

DOI: 10.18832/kp2016017

Gushing vyvolaný zákaly piva

Gushing Induced by Colloidal haze

Jan ŠAVEL, Petr KOŠIN, Adam BROŽ

Budějovický Budvar, n.p., Karolíny Světlé 4, 370 21 České Budějovice / *Budějovický Budvar, n.p., Karolíny Světlé 4, CZ-370 21 České Budějovice*

e-mail: jan.savel@budvar.cz

Recenzovaný článek / *Reviewed Paper***Šavel, J. – Košin, P. – Brož, A.: Gushing vyvolaný zákaly piva.** Kvasny Prum. 62, 2016, č. 4, s. 128–134

Pro předpověď náchylnosti piva ke gushingu lze využít měření nárůstu tlaku v hrdlovém prostoru po odpuštění tlaku z láhve a jejím opětovným uzavřením. Významným parametrem je počáteční hodnota nárůstu (kPa/min), nebo hodnota tlaku po 1 min od opětovného uzavření láhve tzv. PG_1 . Pivo s hodnotou $PG_1 > 50$ kPa se považuje za náchylné k přepěňování, pivo s hodnotou nad 120 kPa silně vystřikuje, nebo přetéká z láhve. Piva dlouhodobě skladovaná v klidu i temnu při 20 °C nevykazovala gushing ani po 11 měsících skladování, ale výskyt gushingu se zvyšoval s dobou třepání a skladování piva. Přídavkem zákalotvorných látek např. roztoků taninu a želatiny k syčené vodě nebo pivu se podařilo třepáním vyvolat přepěňování. Proto předpokládáme, že gushing může vznikat i ze sloučenin, přirozeně se vyskytujících pivu, jako jsou bílkoviny i třísloviny.

Šavel, J. – Košin, P. – Brož, A.: Gushing induced by colloidal haze. Kvasny Prum. 62, 2016, No. 4, pp. 128–134

The tendency to beer gushing can be determined by measuring the pressure growth in the head space after piercing the bottle crown and closing this puncture again. The important parameter is the initial value of the rate of pressure growth (kPa/min), or a pressure value reached after 1 min after crown puncture resealing which is called PG_1 . Beer value $PG_1 > 50$ kPa is considered to be typical for starting gushing while value above 120 kPa is associated with strong ejection or overflowing beer from the bottle. Gushing could be also induced in beers which showed no gushing even after long periods of storage (up to 11 months) at rest after their subsequent shaking. Increasing storage and shaking time increased the probability of overfoaming. Haze forming substance such as tannin, gelatine and their combination managed to induce gushing that was supported by shaking. Therefore, we assume that gushing may also arise from compounds, naturally occurring in beer, such as proteins and polyphenols.

Šavel, J. – Košin, P. – Brož, A.: Durch Trübung des Bieres hervorgerufener Gushing. Kvasny Prum. 62, 2016, Nr. 4, S. 128–134

Für die Vorhersage der Neigung des Bieres zum Gushing kann das Messen vom Druckanstieg im Halsraum der Flasche nach Öffnung und wieder Zuschließen angewandt werden. Als einen bedeutenden Parameter gibt's den Anfangsdruckanstiegwert (kPa/min) oder Druckwert nach einer Minute nach dem Wiederschließen der Flasche, sog. PG_1 . Das Bier mit dem Wert $PG_1 > 50$ kPa wird als ein zum Gushing neigendes Bier betrachtet, ein Bier mit dem Wert über 120 kPa stark spritzt aus oder fließt aus der Flasche aus. Ein langzeitgelagertes Bier im Dunkle und Ruhe bei der Temperatur 20°C wies keinen Gushing auch 11 Monaten der Lagerung auf, aber ein Gushingsauftreten beim anderen Bier stieg mit der Schütteln- und Lagerzeit. Jedoch Auftreten von Gushing stieg beim anderen Bier mit der Schütteln- und Lagerzeit. Durch eine Zugabe von Trübungsbildenden Stoffen, z.B. Lösung von Gerbstoffen und Gelatine unter Anwendung von Schütteln zum karbonisierten Wasser konnte ein Gushing hervorgerufen werden. Deswegen konnte es vorausgesetzt werden, dass Gushing aus den im Bier natürlich vorhandenen Verbindungen seinen Ursprung nehmen kann.

Klíčová slova: *gushing, tlakový nárůst, hrdlový prostor, třepání, iniciace gushingu, třísloviny, bílkoviny, mikrobublíny***Keywords:** *gushing, pressure growth, headspace, overflowed volume, gushing induction, tannins, proteins, microbubbles*

1 ÚVOD

Poslední stav výzkumu gushingu shrnuje společný projekt organizací EBC a Euromalt. Předpověď gushingu z výskytu plísní je jen orientační, přesto lze v pivech s gushingem prokázat hydrofobiny. Neprokázala se přesvědčivá korelace mezi obsahem hydrofobinů a gushingem. Není pravděpodobné, že hydrofobiny jsou jedinou příčinou gushingu. Modifikovaný Carlsbergský test je spolehlivou metodou pro předpověď gushingu. Nadějnou metodou pro nalezení změn spojených s gushingem při výrobě sladu a piva jsou MALDI-TOF MS (Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization Time of Flight, Mass Spectrometry) ve spojení se statistickými metodami (Rath, 2015).

Za primární gushing se označuje samovolné vypěnění piva způsobené sladem, většinou napadeným plísní. Intenzitu gushingu pozitivně nebo negativně ovlivňují přirozené složky piva, jako jsou hořké látky, třísloviny, bílkoviny i lipidy (Casey, 1996; Pellaud, 2002; Poštulková a Vitoušová, 2013).

O chemický, nebo fyzikální mechanismus náhlého uvolnění oxidu uhličitého se dosud vedou spory. V každém případě intenzita vypěnění vzrůstá s koncentrací oxidu uhličitého v nápoji. Většinou jako pozitivní faktory se uplatňují další rozpuštěné plyny, jako jsou kyslík, dusík, nebo jeho směsi (Pellaud, 2002).

Sladaři i pivovarníci se snaží předpovědět náchylnost piva k přepěňování nejen u hotového výrobku, ale také u meziproductů výroby, popř. surovin. Podobná situace nastává i u jiných syčených nápojů (Christian a Titze, 2010).

1 INTRODUCTION

The latest state of gushing research is summarized in the common project of EBC and Euromalt. Gushing prediction based on the mould grains occurrence is only approximate, but fungal products called hydrophobins can be proved in gushing beers. Convincing correlation between the content of hydrophobins and beer gushing has still not been proved. It seems unlikely that hydrophobins are the only cause of gushing. Modified Carlsberg test is a reliable method for the prediction of gushing. A promising method for finding changes associated with gushing in malt and beer is MALDI-TOF MS (Matrix Assisted Laser Desorption / Ionization Time of Flight, Mass Spectrometry) in combination with statistical methods (Rath, 2015).

So called primary gushing is spontaneous beer overfoaming usually related to mould malt. The intensity of gushing is positively or negatively affected by the natural ingredients of beer, such as bitter substances, tannins, proteins and lipids (Casey, 1996; Pellaud, 2002; Poštulková and Vitoušová, 2013).

The chemical or physical mechanisms of sudden release of carbon dioxide after bottle opening are still discussed. In any case, the foaming intensity increases with the concentration of carbon dioxide in the beverage. Among main positive factors of this process belongs the presence of other dissolved gases such as oxygen, nitrogen, or their mixtures (Pellaud, 2002).

