

Thiol Impact

EINE HILFREICHE EINGRUPPIERUNG VON HOPFENSORTEN

A USEFUL CLASSIFICATION OF HOP VARIETIES

Bedeutung von Thiolen im Brauprozess

Es gibt eine Vielzahl flüchtiger Hopfeninhaltsstoffe, die das Aroma von Bier beeinflussen [1]. Geruchlich am intensivsten sind freie Thiole (früher auch „Mercaptane“ genannt). Deren Bedeutung für das Bieraroma wurde erst Mitte der 2000er Jahre entdeckt, als kaltgehopfte Craft-Biere zunehmend populärer wurden. Denn wegen ihrer hohen Flüchtigkeit gehen freie Thiole selbst durch späte Hopfengaben im Sudhaus vollständig verloren, werden aber bei einer Dosage im Gär- oder Lagerkeller aufgrund guter Löslichkeit sehr effizient in das Bier übertragen, ähnlich wie die Terpenalkohole Linalool und Geraniol. Anstelle von Sauerstoff enthalten Thiole Schwefel. Bislang entdeckte man in Hopfen mehr als 40 dieser schwefelhaltigen Verbindungen, die in sortentypischer Zusammensetzung enthalten sind, allerdings nur in sehr geringer Konzentration.

Obwohl der Gesamtgehalt aller freien Thiole deutlich unter 0,0005 % liegt, können einige dieser geruchsintensiven Substanzen bei Auswahl geeigneter Sorten in Verbindung mit entsprechend hohen Hopfengaben das typische Aroma kaltgehopfter Biere signifikant prägen. Am bekanntesten sind 4MMP, 3MH und 3M4MP (siehe Abbildung), die in Bier mit ca. 2, 55 und 70 ng/L äußerst niedrige sensorische Wahrnehmungsschwellen aufweisen und beim Brauen fruchtige Zitrusnoten

The impact of thiols in the brewing process

There are many volatile hop substances that influence the aroma of beer [1]. The most odor-intensive are free thiols (also formerly known as mercaptans). Their importance for the aroma of beer was only discovered in the mid-2000s, when dry-hopped craft beers became increasingly popular. Due to their high volatility, free thiols are completely lost even when hops are added late in the brewing process, but are transferred very efficiently to the beer when dosed in the fermentation or storage cellar due to their good solubility, similar to the terpene alcohols linalool and geraniol. Instead of oxygen, thiols contain sulfur. To date, more than 40 of these sulfurous compounds have been discovered in hops, where they occur in compositions typical of each variety, albeit in very low concentrations.

Although the total content of all free thiols is well below 0.0005%, some of these odor-intensive substances can significantly influence the typical aroma of dry-hopped beers when suitable varieties are selected in combination with correspondingly high hop dosages. The best known thiols are 4MMP, 3MH and 3M4MP (see figure), which have extremely low sensory perception thresholds in beer at approx. 2, 55 and 70ng/L and impart fruity citrus notes to the brew. 4MMP is reminiscent of blackcurrant (cassis), while 3MH and 3M4MP are similar in smell and have a grapefruit aroma.

