



EIPWALES

Cydweithio er ffyniant gwledig
Collaborating for rural success



Partneriaeth Arloesi Ewrop (EIP) yng Nghymru

Gwerthusiad Terfynol y Prosiect

Llaeth Nos: Asesu'r manteision economaidd a dibynadwyedd

Dyddiad: Tachwedd 2019

Lluniwyd gan:

Sam Evans

Kite Consulting

Dunston Business Village

Dunston

Swydd Stafford

ST18 9AB

Ffôn: 07970 493336

E-bost: sam.evans@kiteconsulting.com



Adran 1: CYFLWYNIAD

Mae Partneriaeth Arloesi Ewrop (EIP) yn rhan o'r Cynllun Datblygu Cadwyni Cyflenwi a Chydweithio (CSCDS) a ddarperir o dan ran o Fesur 16 (Erthygl 35 o Reoliad (UE) 1305/2013). Mae'r Cynllun yn elfen bwysig o Cymunedau Gwledig Llywodraeth Cymru – Rhaglen Datblygu Gwledig 2014-2020. Mae'r EIP yn cael ei ddarparu o dan is-Fesur 16.1, Cymunedau Gwledig Llywodraeth Cymru – Rhaglen Datblygu Gwledig 2014-2020. Dyfarnwyd y contract i gyflenwi EIP yng Nghymru i Menter a Busnes ar ran Llywodraeth Cymru.

Lansiwyd Partneriaeth Arloesi Ewrop ar gyfer Cynhyrchiant a Chynaliadwyedd Amaethyddol (EIP- AGRI) gan yr Undeb Ewropeaidd yn 2012 i gyfrannu at strategaeth 'Ewrop 2020' yr Undeb ar gyfer twf deallus, cynaliadwy a chynhwysol. Mae'r strategaeth hon yn nodi mai cryfhau ymchwil ac arloesi yw un o'i phum prif amcan ac mae'n cefnogi ymagwedd ryngweithiol newydd tuag at arloesi, sef Partneriaeth Arloesi Ewrop (EIP).

Nod EIP yw cyfrannu at y cyflenwad o fwyd, dwysfwyd a bio-ddeunyddiau ac at reolaeth gynaliadwy o'r adnoddau naturiol hanfodol y mae ffermio a choedwigaeth yn dibynnu arnynt, gan weithio ar y cyd â'r amgylchedd. I gyflawni'r nod hwn, mae EIP yn dod â ffermwyr, ymgynghorwyr, ymchwilwyr, busnesau, cyrff anllywodraethol ac ati ynghyd gan helpu i bontio rhwng ymchwil a gwaith ymarferol drwy gyfrwng Grwpiau Gweithredol. Bydd cyfuno arbenigedd ac adnoddau drwy ddod â grwpiau o bobl o gefndiroedd ymarferol a gwyddonol gwahanol ynghyd er mwyn mynd i'r afael â heriau penodol, a threialu ymagweddau newydd yn werthfawr i eraill yn y diwydiant amaethyddiaeth neu goedwigaeth. Caiff prosiectau gan grwpiau eu hystyried a'u gwerthuso yn unol ag amcanion yr EIP a restrir yn Erthygl 55 Rheoliad (UE) Rhif 1305/2013, er mwyn meithrin sector amaethyddiaeth a choedwigaeth cystadleuol a chynaliadwy. Rheolir a chefnogir prosiectau unigol gan 'Froceriaid Arloesedd', a ariennir (ar wahân ac yn ychwanegol at Raglen EIP) drwy Cyswllt Ffermio.

Mae'r prosiect dan sylw yn rhan o raglen Partneriaeth Arloesi Ewrop ac mae wedi derbyn arian drwy Gronfa Amaethyddol Ewrop ar gyfer Datblygu Gwledig. Yng Nghymru, Menter a Busnes sy'n gyfrifol am reoli rhaglen EIP yn ogystal â rhaglen Cyswllt Ffermio.

Mae arloesedd yn aml yn cael ei weld fel syniad newydd sy'n profi llwyddiant ymarferol. Gall fod yn dechnolegol, ond hefyd yn anhechnolegol, yn sefydliadol neu'n gymdeithasol; a gall fod yn seiliedig ar arferion newydd neu ar arferion traddodiadol mewn cyd-destun daearyddol neu amgylcheddol newydd. Gall y syniad newydd fod yn gynnyrch, dull gweithredu, gwasanaeth, neu broses gynhyrchu newydd neu gall fod yn ffordd newydd o drefnu pethau, ac ati. Bydd syniad newydd yn troi yn un arloesol os bydd yn cael ei fabwysiadu'n eang ac yn profi ei ddefnyddioldeb yn ymarferol yn unig.

Un o brif nodweddion y prosiectau sydd wedi derbyn cymeradwyaeth yw eu pwyslais ar feysydd sy'n cynnwys atebion technegol i gynyddu cynhyrchedd neu effeithlonrwydd adnoddau.

Adran 2: DISGRIFIAD O'R PROSIECT

Llaeth y Nos: i asesu dibynadwyedd a budd economaidd Melatonin

Mae'r ffaith bod llaeth yn hybu cwsg ac wedi cael ei ddefnyddio at y diben hwnnw yn hysbys ers amser hir. Priodolwyd effaith llaeth i hybu cwsg i'w storfa gyfoethog o gydrannau sy'n hybu cwsg (dela Peña et al., 2015). Melatonin yw'r hormon sy'n helpu i reoli cylchredau cwsg a deffro ac mae'n cael ei gynhyrchu'n naturiol mewn ymateb i dywyllwch.

Mae'r hormon melatonin yn helpu i reoli cylchredau cwsg a deffro ac mae'n cael ei gynhyrchu'n naturiol mewn ymateb i dywyllwch (Hardeland et al., 2006). Mae i'w ganfod mewn amryw o organebau ac mewn anifeiliaid caiff yr hormon ei secretu gan y chwârren pineol yn yr ymennydd.

Yn achos gwartheg, mae'r hormonon melatonin yn cael ei gynhyrchu yn chwârren pineol y fuwch a phan fydd goleuni yn taro llygad y fuwch, mae'n rhoi arwydd i gorff y fuwch gynhyrchu llai o felatonin. Pan fydd yn dywyll, bydd melatonin yn cael ei gynhyrchu. Mae gan wartheg gloc mewnlol sy'n cael ei osod drwy gynhyrchu melatonin. Mae'r cloc mewnlol hwn yn cael effaith ar gynhyrchu hormonau eraill sy'n effeithio ar gynhyrchu llaeth. Er enghraifft, mae'r golau ar ddyddiau hir yn cynyddu faint o IGF-I sy'n cael ei gynhyrchu: po fwyaf o IGF-I a gynhyrchir gan y fuwch, y mwyaf o laeth a gynhyrchir. Mae melatonin i'w ganfod mewn llaeth gwartheg ar grynodiadau rhwng 5-25 pg mL⁻¹ (Jouan et al., 2006). Mae llaeth crai yn cynnwys y crynodiadau uchaf o felatonin, ac mae prosesu llaeth i ymestyn ei fywyd yn cael effaith negyddol ar y cynnwys melatonin (ac eithrio 'llaeth powdr gyda'r nos', sy'n cael ei farchnata fel llaeth sy'n gyfoethog mewn melatonin). Mae'n ymddangos bod y grynodiad o felatonin yn amrywio rhwng gwartheg unigol ond nid yw'n cael ei effeithio gan gymhareb braster/protein, cynhyrchiant llaeth, sgôr celloedd somatig neu gyfnod llaetha (Schaper et al., 2015).

Mae llawer o ymchwil wedi ei wneud ym maes melatonin – mae'n cael ei ddefnyddio i wella cwsg neu wella ansawdd cwsg, atal lludded jet a gwella insomnia. Mae pobl yn cynhyrchu llai o felatonin wrth heneiddio, gan arwain at insomnia a newidiadau yn eu rhythm circadaidd. Dangosodd astudiaeth a gynhaliwyd yn 2005 fod melatonin, ar ffurf diod o laeth gyda'r nos, yn cael effaith gadarnhaol ar ansawdd cwsg unigolion oedrannus mewn sefydliadau (Valtonen et al, 2005). Hefyd, dangosodd astudiaeth arall yn 1998 fod melatonin yn cael effaith fuddiol ar gwsg pobl oedrannus â diffyg melatonin oedd yn dioddef o insomnia ac ar blant ag anhwylderau cwsg (Luboshizsky a Lavie, 1998).