Malsters and brewers try to predict the tendency to gushing not

Hotové pivo málokdy vykazuje gushing hned po stočení a k jeho vyvolání je nutné na vzorky stočeného piva působit kombinací pohybu nápoje v transportním obalu a jeho ponechání v klidu před otevřením. Pro simulaci pohybu se používají horizontální třepačky i vertikální obrabečky. Např. v původním Weihenstephanském testu se používala vertikální třepačka, v jeho modifikaci horizontální obrabečka (Christian a Ilberg, 2009a).

Měření množství nápoje vyteklého z obalu je snadné, ale neumožňuje dostatečně rychlou předpověď ještě před transportem piva k zákazníkovi. Gushing se může projevit až po delší době skladování u zákazníka a ve shodě s tím je k jeho umělému vyvolání dostatečně dlouhá kombinace pohybové a klidové fáze (Casey, 1996; Šavel a Košin, 2014b).

Dosud se za nejčastější příčinu gushingu považuje přítomnost specifických bílkovin zejména hydrofobinů, pocházejících z plísni (Sarlin a Vilpola, 2007; Deckers et al., 2012; Shokribousjein a Deckers, 2011; Khalesi a Mandelings, 2014). Proto se předpovědní metody zaměřují na stanovení přítomnosti těchto bílkovin, ale situaci komplikuje skutečnost, že gushing způsobují jen některé z hydrofobinů (Riveros a Shokribousjein, 2015). Předpokládá se tvorba nano- i mikrobublinek na molekulách těchto látek a jejich exploze po náhlém snížení tlaku po otevření láhve (Deckers a Gebruers, 2010; Deckers a Venken, 2012; Deckers a Vissers, 2013).

Za sekundární gushing se považují všechny zbývající příčiny, zahrnující vnitřní povrch obalů, vyloučené tríslobílkovinné kaly nebo přítomnost anorganických látek jako jsou částice křemelinu nebo oxalát vápenatý (Zepf a Geiger, 2001).

Předpokládá se tvorba i náhlé uvolnění nano- i mikrobublinek plynů vázaných na pevném povrchu větších částic. Jejich rozměry a elektrický náboj lze měřit optickými a elektrickými metodami pro široké spektrum částic (Ilberg a Titze, 2009; Deckers a Lorgouilloux, 2011; Deckers et al., 2012). Náchylnost ke gushingu se také může rychle měřit podle tvorby pěny piva nebo modelových roztoků po náhlé změně tlaku (Novak a Postulkova, 2015). Jinou možností je měření tlakových změn v hrdlovém prostoru lahvy, po jejich otevření a opětovném rychlém uzavření (Šavel a Košin, 2015).

Předpověď gushingu ze surovin se opírá o převedení látek, způsobujících gushing ze sladu do roztoku, který se karbonizuje, nebo přidá k sycenému nápoji, často sodové vodě. Základními představiteli těchto postupů jsou tzv. Carlsbergský a Weihenstephanský test (Christian a Titze, 2011a;b). Přes nadějně výsledky není žádná z metod předpovědi gushingu zcela spolehlivá (Rath, 2015).

Tyto testy většinou neidentifikují látky vyvolávající gushing, ale pokoušejí se rozeznat náchylnost suroviny, nebo jejího zpracování k přepěnění hotového nápoje. Takový postup lze např. využít k testování vlivů rmutovacího procesu jak v laboratoři, tak u vzorků odebraných v průběhu výroby (Christian a Ilberg, 2009a).

Projevy gushingu mohou také vyvolávat, posilovat nebo zeslabovat jiné sloučeniny přítomné v surovinách i pivu (Miller a Schmidt, 2010; Christian a Titze, 2011; Aydin a Ilberg, 2013).

Pevné částice, vyvolávající gushing, mohou tuto schopnost zachovávat nebo ztrácet po jejich smáčení vodou, zatímco makromolekuly a větší částice některých látek, např. bramborového škrobu, gushing nevyvolávají (Šavel a Košin, 2014a).

V naší laboratoři se nám nikdy nepodařilo pomalou, nebo rychlou tvorbou sraženin oxalátů vápníku přímo v pivu vyvolat gushing, a to ani v klidu, ani za pohybu (nepublikované výsledky). Gushing mohou naopak vyvolávat i roztoky povrchově aktivních tenzidů po jejich přidavku k pivu bez třepání (Christian a Ilberg, 2009b).

Vznik gushingu se někdy spojuje s tvorbou koloidních zákalů a stabilizovaná piva mají menší náchylnost ke gushingu. Kromě bílkovin se na tvorbě zákalů i vzniku gushingu mohou uplatnit i polyfenoly (Aron a Shellhemmer, 2010). Polyfenoly a bílkoviny se rozlišují podle schopnosti tvořit zákal, lze však předpokládat tvorbu aglomerátů obou složek ještě před vznikem viditelných zákalů (Li a Siebert, 2008; Gabriel, 2009).

Také pro studium koloidních zákalů lze využít optické a fyzikální metody (Titze a Christian, 2010). Cílem tohoto článku je studium tvorby částic, vyvolávajících gushing během skladování piva.

2 MATERIÁL A METODY

2.1 Pivo

12% světlý pasterovaný ležák v 0,5 l lahvích, skladovaný po dobu 12 měsíců v temnu a klidu při 20 °C. U těchto vzorků se za podmínek skladování nevykytl gushing po otevření láhve a zákal piva nepřekročil hodnotu 0,5 j. EBC.

only from the finished beer but also from the attributes of raw materials or intermediates during production. A similar situation occurs even for other carbonated beverages (Christian and Titze, 2010).

The bottled beer rarely exhibits gushing after bottling and it is necessary to act on it by a combination of motion and leaving at rest before the bottle opening. The motion can be simulated using shakers with horizontal or vertical operation. In the original Weihenstephan test the vertical rotator was used, which was in the following test modification replaced by a shaker with horizontal movement (Christian and Ilberg, 2009a).

The volume or weight of the overflowed beer can be easily measured but it does not allow a sufficiently rapid prediction before the beer is transferred to a customer. Gushing may become apparent after a long period of transport and storage and in accordance with that sufficient combination of shaking and resting phase must be used for the prediction (Casey, 1996; Šavel a Košin, 2014b).

The presence of specific proteins called hydrophobins originating from fungi is considered to be the most common cause of gushing (Sarlin and Vilpola 2007; Shokribousjein and Deckers, 2011; Deckers et al., 2012; Khalesi and Mandelings, 2014). Therefore, the prediction methods focus on the determination of these proteins, but the situation is complicated by the fact that just some of the hydrophobins can cause gushing (Riveros and Shokribousjein, 2015). It is supposed that once the nano- and micro-bubbles of CO₂ are formed on hydrophobin molecules, the bubbles explode after a sudden reduction of pressure accompanying the opening of the bottle (Deckers and Gebruers 2010; Deckers and Venken, 2012; Deckers and Vissers, 2013).

Secondary gushing comprises remaining causes, including scuffed inner surface of packages, protein / polyphenol precipitants or the presence of inorganic substances such as diatomaceous earth or calcium oxalate particles (Zepf and Geiger, 2001).