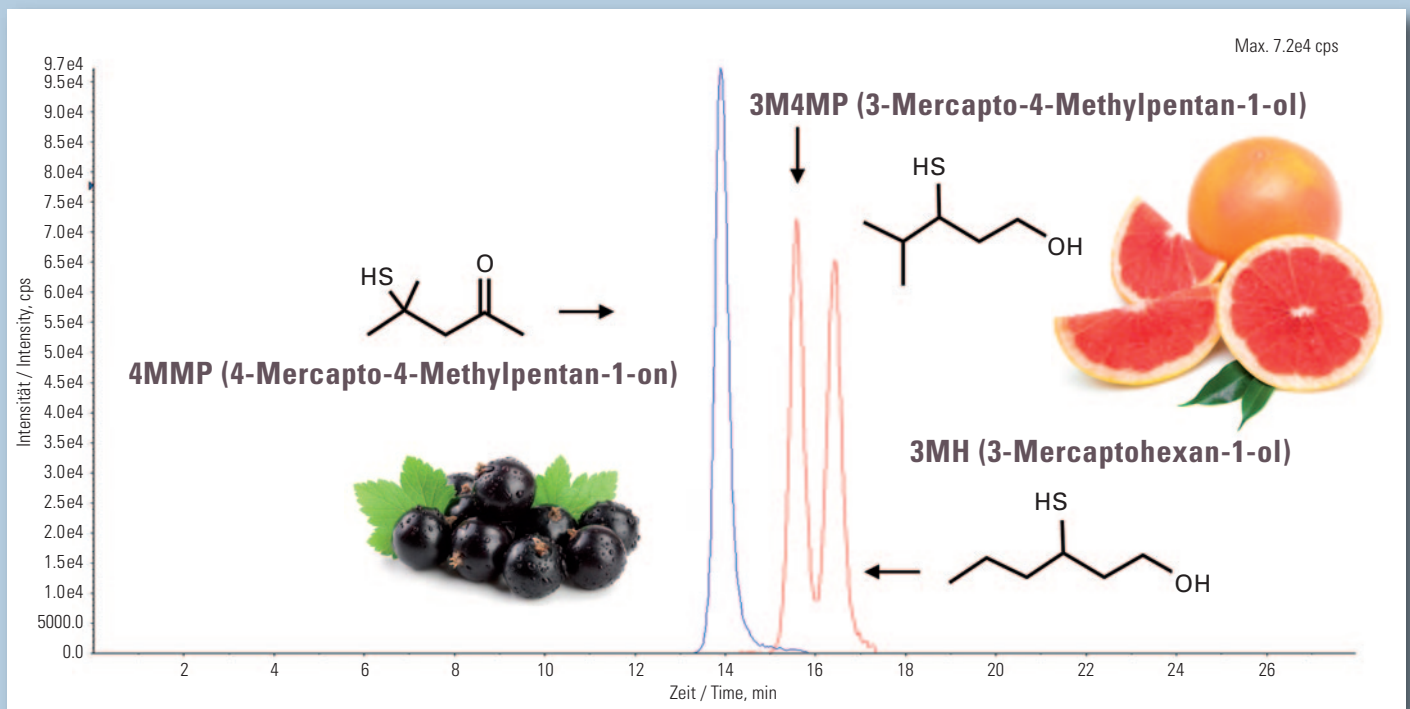


Abbildung: LC-MS-Chromatogramm der 3 wichtigsten Hopfen-Thiole, die in kaltgehopftem Bier bereits in sehr geringer Konzentration fruchtige Zitrusnoten hervorrufen können.

Figure: LC-MS chromatogram of the three most important hop thiols, which can produce fruity citrus notes in dry-hopped beer even in very low concentrations.

einbringen. 4MMP erinnert an schwarze Johannisbeere (Cassis), während 3MH und 3M4MP sich im Geruchseindruck ähneln und mit Grapefruitaroma in Verbindung gebracht werden.

Analytik von freien Thiolen

In den letzten 20 Jahren erschienen zahlreiche Veröffentlichungen, die über den Nachweis und die Quantifizierung von Thiolen in einzelnen Hopfensorten berichten. Dabei kamen verschiedenste (gaschromatographische) Analysemethoden zur Anwendung, was die Vergleichbarkeit der Ergebnisse über ein größeres Sortenspektrum erschwert. Eine 2024 publizierte Arbeit beschreibt nun die Analytik eines umfangreichen weltweiten Hopfensortiments durch LC-MS (Flüssigchromatographie in Verbindung mit Massenspektroskopie) nach Derivatisierung der freien Thiolen. Damit wird deren hohe Flüchtigkeit unterdrückt, was die Bestimmung erleichtert. Gleichzeitig erhöht sich die Selektivität und Zuverlässigkeit der Messung [2]. Mit dieser LC-MS-Methode erfolgte eine Untersuchung von 250 Hopfenproben, die 97 Sorten aus 12 Ländern und 5 Erntejahren (2019-2023) repräsentieren. Anhand dieser Vielzahl an vergleichbaren Ergebnissen wurde versucht, die analysierten Provenienzen in Gruppen einzuteilen und der sogenannte „Thiol Impact“ entwickelt, der den Einfluss