At hyn, sefydlwyd bod y cyfansoddyn Tryptoffan yn rhagflaenu Serotonin a Melatonin, felly mae'n cael ei drosi i'r cyfansoddion hyn yn y corff. Mae Serotonin (5-HT) yn niwrodrowsyrydd sy'n gysylltiedig â hwyliau. Gall cynhyrchu lefelau normal o serotonin helpu i gynnal hwyliau sefydlog, gan fod o gymorth i ymlacio, a helpu i wella'r cof. Mae lefelau uchel o Tryptoffan i'w canfod hefyd mewn llaeth buwch (Dairy Nutrition, d.d.) ac felly mae'n asid amino sy'n annog cwsg.

Darganfu ymchwiliad o lenyddiaeth gan Dr. Ruth Wonfor o IBERS a Janet Holmes - Zero2Five (Prifysgol Cardiff Metropolitan), a gynhaliwyd cyn cyflwyno'r cais am gyllid EIP, fod papurau ymchwil gwyddonol wedi'u cyhoeddi sy'n awgrymu bod budd sylweddol i laeth wedi'i gyfoethogi â Melatonin a bod potensial i gynnal rhagor o systemau ymchwil er mwyn cynyddu crynodiad melatonin mewn llaeth buwch.

Rhesymeg y Prosiect

Gan fod y cyflenwad o laeth confensiynol yn cael ei effeithio gan farchnadoedd annibynadwy a phrisiau llaeth cyfnewidiol, mae'r angen i nodi gwahaniaethau a rhinweddau gwerthu unigryw (USP) yn fwy amlwg nag erioed yn y sector llaeth. Byddai cyflenwad llaeth â ffynhonnell gyfoethog o unrhyw gyfansoddyn buddiol a gynhyrchir yn naturiol yn cynnig USP o'r fath ac yn hawlio refeniw uwch i ffermwyr. Er gwaethaf y gwaith ymchwil amhendant a gynhaliwyd hyd yma, mae Cofrestr Honiadau Maeth ac Iechyd yr UE yn cynnwys dau honiad awdurdodedig y gellir eu gwneud am Melatonin; cafodd yr honiadau hyn eu hawdurdodi yn 2011 ac yn 2010 (EFSA, 2011; 2010). Daw'r wybodaeth a roddir isod yn uniongyrchol o Gofrestr Honiadau Maeth ac Iechyd yr UE:

1) Mae melatonin yn cyfrannu at leihau'r amser mae'n ei gymryd i fynd i gysgu. Gellir defnyddio'r honiad ar gyfer bwyd sy'n cynnwys 1mg o felatonin fesul dogn wedi'i fesur, yn unig. Er mwyn cyfiawnhau'r honiad, rhaid rhoi gwybodaeth i'r defnyddiwr sy'n nodi bod yr effaith fuddiol i'w chael drwy yfed 1mg o felatonin cyn mynd i'r gwely.

2) Mae melatonin yn cyfrannu at leihau teimladau sy'n gysylltiedig â lludded jet. Gellir defnyddio'r honiad ar gyfer bwyd sy'n cynnwys o leiaf 0.5mg o felatonin fesul dogn wedi'i fesur yn unig. Er mwyn cyfiawnhau'r honiad, rhaid rhoi gwybodaeth i'r defnyddiwr sy'n nodi bod yr effaith fuddiol i'w chael drwy gymryd o leiaf 0.5mg cyn mynd i'r gwely ar y diwrnod cyntaf o deithio ac yn ystod yr ychydig ddyddiau ar ôl cyrraedd pen draw'r daith.

Cyfranogwyr/Gweithredwyr y Prosiect

Ffermwr Arweiniol: Rhys Loucher – Tŷ Tanglwyst, Y Pîl, Pen-y-bont ar Ogwr, CF33 4SA

Ffermwr Cyfranogwr: Philip Anthony – Fferm Haregrove, Pen-y-bont ar Ogwr, CF32 0NR

Swyddog Arweiniol: Neil Blackburn, Kite Consulting, The Dairy Lodge, Dunston Business
Prosiect EIP Village, Dunston, Swydd Stafford, ST18 9AB

Brocer Arloesedd: Russell Thomas, d/o Kite Consulting,

Amcanion

Cafodd y prosiect hwn ei arwain gan Kite Consulting gyda'r Ffermwr Cyfranogol Arweiniol – Rhys Lougher. Rheolwr y prosiect oedd y 'Brocer Arloesedd' Russell Thomas o Kite Consulting.

Nod y prosiect oedd asesu lefelau melatonin mewn llaeth wedi'i arwahanu o Fferm Tŷ Tanglwyst drwy brofi samplau yn y labordy. Bydd y llaeth a gaiff ei arwahanu yn llaeth a gynhyrchwyd yn ystod oriau mân y bore. Amcanion y prosiect oedd gwahanu 'llaeth y nos' a'i samplu ar gyfer Melatonin drwy gomisiynu labordai cydnabyddedig i ddatblygu methodolegau profi er mwyn cyfrifo'r lefelau cywir o felatonin ac yna i gynnal y profion.

Roedd ail fferm yn gweithredu fel 'rheolydd' a byddai'n monitro'r gwahaniaethau rhwng llaeth y bore a'r prynhawn cyn eu cymharu â'r canlyniadau a gofnodwyd yn Tŷ Tanglwyst.

Yn ei hanfod, roedd y prosiect yn profi samplau o laeth am lefelau melatonin, er mwyn canfod a oedd gwahaniaeth yn lefelau'r llaeth a gynhyrchwyd yn ystod y dydd a llaeth a gynhyrchwyd yn ystod y nos. Disgwylid i amrywiadau tymhorol (golau'r haf / gaeaf) gael eu hystyried ynghyd â ffactorau amgylcheddol fel yr adeiladau a dulliau rheoli goleuni. Roedd ffactorau eraill fel dwysfwyd (e.e. cyfanswm y meillion); cynyddu mewnbwn deietegol tryptoffan (sy'n rhagflaenu melatonin) ac sydd i'w ganfod yn y rhan fwyaf o fwydydd sy'n cynnwys llawer o brotein; y byddent yn gallu effeithio ar gynhyrchu melatonin hefyd; a byddai'n debygol y byddai'n rhaid ystyried effeithiau hyn.

Amserlen

Y bwriad oedd cynnal y prosiect am hyd at 13 mis rhwng 10fed Ebrill 2018 a 31 Mai 2019. Fodd bynnag oherwydd oedi wrth brosesu'r cais, derbyn cymeradwyaeth ar gyfer cyllid EIP, a chomisiynu labordai, bu'n rhaid gohirio dyddiad dechrau'r prosiect tan fis Medi 2018.

Lleoliad y Prosiect

Cafodd y gwaith a oedd yn gysylltiedig â chasglu samplau ei gynnal ar ddwy fferm laswellt yn ardal Pen-y-bont ar Ogwr. Er mwyn profi am felatonin byddai'n rhaid defnyddio labordai cymeradwy oddi ar y safle.

Gweithgareddau'r Prosiect

Mae lefelau melatonin mewn llaeth (ymhlith hylifau eraill) wedi cael eu mesur gan ddefnyddio amrywiaeth o dulliau gwyddonol, ond canfuwyd bod y rhan fwyaf o'r dulliau hyn yn anghywir a heb eu safoni'n ddigonol (Garcia-Parrilla *et al.*, 2009). Fodd bynnag, datblygodd astudiaeth a gyhoeddwyd yn 2014, ddull dadansoddi newydd i fesur faint o felatonin sydd mewn llaeth a honnir bod y dull hwn yn fwy manwl a dewisol, gan roi terfyn canfod is o'i gymharu â thechnegau eraill. Mae'n defnyddio Cromotograffaeth Hylif Sbectromedreg Màs (LCMS) (Karunanithi *et al.*, 2014).