The formation and the sudden release of nano- and gas microbubbles bound to a solid surface of the larger particles are also supposed. Their size and electrical charge can be measured by optical and electrical methods for a wide range of particles (Ilberg and Titze, 2009; Deckers and Lorgouilloux 2011; Deckers et al., 2012).

Tendency to gushing can also be quickly measured by foam formation on the surface of beer or a model solution after a sudden change of pressure (Novak and Postulková, 2015). Another possibility is to measure a pressure changes in the head space of the bottle after its piercing and re-closing (Šavel and Košin, 2015).

Prediction of gushing usually includes extraction of substances causing gushing from malt and their addition to a solution that is later carbonized, or their addition to a carbonated beverages or water. Carlsberg and Weihenstephan test are commonly used (Christian a Titze, 2011a; b). Despite the promising results, none of the methods gives completely reliable predictions (Rath, 2015).

These tests usually do not identify the substance causing gushing, but try to recognize the tendency of raw materials or the production process to cause gushing. Such a procedure can e.g. be used for testing of the effects of the mashing process using samples taken during manufacture or laboratory mashing (Christian and Ilberg, 2009a).

Gushing can also be induced or inhibited by other compounds present in the raw materials and beer (Miller and Schmidt, 2010; Christian and Titze, 2011; Aydin and Ilberg, 2013). Although some dry solid particles can cause intensive gushing this activity can be lost after their wetting with water, while other particles and macromolecules of certain substances like potato starch, do not induce gushing (Šavel and Košin, 2014a).

For example in our laboratory, we have never been able to induce gushing by slow or rapid precipitation of calcium oxalate directly in beer neither during rest or motion (unpublished results). Gushing can conversely be induced by surfactant addition to carbonated water without shaking (Christian and Ilberg, 2009b).

Gushing is sometimes associated with the formation of colloidal haze and stabilized beer is more resistant to gushing. Next to proteins, polyphenols may also play important role both in haze formation and gushing (Aron and Shellhemmer, 2010). Polyphenols and proteins can be distinguished according to their ability to form agglomerates of both components prior to the creation of visible haze (Li and Siebert, 2008, Gabriel, 2009).

For the examination of such particles the optical and physical methods can be used (Titze and Christian, 2010). This article focuses on the formation of the colloidal particles causing gushing during beer storage.

2.2 Pryžové zátky pro iniciaci úniku CO₂ ze syceného nápoje

Pryžové zátky (kat. číslo 2201.1014) s horním průměrem 14,5 mm, dolním průměrem 10,5 mm, výškou 20 mm a hmotností 3,6 g (Fischer Scientific, ČR). Přerýznutím zátky příčným řezem v polovině výšky se získaly menší části pro vyvolání gushingu (Šavel a Košin, 2014a).

2.3 Chemikálie

Tanin (Tannic acid powder pure, Merck, Německo), želatina (Gelatine from porcine skin, Fluka, USA).

2.4 Přístroje

Syťič nápojů (0–10 g/l CO₂) a elektronický měřič tlaku a obsahu CO₂ s intervalem 1 až 30 s mezi záznamy (1 CUBE, ČR), dvouúhlový zákaloměr MZN 2009 (Gabriel, 2009).

Laboratorní třepačka (Kühner, Německo) pro třepání horizontálně uložených lahví s výkyvem 50 mm a frekvencí 100 min⁻¹ při 20 °C.

2.5 Postupy

Třepání piva

Láhve se syceným nápojem se třepaly po stanovenou dobu na horizontální třepačce s přímočarým pohybem s výkyvem 50 mm a frekvencí 100 min⁻¹ při 20 °C a po stanovené době klidu se změnila hodnota tlakového nárůstu. Podmínky třepání se označují jako třepací doba / doba odpočinku.

Stanovení přeteklého objemu (OV)

Láhve s pivem se rychle otevřely otvírákem a po ukončeném přetečení piva se zaznamenal přeteklý objem.

Stanovení tlakového nárůstu CO₂ v hrdle láhve

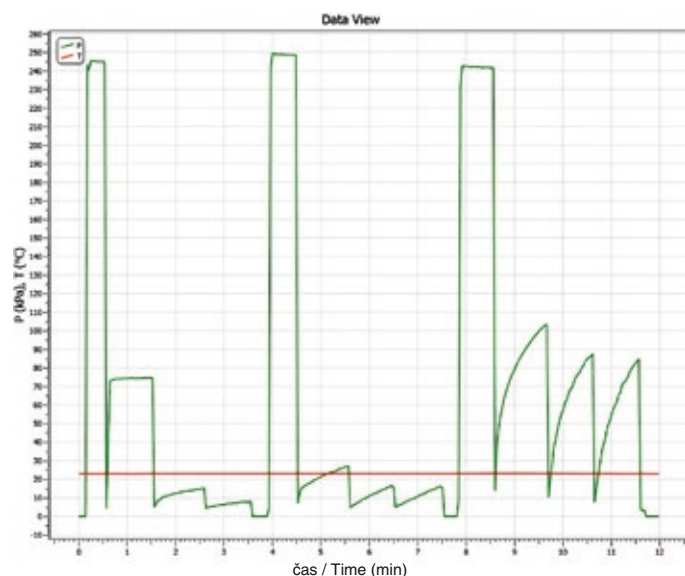
Korunka láhve se propíchlá, odпустиł přetlak a po novém uzavření láhve se měřil tlakový nárůst digitálním tlakoměrem (vzorkovací frekvence 1 s). Odpouštění tlaku se může podle potřeby opakovat. Hodnota tlaku se vyjadřuje v jednotkách kPa jako přetlak proti atmosférickému tlaku.

Uvedené hodnoty jsou průměrem ze dvou souběžných stanovení.

3 VÝSLEDKY A DISKUSE

3.1 Tvar a parametry křivky tlakového nárůstu

Křivka nárůstu tlaku může dosáhnout konstantní rovnovážné nebo pseudorovnovážné hodnoty, popř. plynule růst po delší dobu. Intenzita gushingu souvisí s počáteční rychlostí tlakového nárůstu. Tvar křivek lze popsat parametry kinetických rovnic (Šavel a Košin, 2015). Základním parametrem je počáteční hodnota růstu tlaku po propíchnutí korunky a následném odpuštění a opětovném uzavření láhve. K popisu tlakových změn se obvykle udává hodnota tlaku po propíchnutí (PG_0), u třepaných vzorků se hodnota PG_0 rovná rovnovážné hodnotě tlaku (PE), odpovídající rozpustnosti CO₂ (obr. 1). Křivka na obrázku znázorňuje měření tří různých lahví, vždy s trojím odpuštěním tlaku.



2 MATERIAL AND METHODS

2.1 Beer

Pasteurized pale lager (O.G. 12%) in 0.5 l bottles was stored for 12 months at 20 °C in the dark and at rest. No gushing occurred after opening the bottles and beer haze did not exceed 0.5 j EBC at the end of storage.

2.2 Rubber stoppers for initiation of CO₂ release from carbonated drinks

Rubber stopper (Fischer Scientific, cat. No. 2201.1014) with an upper diameter 14.5 mm, bottom diameter 10.5 mm, height 20 mm and weight 3.6 g (Fisher Scientific, CR). The stopper was cut across at mid-height to obtain smaller pieces for gushing induction (Šavel and Košin, 2014).

2.3 Chemicals

Tannin (tannic acid powder pure, Merck, Germany), gelatine (gelatine from porcine skin, Fluka, USA).