Analysis of free thiols

Over the past 20 years, numerous publications have appeared reporting on the detection and quantification of thiols in individual hop varieties. A wide variety of (gas chromatographic) analysis methods were used, which makes it difficult to compare the results across a wide range of hop varieties. A paper published in 2024 describes the analysis of an extensive range of hops from around the world using LC-MS (liquid chromatography combined with mass spectroscopy) after derivatization of the free thiols. This suppresses their high volatility, which facilitates determination. At the same time, the selectivity and reliability of the measurement are increased [2]. This LC-MS method was used to analyze 250 samples of 97 hop varieties from 12 countries and 5 crop years (2019-2023). Based on this large number of comparable results, an attempt was made to divide the analyzed sources into groups and develop the so-called thiol impact, which reflects the influence of the three most important thiols on the beer aroma, especially after dry hopping [3]. For this purpose, the maximum concentration of 4MMP, 3MH,

der drei wichtigsten Thiole auf das Bieraroma widerspiegelt, insbesondere nach Kalthopfung [3]. Dazu wurde für jede untersuchte Hopfensorte jeweils die maximal ermittelte Konzentration an 4MMP, 3MH und 3M4MP zu Grunde gelegt, also das höchstmögliche Thiolvermögen je Sorte. Eine Gruppenzuordnung erfolgte dann unter Berücksichtigung der aus der Literatur bekannten Wahrnehmungsschwellen und Transferraten (Übergang einer Verbindung vom Hopfen ins Bier). Die so abgeleiteten Grenzkonzentrationen betragen jeweils 10 µg/kg entweder nur für 4MMP oder für eine Summe aus 3MH plus 3M4MP, die sich im Geruchseindruck ähneln und höhere sensorische Schwellenwerte aufweisen als 4MMP.

Unterscheidung von Hopfensorten nach „Thiol Impact“

Auf dieser Basis lassen sich die untersuchten Sorten in Gruppen mit niedrigem, mittlerem oder hohem „Thiol Impact“ unterteilen.

Alle Provenienzen mit **niedrigem „Thiol Impact“** weisen kein 4MMP auf. Auch 3MH und 3M4MP sind entweder nicht nachweisbar oder liegen als Summe unter 10 µg/kg. Mehr als die Hälfte der 97 analysierten Sorten können dieser Gruppe zugeordnet werden. Dazu zählen alle klassischen Aromahopfen. Eine beispielhafte Auflistung zeigt Tabelle 1. In manchen Sorten findet man keine Thiole, z. B. in East Kent Golding aus England oder Tettnanger aus Deutschland. Andere (Akoya, Perle, Saazer, Styrian Golding, Strisselspalt, Lubliner, Willamette) zeigen geringe Gehalte an 3MH, aber kein 3M4MP oder umgekehrt (Southern Star aus Südafrika).

In der Gruppe mit **mittlerem „Thiol Impact“** befinden sich Provenienzen, die entweder kein 4MMP enthalten, aber gleichzeitig eine Summe von 3MH plus 3M4MP

and 3M4MP determined for each hop variety examined was used as a basis, i.e., the highest possible thiol potential per variety. The groups were then assigned taking into account the perception thresholds and transfer rates (transition of a compound from hops to beer) known from the literature. The limit concentrations derived in this way are 10 µg/kg either for 4MMP alone or for a sum of 3MH plus 3M4MP, which are similar in odor and have higher sensory thresholds than 4MMP.

Differentiation of hop varieties according to thiol impact

On this basis, the varieties examined can be divided into groups with low, medium, or high thiol impact.

All the samples with **low thiol impact** show no 4MMP. 3MH and 3M4MP are also either undetectable or, when combined, are below 10 µg/kg. More than half of the 97 varieties analyzed can be assigned to this group. This includes all the classic aroma hops. Table 1 lists some examples. Some varieties do not contain thiols, e.g. East Kent Golding from England and Tettnanger from Germany. Others (Akoya, Perle, Saazer, Styrian Golding, Strisselspalt, Lubliner, Willamette) show low levels of 3MH, but no 3M4MP or vice versa (Southern Star from South Africa).

The group with **medium thiol impact** includes varieties that either do not contain 4MMP but at the same time have a sum of 3MH plus 3M4MP above 10 µg/kg, or that are below 10 µg/kg for both 4MMP and the sum of 3MH plus 3M4MP.

Table 2 shows some examples from this group. Huell Melon from Germany and Centennial from the USA contain only 3MH. However, this thiol is absent in Cascade grown in Argentina, as well as in the native variety Gaucho and in the Australian variety Ella.