Gan gofio hyn, roedd y prosiect yn mynd i ystyried y meysydd canlynol:

1. Profi samplau o laeth ar gyfer lefelau melatonin, er mwyn canfod a oes gwahaniaeth rhwng lefelau llaeth a gynhyrchwyd yn ystod y dydd a llaeth a gynhyrchwyd yn ystod y nos. Mae angen ystyried amrywiadau tymhorol (goleuni'r haf / gaeaf). Gall ffactorau eraill fel dwysfwyd (e.e. cyfanswm y meillion) effeithio ar gynhyrchedd hefyd.
2. Os yw'r lefelau yn >1mg fesul dogn wedi'i fesur (250ml yw'r dogn awgrymedig) gellir gwneud honiad.
3. Os yw'r lefelau yn <1mg fesul dogn wedi'i mesur, mae'n bosibl galw'r cynnyrch yn 'llaeth y nos' (h.y. llaeth a gynhyrchwyd gan wartheg yn ystod y nos), fodd bynnag, ni ellir gwneud honiad ynghylch y cynnwys melatonin neu effaith fuddiol posibl y llaeth ar gwsg.

O ran mesur crynodiadau o felatonin mewn llaeth yn y prosiect hwn, ac ar ôl sefydlu bod cromotograffaeth hylif sbectromedreg màs (LC-MS) wedi cael ei ddatblygu'n llwyddiannus i fesur lefelau melatonin, roedd gofyn am arbenigedd. Glynodd y prosiect at nodiadau canllawiau technegol Llywodraeth Cymru ar gaffael cyhoeddus a oedd yn nodi bod yn rhaid i'r prosiect ddangos iddo weithredu mewn ffordd deg ac agored drwy ddefnyddio ymarferiad tendro cystadleuol ar gyfer yr holl nwyddau neu wasanaethau sydd wedi'u cynnwys yn y prosiect y bwriedir hawlio cymorth grant ar ei gyfer. O ganlyniad, cafodd elfen profi melatonin y prosiect hwn ei hysbysebu a'i gosod ar dendr drwy GwerthwchiGymru er mwyn cydymffurfio; fel y nodir yn y tabl canlynol.

The thresholds and the requirements for a competitive tendering exercise are shown in the table below:

Final Value of the goods or services purchased	Competitive Tendering Requirement	Action
£0 - £4,999	One written quote	It is recommended to use suppliers that are registered on www.sell2wales.gov.wales
£5,000 – £24,999	Three written quotes	It is recommended to use suppliers that are registered on www.sell2wales.gov.wales
£25,000 and above	Full and open competition	Requirements must be published through www.sell2wales.gov.wales Quotes may be sought by direct reference to suppliers

Er mai LC-MS yw'r dull dewisol, cafodd contractwyr eu hannog i gyflwyno methodoleg profi angen. Cafodd hyn ei wirio drwy ymgynghori gyda'r contractwyr a oedd yn cyflwyno bidiau.

Y contractwr llwyddiannus a benodwyd i brofi'r samplau llaeth, drwy'r dull cromotograffaeth hylif sbectromedreg màs (LC-MS) oedd **Fera Science Limited ("Fera"), National Agri-Food Innovation Campus, Sand Hutton, Caerefrog (York), YO41 1LZ, Y Deyrnas Unedig**

Adran 3: METHODOLEG

Roedd y prosiect hwn yn ceisio asesu lefelau melatonin mewn llaeth wedi'i arwahanu (a broseswyd ar wahân) o Fferm Tŷ Tanglwyst drwy ddadansoddi samplau yn y labordy. Cafodd y llaeth a fyddai'n cael ei arwahanu ei gasglu drwy odro yn ystod oriau mân y bore ('Llaeth y Nos'). Nod y prosiect oedd gwahanu 'Llaeth y Nos' a'i ddadansoddi o ran ei gynnwys melatonin.

Comisiynwyd Fera Science Ltd (Fera) i ddatblygu methodolegau profi er mwyn cyfrifo'n gywir grynodiadau o felatonin mewn llaeth a dadansoddi'r samplau prawf. Roedd ail fferm yn darparu'r samplau llaeth 'rheolydd', gan ddarparu samplau llaeth a gasglwyd wrth odro yn ystod y dydd a'r nos. Yna, cafodd y rhain eu cymharu â chanlyniadau samplau Tŷ Tanglwyst; roedd canlyniadau'r samplau o 'Laeth y Nos' o ddi-ddordeb arbennig.

Ceisiodd y prosiect ganfod a oes gwahaniaeth o ran crynodiadau melatonin rhwng y llaeth a gynhyrchwyd yn ystod y dydd a'r llaeth a gynhyrchwyd yn ystod y nos. Roedd gwaith Fera yn cynnwys datblygu / optimeiddio dulliau dadansoddi yn y lle cyntaf, cyn dilysu'r fethodoleg ar gyfer canfod crynodiadau hybrin o felatonin (rhannau fesul biliwn) mewn llaeth.

Cynhaliwyd astudiaeth sefydlogrwydd hefyd ar laeth crai a llaeth wedi'i basteureiddio, a'i gyfnerthu â melatonin. Yn ogystal â dadansoddiad confensiynol wedi'i dargedu ar gyfer melatonin, defnyddiwyd dull sgrinio ychwanegol i chwilio am grynodiadau uwch o gyfansoddion eraill yn gysylltiedig â metabolaeth tryptoffan yn y samplau.

DISGRIFIAD O'R SAMPL

A. Astudiaeth Sefydlogrwydd

Er mwyn dilysu'r dull a chynnal yr astudiaeth sefydlogrwydd, cafodd 2 sampl cyfeiriol crynswth eu prynu gan gyflenwyr lleol ar gyfer y labordy, sef un sampl llaeth crai 1L o Cow Corner,

Thirsk, Gogledd Swydd Efrog (LIMS no: S19-034277) ac un sampl llaeth llawn 1L (LIMS no: S18-039488) o Sainsburys, Pocklington, Dwyrain Swydd Efrog.

B. Samplau'r Prawf

Derbyniwyd samplau gan Rhys Lougher, Fferm Tŷ Tanglwyst yn ystod 5 cyfnod samplu rhwng mis Medi 2018 a mis Ebrill 2019. Ar ôl cyrraedd y labordy, cafodd cynwysyddion y samplau eu hasesu o ran difrod cyn iddynt gael eu dynodi â rhif system rheoli gwybodaeth unigryw y labordy (LIMS). Gwelir y manylion yn Nhabl 1 (sylwer, yn yr achosion lle dechreuwyd godro cyn hanner nos, cofnodir hyn fel y diwrnod blaenorol).

Tabl 1. Samplau a manylion a ddarparwyd gan Rhys Lougher

Supplier sample number	Fera LIMS number	Date Collected	Time Collected	Farm	Milking start time	Raw / Pasteurised
1	Not assigned, this sample was damaged in transit to Fera					
2	S18-045307	24/9/18	00.15	Ty Tanglwyst	23.45	Pasteurised
3	S18-045308	24/9/18	00.15	Ty Tanglwyst	23.45	Raw
4	S18-045309	24/9/18	00.15	Ty Tanglwyst	23.45	Raw
5	S18-045310	24/9/18	9.15	Ty Tanglwyst	7.45	Raw
6	S18-045311	24/9/18	9.15	Ty Tanglwyst	7.45	Raw
7	S18-045312	24/9/18	15.15	Haregrove	15.00	Raw
8	S18-045313	24/9/18	15.15	Haregrove	15.00	Raw
9	S18-045314	24/9/18	23.00	Haregrove	21.30	Raw
10	S18-045315	24/9/18	23.00	Haregrove	21.30	Raw
11	S18-054465	31/10/18	00.15	Ty Tanglwyst	23.45	Pasteurised
12	S18-054466	31/10/18	00.15	Ty Tanglwyst	23.45	Pasteurised
13	S18-054467	31/10/18	00.15	Ty Tanglwyst	23.45	Raw
14	S18-054468	31/10/18	00.15	Ty Tanglwyst	23.45	Raw
15	S18-054469	31/10/18	9.00	Ty Tanglwyst	7.45	Raw
16	S18-054470	31/10/18	9.00	Ty Tanglwyst	7.45	Raw
17	S18-054471	31/10/18	22.00	Haregrove	21.30	Raw
18	S18-054472	31/10/18	22.00	Haregrove	21.30	Raw
19	S18-054473	31/10/18	8.00	Haregrove	6.00	Raw
20	S18-054474	31/10/18	8.00	Haregrove	6.00	Raw
21	S18-059395	11/12/18	23.50	Ty Tanglwyst	23.45	Pasteurised
22	S18-059396	11/12/18	23.50	Ty Tanglwyst	23.45	Pasteurised
23	S18-059397	11/12/18	23.50	Ty Tanglwyst	23.45	Raw