2.4 Instruments

Beverage carbonator (0-10 g/l CO₂) and electronic pressure gauge with 1-30 seconds interval between entries (1 CUBE, Czech Republic), two angle turbidimeter MZN 2009 (Gabriel, 2009), laboratory shaker (Kühner, Germany) for horizontally loaded bottles in beer crates with 50 mm amplitude and a frequency of 100 min⁻¹ at 20 °C.

2.5 Procedures

Bottled beer shaking

Bottles with carbonated beverage was shaken for a specified time using horizontal shaker (100 min⁻¹) and after a specified rest time the value of the pressure growth was measured. The shaking conditions are given as shaking time/rest period.

Determination of the overflowing volume (OV)

Beer bottle was quickly opened with beer opener and overflowed volume recorded after overflowing stopped.

Determination of the CO₂ pressure growth in the bottle headspace

After piercing the crown cap of the bottle and recording the headspace pressure was the CO₂ pressure quickly released and the crown puncture was closed immediately and headspace pressure growth measured was with sampling frequency 1 s. Pressure release could be repeated as needed. The pressure growth (PG) is expressed in kPa as a gauge pressure against the atmospheric pressure.

The results are the average for two parallel determinations.

3 RESULTS AND DISCUSSION

3.1 The shape and parameters of pressure growth curve

The pressure value may reach equilibrium or pseudo equilibrium value immediately or continuously grow for a longer period after the bottle is reclosed. The intensity of gushing is related to the initial rate of pressure growth. The shape of the curves can be described by the parameters of kinetic equations (Šavel and Košin, 2015).

The basic parameter is the initial rate of growth pressure after crown piercing, pressure releasing and its subsequent sealing. Pressure value after piercing (PG_0) reaches the equilibrium pressure value (PE) in the case of well shaken samples where PG_0 is given by the solubility of CO₂ (Fig. 1).

Pressure curve in figure 1 is compiled of three measurements for three different bottles. The first curve responds to a bottle which had

Obr. 1 Tři křivky tlakového nárůstu PG_0 po propíchnutí a trojím opětovném otevření a uzavření korunky láhve s pivem. Zleva: vzorek 1 (0–4 min, $PG_1 = 75$ kPa), vzorek 2 (4–8 min, $PG_1 = 28$ kPa), vzorek 3 (8–12 min, $PG_1 = 102$ kPa), opakovaným odpuštěním hodnoty PG_1 klesají. Průměrný obsah CO₂ 5,1 g/l ($PG_0 = PE = 242$ až 245 kPa) / Fig. 1 Three curves of pressure growth PG_1 after piercing and three subsequent pressure releasing for each curve. From left: sample 1 (0-4 min, $PG_1 = 75$ kPa, sample 2 (4-8 min, $PG_1 = 28$ kPa), sample 3 (8 to 12 min, $PG_1 = 102$ kPa). CO₂ average content of beers was 5.1 g / l ($PG_0 = PE = 242$ and 245 kPa)

První křivce odpovídá synchronizované uvolnění velkého počtu bublinek a typický gushing, druhé křivce pivo bez samovolného pěnění a třetí křivce pomalé vytékání piva z láhve. Orientačním ukazatelem je hodnota tlakového nárůstu ve zvoleném časovém intervalu, obvykle 1 min, tzv. PG_1 . Podle předchozích výsledků přetékání piva z láhve odpovídá hodnota $PG_1 > 50$ kPa.

3.2 Vztah mezi rychlostí úniku CO_2 a množstvím přeteklého nápoje

Láhve s nápojem s obsahem CO_2 5g/l a vloženou různě velkou pryžovou zátkou se krátce protřepaly, ponechaly 1 d při 20 °C, a poté se stanovila hodnota PG_1 a množství přeteklého nápoje (OV) (tab. 1).

Při stejném nasycení varní vody i piva mělo pouze pivo schopnost přepěnit, což souvisí s pomalejším pohybem mikrobublin stoupajících pivem, a tím delším přenosem rozpuštěného oxidu uhličitého do mikrobublin difúzí. Kromě toho pěnnotvorné látky piva usnadňují tvorbu pěny, která je snáze vynášena z láhve. Podle očekávání závisela intenzita přeměnění piva s rychlostí tlakového nárůstu.

3.3 Vliv doby skladování piva v láhvi na rychlost úniku CO_2 z piva

Stočené pasterované pivo v láhvích se skladovalo po dobu 1 roku při 20 °C v klidu a temnu. Náhodně vybrané láhve s různou dobou skladování se třepaly 14 dní pro indukci gushingu a po 1 h odpočinku se měřila náchylnost piva ke gushingu stanovením hodnot tlakového nárůstu PE a PG_1 (obr. 2).

Pivo, které ani po dlouhé době skladování v klidu, nevykazovalo ani rychlý nárůst tlaku ani přepěnění, mohlo tuto schopnost získat delším třepáním. S dobou skladování piva v klidu vzrůstala náchylnost piva k přepěňování. Příčinou může být tvorba částic koloidního zákalu, změna jejich struktury nebo elektrického náboje, usnadňujících tvorbu mikrobublin.

3.4 Vliv doby třepání piva v láhvi na rychlost úniku CO_2 z piva

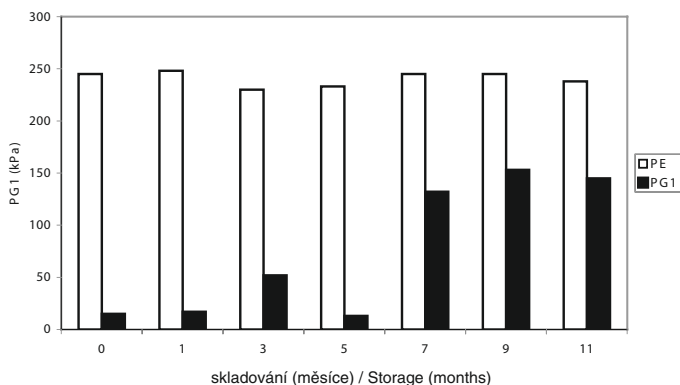
Stočené pasterované pivo v láhvích se skladovalo po dobu 1 roku při 20 °C v klidu a temnu. Náhodně vybrané láhve skladované alespoň 10 měsíců se třepaly po různou dobu pro indukci gushingu a po 1 h odpočinku se měřily hodnoty PE a PG_1 (obr. 3).

K tlakovému nárůstu piva, odpovídajícímu vzniku gushingu, byla nutná dostatečně dlouhá doba třepání lahví, v tomto případě alespoň 9 dní. Náchylnost ke gushingu lze tedy zjistit měřením tlakového nárůstu v láhvi.

3.5 Indukce gushingu přidavkem želatiny a taninu k pivu a syčené vodě

0,5 l varní vody (5 °C) s přidavkem roztoku taninu, želatiny, nebo jejich směsi se po nasycení CO_2 (5g/l) uzavřely korunkou. Stejně roztoky se dávaly do 0,5 l studeného piva (5 °C) a zpracovaly stejným způsobem. Po uzavření korunkou se láhve třepaly po různé kombinace doby třepání a odpočinku v klidu. Po propíchnutí korunek láhví se stanovily rychlosti úniku oxidu uhličitého podle hodnot PG_1 (obr. 4a, b). Po dekarbonizaci těchto vzorků třepáním se stanovily zákaly v úhlu 12° (H12) a 90° (H90) (tab. 2a,b).