Tabelle 1:
Beispiele von Provenienzen mit niedrigem „Thiol Impact“

Table 1:
Examples of varieties with low thiol impact

Hopfensorte Variety	Anbauland Growing country	4MMP (µg/kg)	3MH (µg/kg)	3M4MP (µg/kg)	Σ3MH+ 3M4MP (µg/kg)
East Kent Golding	England / GB	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Tettnanger	Deutschland / Germany	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Akoya	Deutschland / Germany	n.d.	<10	n.d.	<10
Perle	Deutschland / Germany	n.d.	<10	n.d.	<10
Saazer	Tschechien / Czech Republic	n.d.	<10	n.d.	<10
Styrian Golding	Slowenien / Slovenia	n.d.	<10	n.d.	<10
Strisselspalt	Frankreich / France	n.d.	<10	n.d.	<10
Lubliner	Polen / Poland	n.d.	<10	n.d.	<10
Willamette	USA	n.d.	<10	n.d.	<10
Southern Star	Südafrika / South Africa	n.d.	n.d.	<10	<10

n.d. = nicht
detektierbar /
not detectable

Hopfsorte Variety	Anbauland Growing country	4MMP (µg/kg)	3MH (µg/kg)	3M4MP (µg/kg)	Σ3MH+ 3M4MP (µg/kg)
Gaucho	Argentinien / Argentina	n.d.	n.d.	>10	>10
Cascade	Argentinien / Argentina	n.d.	n.d.	>10	>10
Cascade	Deutschland / Germany	n.d.	<10	<10	>10
Mistral	Frankreich / France	n.d.	<10	<10	>10
Huell Melon	Deutschland / Germany	n.d.	>10	n.d.	>10
Centennial	USA	n.d.	>10	n.d.	>10
Ella	Australien / Australia	<10	n.d.	<10	<10
Azacca	USA	<10	<10	<10	<10
Motueka	Neuseeland / New Zealand	<10	<10	<10	<10

n.d. = nicht
detektierbar /
not detectable

Tabelle 2:
Beispiele von
Provenienzen mit
mittlerem
„Thiol Impact“

Table 2:
Examples of varieties
with medium thiol
impact

über 10 µg/kg aufweisen, oder die sowohl bei 4MMP als auch bei der Summe aus 3MH plus 3M4MP unter 10 µg/kg liegen.

Tabelle 2 zeigt einige Beispiele aus dieser Gruppe. Huell Melon aus Deutschland und Centennial aus den USA enthalten nur 3MH. Dagegen fehlt dieses Thiol in Argentinien angebautem Cascade, genauso wie in der dort heimischen Sorte Gaucho oder auch in der australischen Provenienz Ella.

In sämtlichen Hopfsorten mit **hohem „Thiol Impact“** liegt 4MMP vor und die Summe aus 3MH plus 3M4MP ist immer größer als 10 µg/kg (Tabelle 3). Dazu zählen alle „Flavor Hops“, die in den letzten 20 Jahren

All hop varieties with a **high thiol impact** contain 4MMP, and the sum of 3MH plus 3M4MP is always greater than 10µg/kg (Table 3). These include all flavor hops that have become known over the past 20 years for giving dry-hopped craft beers their distinctive aroma. Here, too, you can find some varieties without 3MH, e.g. Nelson Sauvignon from New Zealand.

Summary and perspective

The thiol impact presented here can be included in hop variety descriptions (data sheets) and thus serve as an initial guide for brewers when selecting varieties.

In practice, however, thiols remain an extremely complex topic. Within a single growing region, different soil conditions, weather conditions during the growing season,

Hopfsorte Variety	Anbauland Growing country	4MMP (µg/kg)	3MH (µg/kg)	3M4MP (µg/kg)	Σ3MH+ 3M4MP (µg/kg)
Solero	Deutschland / Germany	<10	n.d.	>10	>10
Cascade	USA	<10	<10	<10	>10
Alora	USA	<10	<10	>10	>10
Mandarina Bavaria	Deutschland / Germany	<10	<10	>10	>10
Simcoe	USA	>10	<10	<10	>10
Galaxy	Australien / Australia	>10	n.d.	>10	>10
Nelson Sauvignon	Neuseeland / New Zealand	>10	n.d.	>10	>10
Citra	USA	>10	<10	>10	>10
Eureka!	USA	>10	<10	>10	>10
Eureka!	Spanien / Spain	>10	<10	>10	>10
Mosaic	USA	>10	<10	>10	>10

n.d. = nicht
detektierbar /
not detectable

Tabelle 3:
Beispiele von
Provenienzen mit
hohem „Thiol Impact“

Table 3:
Examples of varieties
with high thiol impact

dafür bekannt geworden sind, das typische Aroma kaltgehopfter Craft-Biere zu prägen. Auch hier findet man einige Sorten ohne 3MH, z.B. Nelson Sauvin aus Neuseeland.