Rhif sampl y cyflenwr	Rhif LIMS Fera	Dyddiad Casglu	Amser Casglu	Fferm	Amser dechrau Godro	Crai / Wedi'i Basteureiddio
2A	S18-059398	11/12/18	23.SO	TyT8 1Wf'I	23AS	... N
26	\$ 1&-059399	11/12/18	9.15	Ty Till'QIW)1,1	7.45	... N
26	S18-059400	11/12/18	9.15	TyTargl...-,-,.,.,1	7.45	... N
V	S18-059401	11/12/18	7.15	Har	6.30	... N
26	S18-059402	11/12/18	7.15	Haregrme	6.30	... N
29	\$ 18-059403	11/12/18	22.00	Haregrme	21.30	... N
30	S18-059404	11/12/18	22.00	Har	21.30	... N
31	S19-011911	17/2/19	22.00	Haregro,e	21.30	... N
32	S19-011912	17/2/19	22.00	Haregro'l,8	21.30	... N
33	\$19-011913	18/2/19	7.15	Haregrme	6.30	... N
34	S 19-0 1191 4	18/2/19	7.15	Har	6.30	... N
3S	S19-011915	17/2/19	23.SS	T'(Ta rgl'N';SI	23.35	... N
36	\$19-011916	17/2/19	23.SS	TyTa l I I	23.35	... N
37	\$19-011917	17/2/19	23.SS	TyTargl...-,-,.,.,1	23.35	... N
36	S19-011918	17/2/19	23.SS	T'(Ta rgl'N';SI	23.35	... N
39	S19-011919	17/2/19	23.55	T'(Ta r,glwy3l	23.35	... N
40	S19-011920	17/2/19	23.55	TyT8 1Wf'I	23AS	... N
41	\$19-011921	17/2/19	23.SS	Ty Till'QIW)1,1	23.45	... N
42	S19-011922	17/2/19	23.SS	T'(Ta r,glwy3l	23.45	... N
43	S19-011923	17/2/19	23.55	TyT8 1Wf'I	23AS	... N
44	\$ 19-0 1192 4	17/2/19	23.SS	TyTa l I I	23.45	... N
45	\$19-011925	18/2/19	6.00	TyTargl...-,-,.,.,1	7.45	... N
46	S19-011926	18/2/19	6.00	T'(Ta rgl'N';SI	7.4-5	... N
47	S19-011927	18/2/19	6.00	T'(Ta rgl'N';SI	7.4S	... N
48	\$19-011928	18/2/19	6.00	TyTargl...-,-,.,.,1	7.45	... N
49	S19-011929	18/2/19	6.00	TyTarQIW)1,1	7.4-5	... N
50	S19-011930	18/2/19	6.00	T'(Ta rgl'N';SI	7.4-5	... N
51	S19-011931	18/2/19	6.00	TyT8 1Wf'I	7.45	... N
52	\$19-011932	18/2/19	6.00	TyT8 1Wf'I	7.45	... N

Supplier sample number	Fera LIMS number	Date Collected	Time Collected	Farm	Milking start time	Raw / Pasteurised
53	S19-011933	18/2/19	1.00	Ty Tanglwyst	23.45	Raw
54	S19-011934	18/2/19	1.00	Ty Tanglwyst	23.45	Raw
55	S19-019132	25/4/19	1.00	Ty Tanglwyst	23.45	Raw
56	S19-019133	25/4/19	1.00	Ty Tanglwyst	23.45	Raw
57	S19-019134	25/4/19	1.00	Ty Tanglwyst	23.45	Raw
58	S19-019135	25/4/19	1.00	Ty Tanglwyst	23.45	Raw
59	S19-019136	25/4/19	1.00	Ty Tanglwyst	23.45	Raw
60	S19-019137	25/4/19	1.00	Ty Tanglwyst	23.45	Raw
61	S19-019138	25/4/19	1.00	Ty Tanglwyst	23.45	Raw
62	S19-019139	25/4/19	1.00	Ty Tanglwyst	23.45	Raw
63	S19-019140	25/4/19	1.00	Ty Tanglwyst	23.45	Raw
64	S19-019141	25/4/19	1.00	Ty Tanglwyst	23.45	Raw
65	S19-019142	25/4/19	1.00	Ty Tanglwyst	23.45	Raw
66	S19-019143	25/4/19	1.00	Ty Tanglwyst	23.45	Raw
67	S19-019144	25/4/19	7.30	Ty Tanglwyst	7.00	Raw
68	S19-019145	25/4/19	7.30	Ty Tanglwyst	7.00	Raw
69	S19-019146	25/4/19	7.30	Ty Tanglwyst	7.00	Raw
70	S19-019147	25/4/19	7.30	Ty Tanglwyst	7.00	Raw
71	S19-019148	25/4/19	7.30	Ty Tanglwyst	7.00	Raw
72	S19-019149	25/4/19	7.30	Ty Tanglwyst	7.00	Raw
73	S19-019150	25/4/19	7.30	Ty Tanglwyst	7.00	Raw
74	S19-019151	25/4/19	7.30	Ty Tanglwyst	7.00	Raw
75	S19-019152	25/4/19	7.30	Ty Tanglwyst	7.00	Raw
76	S19-019153	25/4/19	7.30	Ty Tanglwyst	7.00	Raw
77	S19-019154	25/4/19	7.30	Ty Tanglwyst	7.00	Raw
78	S19-019155	25/4/19	7.30	Ty Tanglwyst	7.00	Raw

Disgrifwyd Samplau 66 a 78 fel "samplau crynswth" sef samplau a oedd yn cynnwys yr holl laeth a gasglwyd ar y dyddiad / amser hwnnw.

DILYSU

Dilysu'r dull:

Cyn derbyn y samplau, cafodd y dull ei ddilysu er mwyn sicrhau ei fod yn gywir, yn fanwl a bod y terfynau canfod yn addas ar gyfer y pwrpas.

Cafodd samplau llaeth cyfnerthedig (wedi'u gor-gryfhau) eu paratoi mewn llaeth wedi'i basteureiddio. Paratowyd chwe dyblygiad ar grynodiadau melatonin o 0.01 a 0.1 µg/mL cyn iddynt gael eu hechdynnu a'u pennu gan Cromotograffaeth Hylif tandem pedrypol Sbectromedreg Màs (LC-MS/MS). Cyfrifwyd y samplau gan ddefnyddio amrediad graddnodi wedi'i baratoi o ddadansoddiad safonol mewn methanol rhwng 0.005 a 0.5 µg/mL. Ychwanegwyd safon mewnol (melatonin-d4) i'r holl samplau cyfnerthedig a chalibradau i gywirio unrhyw effeithiau matrices yn y gwaith cyfrifo.

Deunyddiau:

Prynwyd y safonau melatonin cyfeiriol a'r safonau wedi'u dewteradu gan Sigma-Aldrich a Cayman Chemicals yn y drefn honno.

Astudiaeth sefydlogrwydd:

Er mwyn gwerthuso sefydlogrwydd melatonin mewn llaeth crai a llaeth wedi'i basteureiddio, cynhaliwyd astudiaeth i fesur crynodiadau melatonin dros gyfnod o 3 wythnos, mewn samplau cyfnerthedig a storiwyd o dan 2 amod storio gwahanol: (i) yn yr oergell (~-4°C) ac (ii) yn y rhewgell (~-20°C).

Er mwyn sicrhau bod melatonin yn absennol (< 0.005 µg/mL), cafodd y samplau crynswth o laeth crai a llaeth wedi'i basteureiddio eu dadansoddi cyn paratoi unrhyw ddeunydd cyfnerthedig (a'u categoreiddio fel 'deunydd gwag').

Ychwanegwyd 1 mL o 1 mg/mL safon cyfeiriol melatonin i bob 1L o'r llaeth crai a'r llaeth wedi'i basteureiddio i roi samplau cyfnerthedig ar 1 µg/mL ar gyfer yr astudiaeth hon. Cafodd y deunyddiau cyfnerthedig 1 L hyn eu cymysgu'n drylwyr â chorddwr magnetig am tua awr, cyn i alicwotau (~ 2 mL) gael eu trosglwyddo i gostreli gwydr melyngoch a'u storio ar naill ai 4°C neu -20°C.