V syčené vodě neměl přidavek taninu ani želatiny vliv na tlakový nárůst v hrdlovém prostoru. Jejich společný přidavek zvyšoval ná-



Obr. 2 Vliv doby skladování piva na indukci gushingu 14 denním třepáním následovaným 1 h odpočinku / Fig. 2 Effect of beer storage time on the induction of gushing after 14-day shaking followed by 1 h rest

Tab. 1 Tlakový nárůst PG_1 a přeteklý objem (OV) indukovaný pryžovou zátkou ve varní vodě a pivu syčených CO_2 (5,1 g/l) při 23 °C / Table 1 Pressure growth PG_1 and overflowed volume (OV) induced by rubber stopper immersed in beer, carbonated brewing water with CO_2 content (5.1 g/L) at 23 °C

Hmotnost zátky / Weight of the stopper (g)	Syčená pivovarská voda / Carbonated brewing water		Pivo / Beer	
	PG_1 (kPa)	OV (ml)	PG_1 (kPa)	OV (ml)
dolní část / lower part: 1.5	120	0	130	55
horní část / upper part: 2.1	130	0	150	90
celá zátká / whole stopper: 3.6	150	0	180	110

a synchronized release of a large number of bubbles and typical gushing, the second curve (bottle) is typical of non gushing beer and the third curve responds a bottle showing slow rise of foam in the bottle neck. The gushing indicator is the pressure value after selected time interval after reclosing of the bottle, usually 1 minute which is called (PG_1). According to previous results overflowing occurs at the value of $PG_1 > 50$ kPa.

3.2 The relationship between pressure growth and overflowed volume

Bottles of beverage containing 5 g CO_2 /l with inserted rubber stoppers of various weight were briefly shaken and than left at rest for 1 d at 20 °C. After this procedure the PG_1 value and overflowed volume (OV) were determined (Table 1).

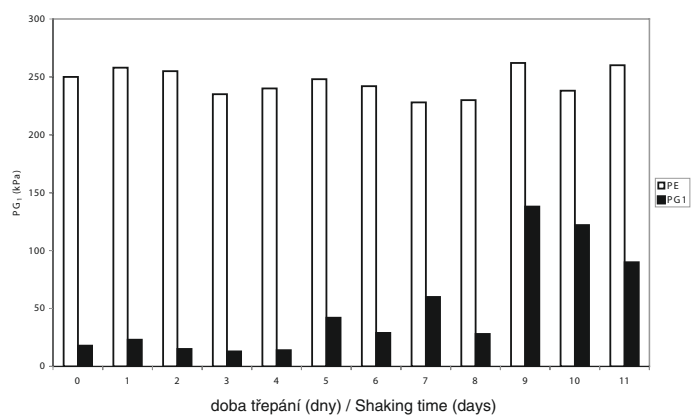
At the same saturation of brewing water and beer only beer was able to overflow, which is associated with a slower movement of microbubbles in beer, and thus prolonged diffusion of dissolved carbon dioxide into them. Moreover beer foaming agents facilitate the formation of foam, which is more easily carried out of the bottle. As expected, overflowed volume increased with pressure growth.

3.3 The effect of storage time of bottled beer on the pressure growth

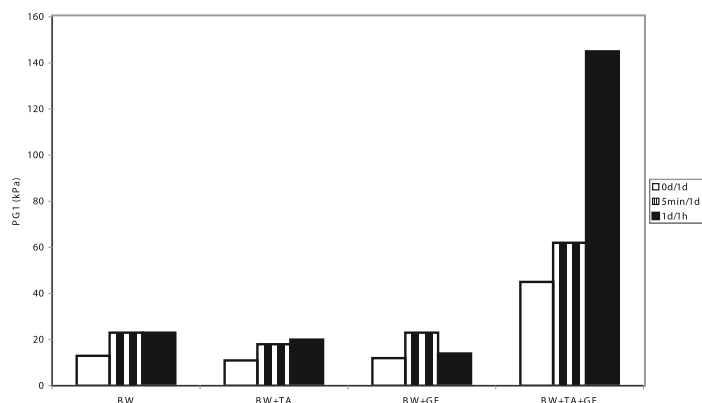
Bottles with pasteurized beer were stored for 1 year at 20 °C in the dark and at rest.

Randomly taken bottles with different storage time were shaken for 14 days to induce gushing. After 1 hour rest the tendency to gushing was measured by PE and PG_1 determination (Fig. 2).

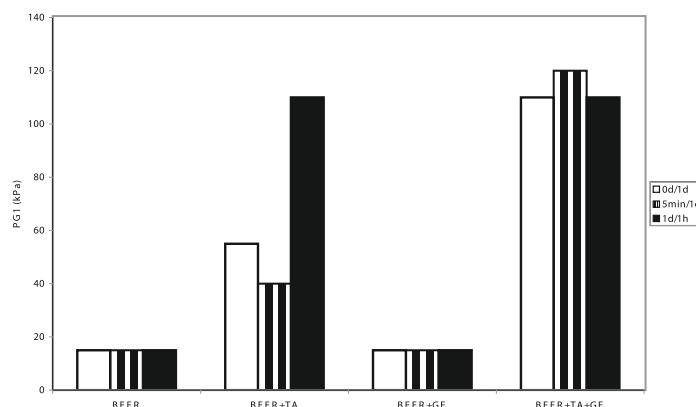
Beer, which after long periods of storage showed neither rapid pressure growth nor overfoaming, could obtain this ability by shaking. The tendency to gushing increased with previous time of beer storage at rest. This effect can be associated with the formation of colloidal haze particles, change of their structure or electrical charge which could facilitate the formation of microbubbles."



Obr. 3 Vliv doby třepání, následovaným 1 h odpočinku, na indukci gushingu u piva skladovaného po 11 měsících podle tlakového nárůstu PG_1 / Fig. 3 The effect of shaking time, followed by 1 h rest on the induction of gushing in beer stored 11 months according to pressure growth value PG_1



Obr. 4a Indukce gushingu v roztocích roztoků taninu (TA 0,5 %, 2,5 ml/0,5 l), želatiny (GE 0,5 %, 2,5 ml/0,5 l) a jejich směsi (TA + GE) v 0,5 l varní vody pro různé kombinace dob třepání/odpočinku / Fig. 4a Induction of gushing by tannin (TA 0.5% w/w, 2.5 ml/0.5 l), gelatine (GE 0.5% w/w, 2.5 ml/0.5 l) solutions and their mixture (TA + GE) added to saturated brewing water (5g CO₂/l) treated by various combinations of shaking/rest times



Obr. 4b Indukce gushingu v roztocích roztoků taninu (TA 0,5 %, 2,5 ml), želatiny (GE 0,5 %, 2,5 ml) a jejich směsi (TA + GE) 0,5 l piva pro různé kombinace dob třepání/odpočinku podle hodnot PG₁ / Fig. 4b Induction of gushing of tannin (TA 0.5% w/w, 2.5 ml/0.5 l), gelatine (GE 0.5% w/w, 2.5 ml/0.5 l), and their mixture (TA + GE) solutions added to saturated beer (5g CO₂/l) treated various combinations of shaking/rest times

růst tlaku v závislosti na době třepání, přitom zákal ve vodě vznikl již po přidavku obou složek bez třepání. Zvýšení tlakového nárůstu souvisí s třepáním již vyloučeného zákalu.

