost 15 g/m² a obsahuje následující aditiva: glukosa, pepton, kvasničný extrakt, tetracyklin a kanamycin A.
- 35 7. Kompozitní nanovláknenný nosič s integrovanou živinovou složkou pro sběr vinařských mikroorganismů podle nároku 6, **vyznačující se tím**, že kompozitní nanovláknenná struktura obsahuje 20 g glukosy, 20 g peptonu, 10 g kvasničného extraktu, 10 mg tetracyklinu a 50 mg kanamycinu A, a to vždy na jeden kg kompozitní nanovláknenné struktury.
- 40 8. Kompozitní nanovláknenný nosič s integrovanou živinovou složkou pro sběr vinařských mikroorganismů podle kteréhokoliv z nároků 5 až 7, **vyznačující se tím**, že polymerem rozpustným v organických rozpouštědlech je polyvinylbutyral.