Cafodd samplau eu dadansoddi fesul tri ar yr amseroedd canlynol: Diwrnod 0, Diwrnod 6, Diwrnod 10, Diwrnod 16 a Diwrnod 20.

Paratowyd hydoddydd dadansoddol safonol (melatonin mewn methanol) ar 0.1 µg/mL, a'i storio ar 4°C a'i ddadansodi ar yr amseroedd canlynol: Diwrnod 0, Diwrnod 1, Diwrnod 6, Diwrnod 10, Diwrnod 16 a Diwrnod 20.

ECHDYNNU'R SAMPL

Cafodd holl samplau cyfnerthedig yr astudiaeth dilysu dull a sefydlogrwydd, a'r samplau prawf a dderbyniwyd gan Rhys Lougher, eu paratoi ar gyfer eu dadansoddi fel a ganlyn:

Roedd y fethodoleg yn seiliedig ar Karunanithi, et, al¹. Ychwanegwyd y safon melatonin-d4 mewnol atynt ar grynodiad o 0.1 µg/mL cyn echdynnu.

Yn gryno, ychwanegwyd 1 ml o'r sampl i getrisen echdynnu cyfnod solid echludo cemegol 5 mL (Agilent). Cafodd y getrisen ei hechludo â 15 mL o dichloromethan, wedi'i anweddu i gyflwr sych ar dymheredd ystafell o dan nitrogen cyn ei ailansoddi â methanol. Yna cafodd yr holl samplau eu hidlo drwy hidlen PVDF 0.22 µm cyn eu dadansoddi gan LC-MS/MS.

¹ Karunanithi, D., Radhakrishna, A., Sivaraman, KP. a Biju, VM (2013). Quantitative determination of melatonin in milk by LC-MS/MS. Journal of Food Science and Technology, 51(4):805-812

LC-MS/MS

Cafodd y dadansoddiad LC ei gynnal ar system Acquity UPLC gan Waters Corporation. Defnyddiwyd colofn Poroshell 120 (EC) C18 100 x 2.1mm, 2.7 µm (Agilent). Y cyfnodau symudol oedd 5 mM ammoniwm asetat mewn dŵr (cyfnod symudol A, MPA) a methanol (cyfnod symudol B, MPB). Y graddiant a ddefnyddiwyd oedd 98% MPA am 2 funud cyn ei gynyddu i 98% MPB dros 6 munud. Cafodd hyn ei gynnal am 2 funud cyn dychwelyd i 98% MPA a'i gynnal am 2 funud. Y cyfaint chwistrellu oedd 3 µL, y gyfradd llifiant oedd 0.4 mL/min a thymheredd y golofn oedd 40°C. Defnyddiwyd MS Quattro Premier XE (Waters Corporation) wedi'i osod gyda ffenestr gaffael rhwng 4 a 6 munud yn y modd positif. Cyflwynir crynodeb o'r amodau caffael data yn Nhabl 2.

Cafodd y data eu gwerthuso a'r melatonin ei gyfrif gan ddefnyddio Masslynx 4.1 (Waters Corporation).

Terfyn mesur y dadansoddiad hwn oedd 0.005 µg/mL, ac amcangyfrifwyd bod y terfyn canfod tua hanner hyn (0.0025 µg/mL) yn seiliedig ar y signal: sŵn y calibrad isaf. Cywirwyd yr holl waith cyfrifo gan ddefnyddio'r ymateb mewnol safonol wedi'i ddewteradu.

Tabl 2. Crynodeb o amodau caffael MS/MS ar gyfer melatonin a melatonin-d4.

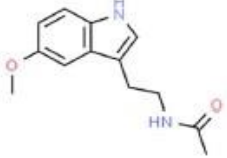
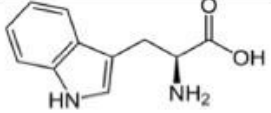
Compound	MS/MS transition	Cone Voltage	Collision Voltage	Dwell time (ms)	Retention time (min)
Melatonin	233 > 130	27	45	50	5.5
	233 > 159	27	27	50	
	233 > 174	27	15	50	
Melatonin-d4	237 > 178	27	15	50	5.5

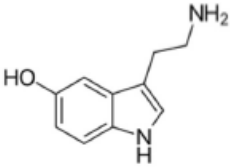
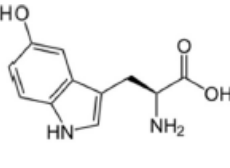
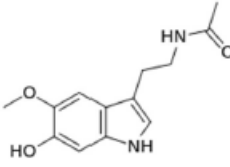
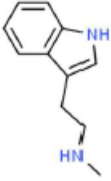
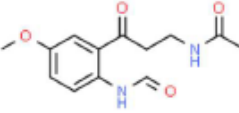
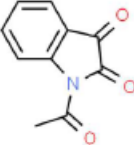
DADANSODDIAD SGRINIO

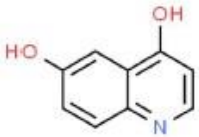
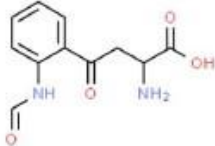
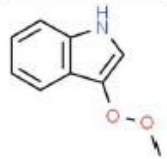
Manylion sgrinio:

Yn ychwanegol at y dadansoddiad targed ar gyfer melatonin, cafodd y 19 sampl cyntaf (samplau 2 – 20 yn Nhabl 1) eu sgrinio ar gyfer cyfansoddion eraill yn gysylltiedig â metabolaeth tryptoffan. Gwnaed hyn gan ddefnyddio'r un echdyniad sampl ar gyfer y prif astudiaeth darged, cyn ei ddadansoddi gan Gromotograffaeth Hylif Sbectromedreg Mâs Cydraniad Uchel (LC-HRMS). Ceir crynodeb o'r 11 cyfansoddyn a sgriniwyd yn ôl y dull hwn yn Nhabl 3.

Tabl 3. Crynodeb o gyfansoddion wedi'u cynnwys yn y fethodoleg sgrinio HRMS

Compound	Formula	Mass	Structure
Melatonin	C ₁₃ H ₁₆ N ₂ O ₂	232.1212	
Tryptophan	C ₁₁ H ₁₂ N ₂ O ₂	204.0899	

Compound	Formula	Mass	Structure
Serotonin	C ₁₀ H ₁₂ N ₂ O	176.0950	
5-Hydroxytryptophan	C ₁₁ H ₁₂ N ₂ O ₃	220.0848	
6-Hydroxymelatonin	C ₁₃ H ₁₅ N ₂ O ₃	248.1161	
N-Methyl tryptamine	C ₁₁ H ₁₄ N ₂	174.1157	
Formyl-n-acetyl-5-methoxykynurenamine	C ₁₃ H ₁₅ N ₂ O ₄	264.1110	
N-Acetylisatin	C ₁₀ H ₉ NO ₃	189.0426	

Compound	Formula	Mass	Structure
4,6-Dihydroxyquinoline	C ₉ H ₇ NO ₂	161.0477	
N-Formylkynurenine	C ₁₁ H ₁₂ N ₂ O ₄	236.0797	
3-Methyldioxyindole	C ₉ H ₉ NO ₂	163.0633	

LC-HRMS

Cafodd y dadansoddiad LC ei wneud ar system Accela High Speed LC gan Thermo Fisher Scientific. Defnyddiwyd colofn ACE 3Q 150x3mm, 3µm (Advanced Chromatography Technologies). Y cyfnodau symudol oedd 0.1% asid fformig mewn dŵr (cyfnod symudol A, MPA) a 0.1% asid fformig mewn acetonitril (cyfnod symudol B, MPB). Cafodd y graddiant ei ddefnyddio ar 100% MPA am 5 munud cyn ei gynyddu i 100% MPB am gyfnod o 15 munud. Cafodd hyn ei gynnal am 10 munud cyn dychwelyd i 100% MPA a'i gynnal am 2 funud. Y cyfaint chwistrellu oedd 10 µL, y gyfradd llifiad oedd 0.4 ml/min a thymheredd y golofn oedd 25°C. Defnyddiwyd MS Thermo Exactive (Thermo Fisher Scientific) a osodwyd ar 50,000 ar gydraniad o FWHM @ 200 m/z gyda chyflymder caffael o 2Hz.

Cafodd data eu caffael mewn dau swp ar wahân i gynnwys moddau ÷oneiddio positif a negyddol ar gyfer canfod mwy o gyfansoddion. Dadansoddiwyd y samplau ar hap gan ddefnyddio www.random.org.