Přídavek taninu k pivu zvyšoval nárůst tlaku v hrdlovém prostoru současně se vznikem zákalu. Také v tomto případě třepáním piva rostla hodnota tlakového nárůstu PG₁.

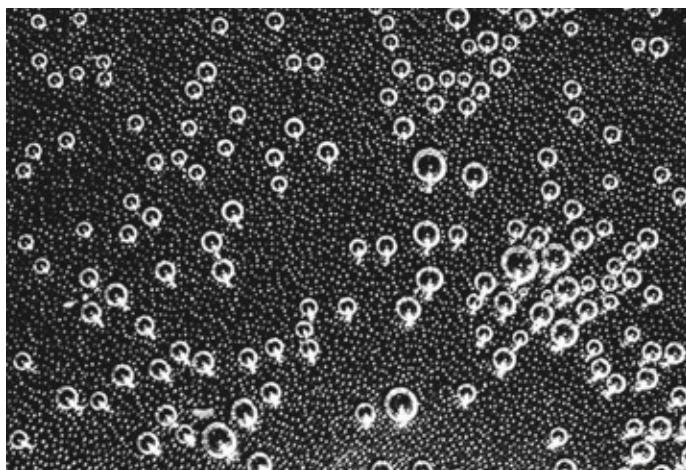
3.6 Vizualizace tvorby mikrobublin CO₂ na polystyrénovém povrchu

Do nové Petriho misky s hydrofobním povrchem se nalila varní voda, nasycená oxidem uhličitým (5 g/l) a po 5 min se miska vyfotografovala (obr. 5).

Při pohybu nebo klepnutí dna misky o pevný podklad část bublin unikla ze syčené kapaliny a jejich nová tvorba pokračovala. Rozpuštěný CO₂ difundoval opět do mikrobublin, které zvětšovaly svůj objem, až je vztlaková síla odtrhla. Pohyb kapaliny snáze odtrhává velké bubliny, protože boční síla, působící na bublinu je úměrná průřezu bubliny. Odtrhávání nanobublin z molekul hydrofobinů se podle literatury předpokládá jako mechanismus gushingu (Decker a Venken, 2012).

3.7 Parametry piva s náchylností ke gushingu

V souboru pravidelně sledovaných stočených vzorků se podařilo nalézt vzorek se zvýšenou náchylností ke gushingu. Parametry piva s náchylností ke gushingu se opakovaně měřily vždy po 1 dni třepání s dobou odpočinku po třepání 1 h (obr. 6). Také v tomto případě s rostoucí dobou třepání rostly hodnoty tlakového nárůstu, přeteklého objemu a zákalů, měřených v úhlu 90 a 12°.



Obr. 5 Tvorba mikrobublin a makrobublin na povrchu polystyrenové Petriho misky s vodou, syčenou oxidem uhličitým (5 g/l) / Fig. 5 Generation of micro- and macro- bubbles on the surface of polystyrene Petri dish with carbonated water (5 g/l)

3.4 The effect of shaking regime on the pressure growth

Bottles with pasteurized beer were stored for 1 year at 20 °C in the dark and at rest. Randomly taken bottles with storage time longer than 10 months were shaken for different times to induce gushing. After 1 hour rest the PE and PG₁ values were determined (Fig. 3).

The pressure growth responding to gushing was reached just after sufficiently long shaking in this case at least 9 days. Tendency to gushing can thus be determined by measuring the pressure growth in the bottle after shaking for various times.

3.5 Induction of gushing by the gelatine and tannin addition to the carbonated water or beer

Bottles with brewing water (0.5 l, 5 °C) with the addition of stock solutions of tannin, gelatine or their mixtures were saturated with CO₂ (5 g/l) and closed with crown cap. The same stock solutions were added to 0.5 liters of cold beer (5 °C) and processed in the same manner. Crowned bottles were shaken for different combinations of shaking and resting times and the PG₁ values were measured (Fig. 4a, b). After samples decarbonization the hazes at an angle of 12° (H12) and 90° (H90) were measured (Tab. 2a, b).

The addition of tannin or gelatine alone to carbonated water showed no pressure growth in the bottle headspace. Their joint addition caused pressure growth in dependence on the time of shaking, while hazes in the water were formed after addition of both components even without shaking. The pressure growth is associated with shaking of formerly formed precipitate.

Addition of tannin to beer caused pressure growth in headspace simultaneously with the formation of haze. The pressure growth PG₁ also increased with the beer shaking.

3.6 Visualization of microbubbles of CO₂ on a polystyrene surface

Carbonated brewing water (5 g/l) was poured into a new Petri dish with a hydrophobic surface and the dish was photographed after 5 minutes (Fig. 5).

Dish movement or tapping on its bottom released a portion of bubbles which escaped from carbonated liquids and new bubbles formation continued. Dissolved CO₂ diffused again into microbubbles that grew until the buoyancy force tore them off. The movement of the liquid tore large bubbles off easily, because the lateral force acting on a bubble was proportional to its cross section. Tearing off nanobubbles from hydrophobins molecules is assumed as a gushing mechanism in the literature (Decker and Venken, 2012).

3.7 Parameters of beer with tendency to gushing

In the group of regularly monitored bottled samples the beer with increased tendency to gushing was found. The parameters of this beer were repeatedly measured every day using shaking/rest test (Fig. 6). Also in this case, the values of the pressure growth, the overflowed volume and haze measured at 90 and 12° grew with increasing time of shaking.

Tab.2a Hodnoty zákalů v rozptylovém v úhlu 90° a 12° v roztocích roztoků taninu (TA 0,5 %, 2,5 ml/0,5 l), želatiny (GE 0,5 %, 2,5 ml/0,5 l) a jejich směsi (TA + GE) v 0,5 l varní vody (BW) pro různé kombinace dob třepání/odpočinku / Table 2a Haze values at 90° and 12° for tannin (0.5% TA, 2.5 ml/0.5 l), gelatine (GE 0.5%, 2.5 ml/0.5 l) and their mixture (TA + GE) in brewing water (BW) for different combinations of shaking / resting times

Třepání / Shaking / Klid / Rest	BW		BW+TA		BW+GE		BW+TA+GE	
	H90	H12	H90	H12	H90	H12	H90	H12
0d/1d	0.29	0.23	0.27	0.23	0.26	0.22	13.3	6.44
5min/1d	0.28	0.24	0.35	0.31	0.26	0.31	14.8	6.18
1d/1h	0.30	0.25	0.43	0.33	0.32	0.27	15.0	9.35

Tab.2b Hodnoty zákalů v rozptylovém v úhlu 90° a 12° v roztocích roztoků taninu (TA 0,5 %, 2,5 ml), želatiny (GE 0,5 %, 2,5 ml) a jejich směsi (TA + GE) v 0,5 l piva (BEER) pro různé kombinace dob třepání/odpočinku / Table 2b Haze values at 90° and 12° for tannin (0.5% TA, 2.5 ml/0.5 l), gelatine (GE 0.5%, 2.5 ml/0.5 l) and their mixture (TA + GE) in beer for different combinations of shaking / resting times

Třepání / Shaking / Klid / Rest	BEER		BEER+TA		BEER+GE		BEER+TA+GE	
	H90	H12	H90	H12	H90	H12	H90	H12
0d/1d	0.30	0.20	27.8	17.7	0.66	1.21	18.0	10.7
5min/1d	0.46	0.25	23.6	13.0	0.85	1.29	25.5	19.8
1d/1h	0.92	0.43	34.9	22.10	1.31	1.59	15.3	15.4

4 ZÁVĚR

Přítomnost plísňových hydrofobinů bývá často považována za hlavní příčinu přepěňování, čemuž odpovídá označení primární gushing. Sekundární gushing se považuje za méně významný. Ve skutečnosti se lze setkat i s gushingem nápojů, u nichž je vysoký obsah plísňových hydrofobinů nepravděpodobný.