Fazit und Ausblick

Der hier vorgestellte „Thiol Impact“ lässt sich in Sortenbeschreibungen (Datenblätter) aufnehmen und kann so dem Brauer als erste Orientierung bei der Sortenauswahl dienen. In der Praxis bleibt das Thema Thiole jedoch äußerst komplex. So können innerhalb eines Anbaugesbietes unterschiedliche Bodenbeschaffenheiten, Witterungsverhältnisse während der Wachstumsperiode, Erntezeitpunkte oder auch Bedingungen beim Hopfentrocknen den Gehalt freier Thiole beeinflussen. Außerdem vermitteln unterschiedliche Thiole verschiedenste Aromaeindrücke, die sich im Zusammenspiel verändern und verstärken können. Auch Synergien mit anderen Hopfen- und Bieraromastoffen wie Terpenalkoholen oder Estern sind bekannt. Darüber hinaus weiß man heute, dass die Thiole in Hopfen, wie auch in vielen anderen Pflanzen (z.B. Weintrauben, aber auch Gerste/Malz), nicht nur als freie Moleküle vorliegen, sondern – sogar größtenteils – an Aminosäuren gebunden sind und auch in dieser Form in den Brauprozess eingebracht werden können. Hier kann es zur Abspaltung vom Präkursor-Molekül kommen, vor allem während der Gärung. Der Freisetzungsgrad hängt von den Prozessparametern ab (Hefe, Gärtemperatur, pH-Wert, etc.), erfolgt aber mit den in der Brauindustrie gängigen Hefestämmen in geringerem Umfang als z.B. bei der Weinherstellung.

Letztendlich kann der Braumeister mit seiner Rezeptur entscheiden, in welchem Ausmaß sich das im Hopfen vorliegende Potenzial geruchsintensiver Thiole entfalten kann. In zahlreichen Biersorten ist deren prägendes Aroma allerdings oft auch explizit unerwünscht. Hier sind Sortenbeschreibungen unter Berücksichtigung des „Thiol Impact“ ebenfalls hilfreich.

harvest times, and hop drying conditions can all influence the free thiol content. In addition, different thiols impart a wide variety of aromas, which can change and intensify when combined. Synergies with other hop and beer aroma substances such as terpene alcohols and esters are also known. Furthermore, it is now known that thiols in hops, as in many other plants (such as grape vines, but also barley/malt), are not only present as free molecules, but are also – for the most part – bound to amino acids and can be introduced into the brewing process in this form. This can lead to separation from the precursor molecule, especially during fermentation. The degree of release depends on the process parameters (yeast, fermentation temperature, pH value, etc.), but with yeast strains commonly used in the brewing industry, it occurs to a lesser extent than in wine production, for example.

Ultimately, brewers can use their recipes to decide to what extent the potential for odor-intensive thiols present in hops can be unlocked. However, in numerous types of beer, their distinctive aroma is often explicitly unwanted. Variety descriptions that include the thiol impact are also helpful here.

Autor: Dr. Martin Biendl
Leiter Forschung & Entwicklung / Analytik
Hopsteiner HHV GmbH
Foto: Pokorny Design

Literatur / Literature

- [1] Kammhuber K.: Welche Faktoren haben am meisten Einfluss auf das Hopfenaroma?
Hopfen-Rundschau International 2024/2025, S. 84-90
- [2] Biendl M.: Hochdruck-Flüssigchromatographie und Massenspektroskopie – eine hochkarätige Kombination mit vielfältigen Anwendungsmöglichkeiten in der Hopfenanalyse.
Hopfen-Rundschau International 2024/2025, S. 93-98
- [3] Schmidt C., Hoferer L. und Biendl M.: Determination of Variety Dependent “Thiol Impact” Based on LC-MS/MS Analysis of Different Hop Samples Collected Worldwide,
BrewingScience, 77, 2024,
S. 135-141. doi.org/10.23763/BrSc24-10schmidt



Dr. Martin Biendl