Cafodd y data eu gwerthuso gan ddefnyddio meddalwedd Xcalibur qual (Thermo Fisher Scientific).

Adran 4: CANLYNIADAU

DILYSU'R DULL

O ran manylder a chywirdeb, ystyrid bod y dull a ddefnyddiwyd yn addas ar gyfer gwerthuso'r samplau cyfnerthedig ar ddau grynodiad. Cyflwynir crynodeb o'r data yn Nhabl 4. Mae Ffigurau 1 a 2 yn dangos cromatograffeg enghreifftiol mewn sampl cyfnerthedig gyda melatonin ar 0.01 a 0.1 µg/ml, mae Ffigur 3 yn dangos cromatograffeg enghreifftiol ar gyfer hydoddydd safonol ar 0.005 µg/ml ac mae Ffigur 4 yn dangos cromlin calibradu enghreifftiol a ddefnyddiwyd ar gyfer meintio.

Tabl 4. Crynodeb o ddull dilysu'r data ar felatonin

	Fortified concentrations in pasteurised milk ($\mu\text{g/mL}$)	
	<u>0.01</u>	<u>0.1</u>
Mean concentration [$\mu\text{g/mL}$]	0.0103	0.1008
Precision [CV%]	1.6	2.0
Accuracy [%]	103	101
Number of replicates	6	6



Figure 1. Example melatonin chromatography (233>174), in a fortified pasteurised milk sample at 0.01 $\mu\text{g/mL}$.



Figure 2. Example melatonin chromatography (233>174), in a fortified pasteurised milk sample at 0.1 $\mu\text{g/mL}$.



Figure 3. Example melatonin chromatography (233>174), in a solvent standard at 0.005 $\mu\text{g/mL}$.

Compound name: Melatonin
 Coefficient of Determination: $R^2 = 0.999946$
 Calibration curve: $-2.99445 \cdot x^2 + 18.8216 \cdot x + 0.00449362$
 Response type: Internal Std (Ref 1), Area * (IS Conc. / IS Area)
 Curve type: 2nd Order, Origin: Exclude, Weighting: 1/x, Axis trans: None

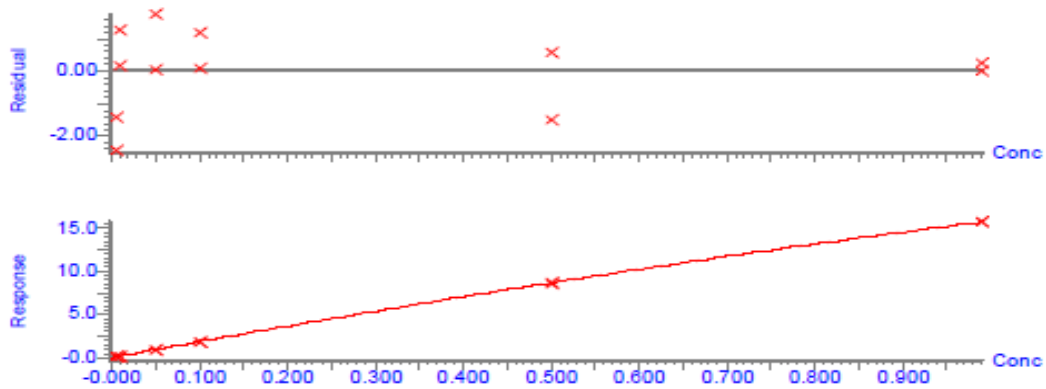


Figure 4. Example calibration curve of solvent standards of melatonin between 0.005 and 1 $\mu\text{g/mL}$.

Astudiaeth Sefydlogrwydd

Roedd y samplau o laeth wedi'i basteureiddio a'r llaeth crai cyfnerthedig ar 1 $\mu\text{g/ml}$ a storiwyd o dan y ddau set o amodau (4°C a -20°C) yn dangos crynodiad sefydlog o melatonin ar draws 20 diwrnod cyfnod yr astudiaeth. Mae Ffigurau 5 i 9 yn plotio'r crynodiadau melatonin ar draws pob un o'r amseroedd dadansoddi ar gyfer y ddau fath o laeth a'r ddau set o amodau storio, ynghyd â'r hydoddydd melatonin safonol a gafodd ei werthuso o ran sefydlogrwydd hefyd.

Roedd hyn yn rhoi hyder y gellid storio samplau yn oer neu wedi'u rhewi am o leiaf 3 wythnos cyn eu dadansoddi heb achosi i felatonin gael ei dorri i lawr ac arwain at grynodiad is.

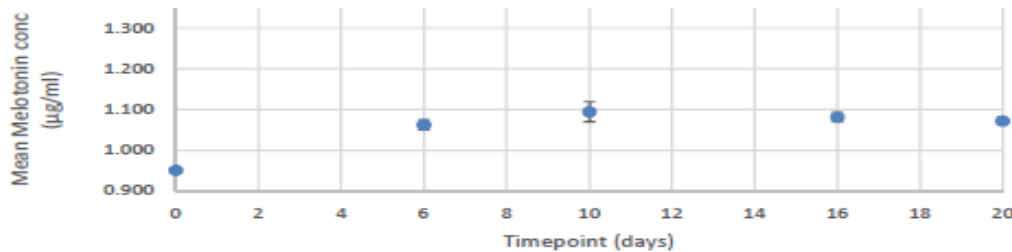


Figure 5. Concentrations of melatonin in a fortified pasteurised milk sample (1 $\mu\text{g/mL}$) stored at 4°C over a time period of 20 days.

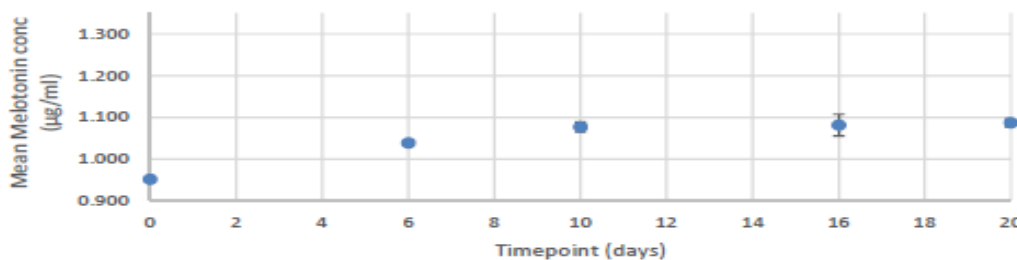


Figure 6. Concentrations of melatonin in a fortified pasteurised milk sample (1 $\mu\text{g/ml}$) stored at -20°C over a time period of 20 days.

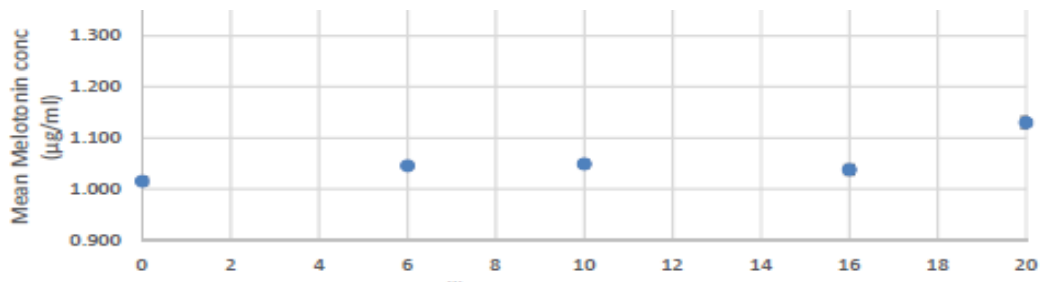


Figure 7. Concentrations of melatonin in a fortified raw milk sample (1 µg/ml) stored at 4°C over a time period of 20 days.