Pro předpověď náchylnosti piva ke gushingu lze využít stanovení nárůstu tlaku v hrdlovém prostoru po odpuštění tlaku z láhve a jejím opětovným uzavřením. Tato technika umožnila nalézt korelaci mezi hodnotou PG_1 a přeteklým objemem piva.

Významným parametrem je počáteční hodnota nárůstu (kPa/min), nebo hodnota tlaku po 1 min od opětovného uzavření tzv. PG_1 . Pivo s hodnotou $PG_1 > 50$ kPa se považuje za náchylné k přepěňování, pivo s hodnotou nad 120 kPa silně vystřikuje, nebo přetéká z láhve.

Sycená voda, obsahující oxid uhličitý o stejné koncentraci jako pivo (5g/l), za přítomnosti iniciátoru gushingu rovněž silně uvolňovala oxid uhličitý, ale voda nepřetékala okraj láhve. Pěna vznikající z piva usnadňovala jeho vytékání, neboť oxid uhličitý nemohl rychle uniknout a vytlačoval ji z láhve. Tím také rostla doba pobytu uvolněných mikrobublin v pivu a zvyšoval se podíl CO_2 , přecházející do pěny.

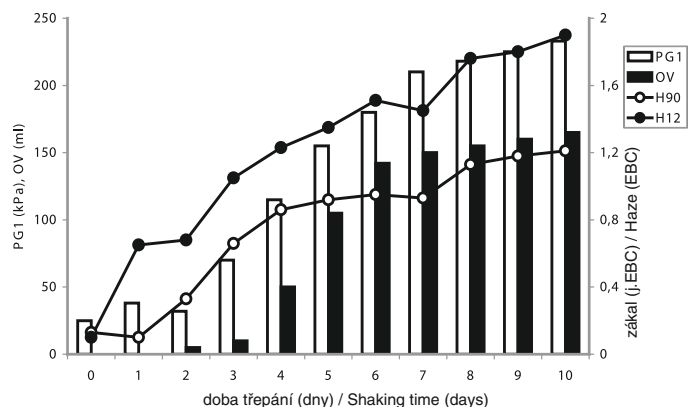
Gushing bylo možné vyvolat i u stočených piv, skladovaných po dlouhou dobu (až 11 měsíců) v klidu v kombinaci s následným třepáním. Tato piva nevykazovala gushing ani po dlouhé době skladování v klidu. Doba skladování i délka třepání zvyšovala pravděpodobnost přepěňování.

Předchozí sledování piv z různých pivovarů ukázalo, že některá z nich přepěňovala po skladování dokonce i bez třepání, ačkoliv nebyla prokázána souvislost mezi intenzitou koloidního zákalu tlakovým nárůstem (Šavel a Košin, 2014b).

Gushing piva se může vyvolat přidávkou pevných iniciátorů (pryzková zátky), které nevyžadují třepání, nebo látek, u nichž třepání zvyšuje výskyt gushingu.

Přidávkou zákalotvorných látek např. roztoků taninu a želatiny se podařilo vyvolat gushing, který vyžadoval třepání. Proto předpokládáme, že gushing může vznikat i ze sloučenin, přirozeně se vyskytujících v pivu, jako jsou bílkoviny i třísloviny. Povrch těchto komplexů může pravděpodobně vykazovat oblasti s různou hydrofobicitou.

Předpokládáme, že gushing způsobují látky, na jejichž povrchu jsou vázány mikrobubliny plynů, jejichž velikost a tvar se třepáním synchronizuje, takže po náhlém poklesu tlaku skokově vzroste vztlaková síla, která způsobí jejich odtržení.



Obr. 6 Vliv doby třepání na tlakový nárůst (PG_1), přeteklý objem (OV) a zákal třepaných vzorků (Z90, Z12) / Fig. 6 The effect of shaking on the pressure growth (PG_1), overflowed volume (OV) and haze values (Z90, Z12)

4 CONCLUSIONS

The presence of fungal hydrophobins is often regarded as the main cause of overfoaming, which is called as primary gushing. Secondary gushing is considered to be less important although beverages in which a higher content of fungal hydrophobin is improbable can also strongly gush.

For gushing prediction the headspace pressure growth (PG) measurement after piercing and closing the puncture again can be used to determine the tendency to gushing.

The important parameter is the initial value of the rate of pressure growth (kPa/min), or a pressure value reached after 1 min after crown puncture resealing called PG_1 . Beer value $PG_1 > 50$ kPa is considered to be typical for starting gushing while the value above 120 kPa it is associated with strong ejection or overflowing of beer from the bottle.

In the presence of gushing inductor carbonated water with the same concentration of CO_2 (5 g/l) comparable to beer also highly released carbon dioxide, but without overflowing from the bottle. Beer foam formation supports gushing because carbon dioxide can not escape immediately and so it displaced foam from a bottle continuously. This effect also increased residence time of the released microbubbles in beer and thus increased proportion of CO_2 , passing into foam.

Gushing could be also induced in beer samples which showed no gushing even after long periods of storage (up to 11 months) at rest after their subsequent shaking. Increasing storage and shaking time increased the probability of overfoaming.

Previous monitoring of beers from various breweries showed, that some of them exhibited gushing after long storage even without shaking although the link between intensity of colloidal turbidity and pressure growth was not confirmed (Šavel and Kosin, 2014b).

Gushing of beer can also be induced by addition of solid initiators (e.g. rubber stopper) that do not require shaking or substances which increases the occurrence of gushing during beer shaking.

Haze forming substance such as tannin, gelatine and their combination managed to induce gushing that was supported by shaking. Therefore, we assume that gushing may also arise from compounds, naturally occurring in beer, such as proteins and polyphenols. The surface of these complexes is supposed to have areas with different hydrophobicity.

We assume that gushing causing substances have surface with bound microbubbles of which size and shape is synchronized by shaking, so after a sudden pressure decrease the buoyancy force causes their tearing off and gushing.