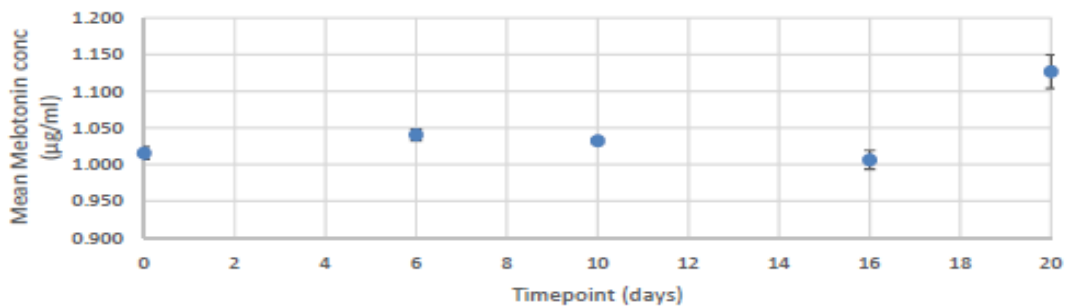


Figure 8. Concentrations of melatonin in a fortified raw milk sample (1 µg/ml) stored at -20°C over a time period of 20 days.

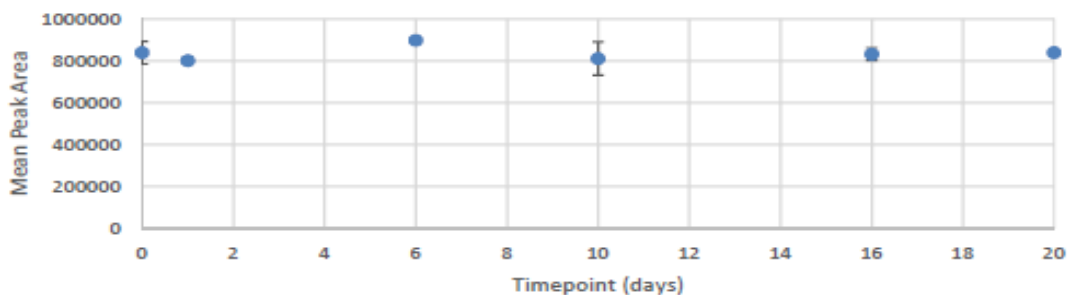


Figure 9. Response (peak area) of melatonin in a solvent standard at 0.1 µg/ml stored at 4°C over a time period of 20 days.

SAMPLAU'R PROFION

Dadansoddiad o'r Sampl: Melatonin

Cafodd yr holl samplau a ddisgrifwyd yn Nhabl 1 eu dadansoddi ar gyfer melatonin gan ddefnyddio'r methodolegau a ddisgrifiwyd yn Adran 3.

Ni chafodd melatonin ei ganfod mewn unrhyw sampl hyd at 0.005 µg/ mL.

Dadansoddiad Sgrinio'r Sampl: Tryptoffan a chyfansoddion cysylltiedig

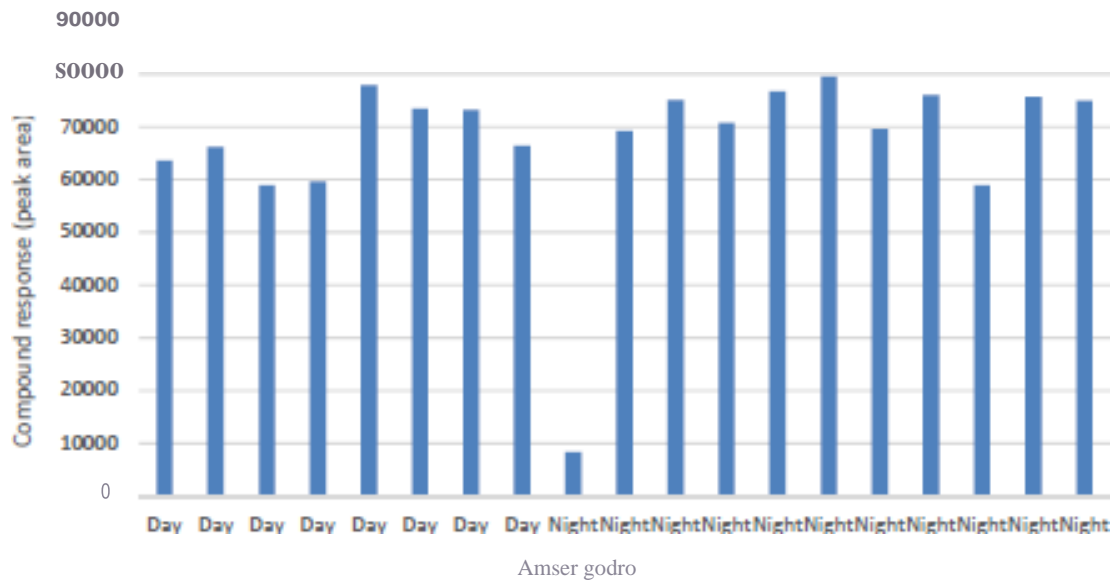
Cafodd yr 19 sampl cyntaf (LIMS: S18-045307–S18-045315 a S18-05466–S18-054474 yn Nhabl 1) eu sgrinio am yr holl gyfansoddion sy'n gysylltiedig â metaboledd Tryptoffan yn Nhabl 3, gan ddefnyddio'r methodolegau a ddisgrifiwyd yn Adran 3.

Canfuwyd Tryptoffan ac N-Acetylisatin yn unig ac roeddynt yn bresennol ym mhob sampl. Rhoddir crynodeb o'r ymatebion brig hyn yn Nhabl 5. Nid oedd yn bosibl gweld unrhyw dueddiadau neu gysylltiadau amlwg rhwng amseroedd godro [nos (n=11) neu ddydd (n=8)], neu rhwng ffermydd gwahanol (lleoliadau), ac ymatebion y cyfansoddion hyn.

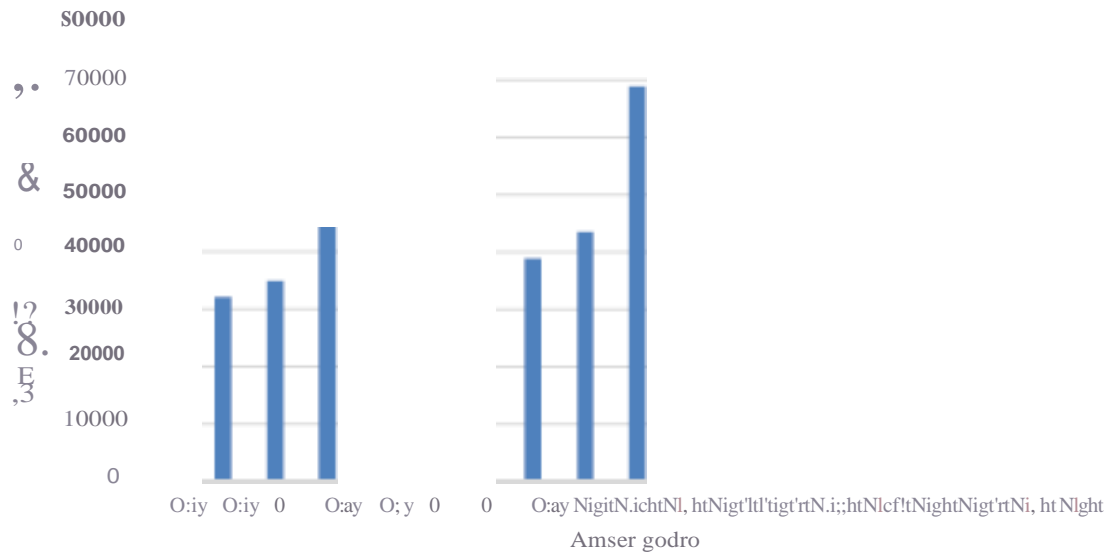
Mae Ffigurau 10–13 yn dangos ymatebion Tryptoffan ac N-Acetylisatin o safbwynt amser godro a lleoliad y fferm.

Tabl 5. Crynodeb o'r ymatebion drwy LC-HRMS (ardaloedd brig) ar gyfer Tryptoffan ac N-Acetylisatin mewn 19 sampl o laeth o'r ddwy fferm ac ar amseroedd godro gwahanol.

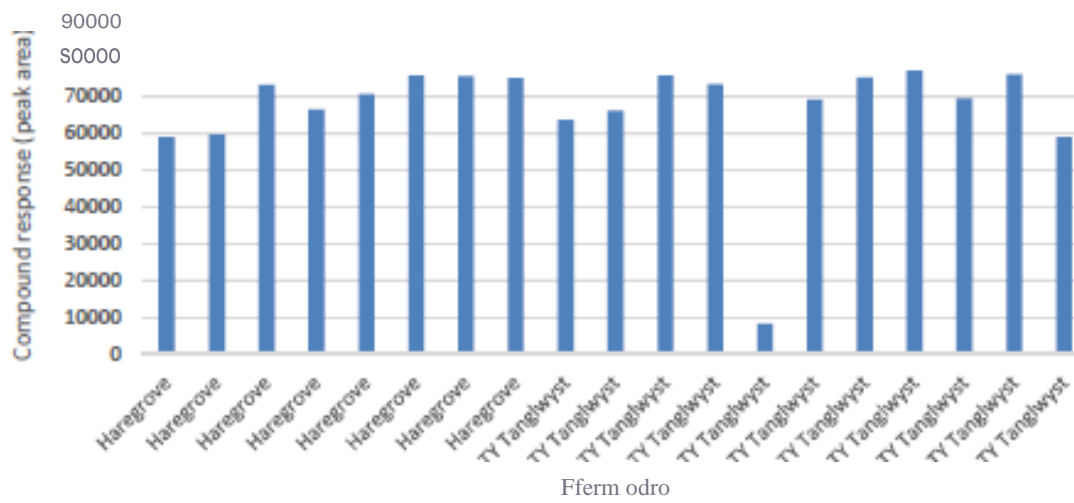
LIMS number	Milking time	Farm	Milk type	N-Acetylisatin response	Tryptophan response
S18-045307	Night	TY Tanglwyst	Pasteurised	43465	8318
S18-045308	Night	TY Tanglwyst	Raw	68887	69171
S18-045309	Night	TY Tanglwyst	Raw	39204	75060
S18-045310	Day	TY Tanglwyst	Raw	62255	63597
S18-045311	Day	TY Tanglwyst	Raw	32038	66147
S18-045312	Day	Haregrove	Raw	34814	58890
S18-045313	Day	Haregrove	Raw	44242	59533
S18-045314	Night	Haregrove	Raw	45623	70631
S18-045315	Night	Haregrove	Raw	51829	76736
S18-054465	Night	TY Tanglwyst	Pasteurised	62859	79516
S18-054466	Night	TY Tanglwyst	Pasteurised	75376	69567
S18-054467	Night	TY Tanglwyst	Raw	36116	76006
S18-054468	Night	TY Tanglwyst	Raw	30247	58880
S18-054469	Day	TY Tanglwyst	Raw	38333	77801
S18-054470	Day	TY Tanglwyst	Raw	44043	73406
S18-054471	Night	Haregrove	Raw	37022	75598
S18-054472	Night	Haregrove	Raw	33786	74900
S18-054473	Day	Haregrove	Raw	45533	73144
S18-054474	Day	Haregrove	Raw	38868	66439



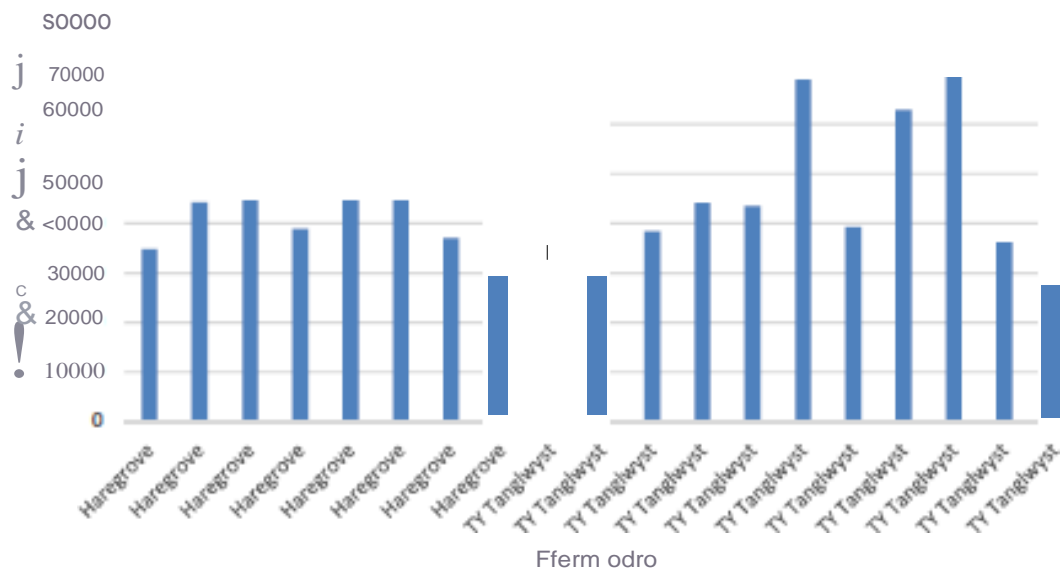
Ffigur 10. Ymateb Tryptoffan (ardal frig) mewn samplau yn ôl amser godro (nos/dydd).



Ffigur11. Ymateb N-Acetylisatin (ardal frig) mewn samplau yn ôl amser godro (nos/dydd).



Ffigur 12. Ymateb Tryptoffan (ardal frig) mewn samplau yn ôl lleoliad y fferm.



Ffigur 13. Ymateb N-Acetylisatin (ardal frig) mewn samplau yn ôl lleoliad y fferm.

Adran 5: CASGLIADAU

O'r 77 sampl a ddadansoddwyd, nid oedd melatonin yn bresennol uwchlaw 0.005 µg/mL. Awgryma hyn na cheir lefel uwch o felatonin drwy odro yn ystod y nos, oni bai ei fod ar grynodiad islaw'r terfynau canfod bychan iawn.

Hormon yw melatonin sy'n cael ei gynhyrchu yn y llwybr tryptoffan/serotonin, ac mae'n rheoleiddio rhythmau dyddiol ac yn dylanwadu ar y systemau atgenhedlu ac imiwnedd. Cydnabyddir yn gyffredinol bod synthesis melatonin yn cael ei reoleiddio gan y sbectwm golau glas (h.y. rhwng 446 a 477 nm) mewn golau artiffisial ac yng ngolau'r haul. Yn ystod cyfnodau o dywyllwch, bydd melatonin yn cael ei secretu gan y chwarren pineol i annog effeithiau niwrol ac endocrinaidd sy'n rheoli rhythmau cylchredau ymddygiad, ffisioleg, a phatrymau cwsg. Fodd bynnag, mae'n bosibl y bydd pobl yn cael mwy o fudd, a gwell patrymau cwsg, o felatonin wedi'i fetaboleiddio drwy synthesis yn y corff o'r asid amino tryptoffan, yn hytrach na drwy yfed llaeth wedi'i atgynerthu â melatonin. Drwy nodi lefelau uwch o tryptoffan yn y llaeth (sydd ar gael yn ddigon eang; oherwydd llaeth yw'r bwyd cyffredin sy'n cynnwys y lefelau uchaf o tryptoffan) mae'n bosibl y gwelwyd yr un effaith a'r hyn fyddai'n ddisgwyliedig gan felatonin. Oherwydd hyn, mae'n bosibl y byddai wedi bod yn well petai'r prosiect hwn wedi ystyried lefelau tryptoffan a ffyrdd o'i drin mewn llaeth.

Fodd bynnag, cafodd tryptoffan ei gynnwys fel gweithdrefn brofi eilaidd, ond yn affodus, yn achos yr 19 sampl cyntaf a ddadansoddwyd ar gyfer tryptoffan a 10 cyfansawdd arall yn gysylltiedig â metaboledd tryptoffan, 2 yn unig a gafodd eu canfod â chrynodiad uwch na'r amcangyfrif o 0.05 µg/ml. Y rhain oedd Tryptoffan ei hun (a fyddai'n ddisgwyliedig mewn llaeth oherwydd ei bresenoldeb fel asid amino) a'r cynnyrch metabolyn terfynol N-Acetylisatin.

Ni wnaeth yr un o'r cyfansoddion hyn ddangos unrhyw duedd amlwg, e.e. cynnydd neu ostyngiad o ran crynodiad (ar sail ymateb ardal frig), yn gysylltiedig ag amser godro neu leoliad y fferm.

Gellid dadlau y gallai archwiliad pellach a rhaglen brofi hirach ddangos tueddiadau bach iawn. Fodd bynnag, mae Fera Science o'r farn bod y broses o brofi'r samplau yn ddigon hir a chadarn i ddod i'r casgliad nad oes effaith neu wahaniaeth yn y crynodiadau mewn llaeth ar wahanol adegau yn y diwrnod.