LITERATURA / REFERENCES

- Aron, P.M., Shellhammer, T.H., 2010: A discussion of polyphenols in beer physical and flavour stability. *J. Inst. Brew.*, 116(4): 369–380. DOI: 10.1002/j.2050-0416.2010.tb00788.x
- Aydin, A.A., Illberg, V., Titze, J., 2014: Investigation of overfoaming activities and gushing mechanisms of individual beer ingredients as a model substance in bottled carbonated water. *J. Sci. Food Agric.*, 94(10): 2083–2089. DOI: 10.1002/jsfa.6528.
- Casey, G.P., 1996: Primary versus secondary gushing and assay procedures used to assess malt/beer gushing potential. *Tech. Q. Master Brew. Assoc. Am.*, 33(4): 229–235.
- Deckers, S.M., Gebruers, K., Baggerman, G., Lorgouilloux, Y., Delcour, J.A., Michiels, C., Derdelinckx, G., Martens, J., Neven, H., 2010: CO₂-hydrophobin structures acting as nanobombs in beer. Part 1. A critical review of hypotheses and mechanisms. *BrewingScience* 63(3/4): 54–61.
- Deckers, S.M., Lorgouilloux, Y., Gebruers, K., Baggerman, K., Verachtert, H., Neven, H., Michiels, C.H., Derdelinckx G., Delcour, J.A., Martens, J., 2011: Dynamic light scattering (DLS) as a tool to detect CO₂-hydrophobin structures and study the primary gushing potential of beer. *J. Am. Soc. Brew. Chem.*, 69(3): 144–149. DOI:10.1094/ASBCJ-2011-0524-01.
- Deckers, S.M., Venken, T., et al., 2012: Combined modelling and biophysical characterisation of CO₂ interaction with class II hydrophobins: new insight into the mechanism underpinning primary gushing. *J. Am. Soc. Brew. Chem.*, 70(4): 249–256. DOI.org/10.1094/ASBCJ-2012-0905-01.
- Deckers, S.M., Vissers, L., Gebruers, K., Shokribousjein, Z., Khalesi, M., Riveros-Galan, Schönberger, C., Verachtert, H., Neven, H., Delcour, J., Michiels, C., Illberg, V., Derdelinckx, G., Titze, J., Marten, J., 2012: Doubly modified Carlsberg test combined with dynamic light scattering allows prediction of the primary gushing potential of harvested barley and malt. *Cerevisia* 37(3): 77–81. DOI.org/10.1016/j.cervis.2012.10.001.
- Deckers, S.M., Vissers, L., et al., 2013: Thermodynamic view of primary gushing. *J. Am. Soc. Brew. Chem.*, 71(3): 149–152. DOI.org/10.1094/ASBCJ-2013-0606-01.
- Gabriel, P.: Optické metody kontroly fermentačních procesů a hodnocení kvality jejich produktů. *Doktorská disertační práce*. Karlova Univerzita Praha, 2009.
- Christian, M., Illberg, V., Titze, J., Friess, A., Jacob, F., Parlar, H., 2009a: Gushing laboratory tests as successful methods for obtaining new cognitions on gushing. *BrewingScience*, 62(5/6): 83–89.
- Christian, M., Illberg, V., Aydin, A.A., Titze, J., Friess, A., Jacob F., Parlar, H., 2009b: New gushing mechanism proposed by applying particle size analysis and several surfactants *BrewingScience* 62(7/8): 100–107.
- Christian, M., Titze, J., Illberg, V., and Jacob, F., 2010: Combined particle analysis as a new tool to predict gushing shown with alcohol-free beverage products. *BrewingScience* 63(5/6): 72–79.
- Christian, M., Titze, J., Illberg, V., Jacob, F., 2011a: Novel perspectives in gushing analysis: A review. *J. Inst. Brew.*, 117(3): 295–313. DOI: 10.1002/j.2050-0416.2011.tb00474.x
- Christian, M., Titze, J., Illberg, V., 2011b: Chemical structure of model substances related to their gushing-inducing and -suppressing activity. *J. Am. Soc. Brew. Chem.*, 69(3): 70–179. DOI: 10.1094/ASBCJ-2011-0716-01.
- Illberg, V., Titze, J., Christian, M., Jacob, F., Parlar, H., 2009: Current developments and findings in rapid gushing test analysis. *Brauwelt Int.*, 27(1): 22–24.
- Khalesi, M., Mandelings, N., Shokribousjein, Z., Riveros-Galan, D., Verachtert, H., Gebruers, K., Delvigne, F., Vankelecom, I., Derdelinckx, G., 2014: Biophysical characterisation of hydrophobin enriched foamate. *Cerevisia* 38(4): 129–134.
- Li, J., Siebert, K.J., 2008: Turbidimetric titration of a haze-active polyphenol in beer. *J. Am. Soc. Brew. Chem.*, 66(2): 71–79. DOI: 10.1094/ASBCJ-2008-0229-01.
- Miller, M.P., Schmidt, F., Becker, T., and Gastl, M., 2010: Impact of different hop compounds on the overfoaming volume of beer caused by primary gushing. *J. Inst. Brew.* 116(4): 459–463. DOI: 10.1002/j.2050-0416.2010.tb00797.x
- Novak, P., Postulkova, M., Ruzicka, C., M.C., Branyik, T., 2015: Novel desaturation cell to quantify gushing intensity: A preliminary study on model solutions. *J. Am. Soc. Brew. Chem.*, 73(2):185–189. DOI.org/10.1094/ASBCJ-2015-0404-01.
- Pellaud, J., 2002: Gushing: state of the art. *Cerevisia* 27(4): 189–205.
- Poštulková, M., Vitoušová, K., Novák, P., Fiala, J., Růžička, M., Brányik, T., 2013: Historie a nové trendy v oblasti výzkumu přepěňování piva. *Kvasny Prum.*, 59(10–11): 317–320.
- Rath, F.: The joint EBC / Euromalt gushing project: results and outlook. L4, - Key note 4, 35 th Int. Congr. EBC, Porto 2015.
- Riveros, G., Shokribousjein, Z., Losada-Pérez, P., Rheza Khalesi, M., Cordova, K., Michiels, C., Delcour, J.A., Verachtert, H., Wagner, P., Derdelinckx, G., 2015: Comparison of structure, sequence, physical interactions and its effects on primary gushing among several class II hydrophobins. *BrewingScience* 68(3/4): 38–45.
- Sarlin, T., Vilpola, A., Kotaviita, E., Olkku, J., Haikara, A., 2007: Fungal hydrophobins in the barley-to-beer chain. *J. Inst. Brew.*, 113(2): 147–153. DOI: 10.1002/j.2050-0416.2007.tb00271.x.
- Shokribousjein, Z., Deckers, S.M., Gebruers, K., Lorgouillox, A., Baggermann, G., Verachtert, H., Delcour, J.A., Etienne, P., Rock, J., Michiels, G., Derdelinckx, G., 2011: Hydrophobins, beer foaming and gushing. *Cerevisia*, 35(4): 85–101. DOI:10.1016/j.cervis.2010.12.001.
- Šavel, J., Košin, P., Brož, A., 2014a: Iniciace úniku oxidu uhličitého z piva a gushing. *Kvasny Prum.*, 60(2): 22–30.
- Šavel, J., Košin, P., Brož, A., 2014b: Náchylnost piva k přepěňování vyvolanému různou dobou třepání láhve. *Kvasny Prum.*, 60 (6): 151–159.
- Šavel, J. – Košin, P. – Brož, A., 2015: Kinetika úniku plynu ze syčeného nápoje. *Kvasny Prum.*, 61(1):7–14.
- Titze, J., Christian, M., Jacob, F., Parlar, H., Illberg, V., 2010: The possibilities of particle analysis demonstrated by the measurement of the colloidal stability of filtered beer. *J. Inst. Brew.*, 116(4): 405–412. DOI: 10.1002/j.2050-0416.2010.tb00791.x
- Zepf, M., Geiger, E., 2001: Gushing problems caused by calcium oxalate (2). *Brauwelt Int.* 19(5): 420–425.