

DVA ASPEKTY KYSELOSTI Z POHLEDU KLASIFIKACE SYROVÉHO MLÉKA PRO ZPRACOVATELSKOU TECHNOLOGII – ÚVAHA NA BÁZI AKTUÁLNÍCH HODNOT

Oto Hanuš¹, Hana Nejeschlebová¹, Gavin Thompson², Eva Samková³, Martina Tišnovská⁴, Petr Tichovský⁵, Radoslava Jedelská¹, Jaroslav Kopecký¹, Jitka Čejková²

¹ Výzkumný ústav mlékárenský s.r.o., Praha, pracoviště Šumperk

² Bentley Czech s.r.o., Prostějov, Budapest

³ Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Fakulta zemědělská a technologická, Katedra potravinářských biotechnologií a kvality zemědělských produktů

⁴ Českomoravská společnost chovatelů a.s., Hradištko, Laboratoř rozborů mléka, Brno-Tuřany

⁵ Moravia Lacto a.s., Jihlava

Two aspects of acidity from the point of view of raw milk classification for processing technology – consideration on the basis of current values

Abstrakt

Titrační kyselost mléka (TKM) byla jako kvalitativní ukazatel syrového mléka v předchozí periodě cca 20 let zřetelně opomíjena. Primární TKM sestává ze 40 % z vlivu kaseinu (bílkovin), z cca stejného vlivu minerálních látek a stop organických kyselin a z 20 % z účinku sekundární reakce připadající na fosfáty při alkalické titraci. TKM zůstane i nadále důležitým hygienicko-technologickým ukazatelem z reálných důvodů. V ČR je TKM dlouhodobě limitována: obvykle 6,2 až 7,8 °SH. TKM jako technologická vlastnost podlehla za delší období určitým vlivovým změnám (především vlivem rostoucího obsahu bílkovin mléka o cca 0,2 % v důsledku

genetického zušlechťování a zlepšení zdravotního stavu a výživy dojnic), kdy lze počítat i s určitými posuny případně aplikovaných limitních hodnot při posuzování kvality syrového mléka. Byl proveden pokusný návrh pro změnu ve vnímání zavedených limitů TKM podložený o reálné, aktuální hodnocení výsledků v ČR (n = 207 (primární TKM) a 414 (primární a sekundární TKM získaná fermentací za popsaných podmínek)) během celého kalendářního roku pro obě dojená plemena (H a CF). Všechny vzorky mléka byly negativní na výskyt reziduí inhibičních látek. Za popsaných podmínek prodlevy (uložení mléka) do analýzy TKM se tato zvýšila v důsledku mikrobiální aktivity ze $7,28 \pm 0,57$ °SH na $13,76 \pm 6,96$ °SH ($P < 0,001$). Korelace mezi TKM a aktivní kyselostí pH bývají zpravidla nevýrazné. Dříve byla uvedena korelace primární TKM s pH 0,08 ($P > 0,05$). Tato korelace primární TKM k pH ukazuje, že jen 0,64 % variability v pH je podmíněno variabilitou uvnitř TKM. Zde byly korelace pro TKM primární a sekundární a pro TKM sekundární s primární a pH $-0,89$ a $-0,85$. Tyto naznačují, že při jasném zahrnutí sekundární TKM až 78,8 a 72,2 % variability v pH může být podmíněno variabilitou hodnot TKM. Výraznější hodnoty korelací jsou právě důsledkem vlivu značného podílu získané TKM, tzn. případné podezření z negativního vlivu technologie na kvalitu. TKM může vstoupit (po prolomení pufrční kapacity) do významného vztahu k laktóze ($r = -0,75$; $P < 0,001$), a to svojí sekundární složkou, ačkoliv v případě primární TKM žádný vztah neexistoval ($r = 0,07$; $P > 0,05$). Pak 55,7 % variability v hodnotách TKM je podmiňováno variacemi změn v obsahu laktózy. Již dříve byl definován návrh limitů TKM podle korespondujících hodnot pH (Kratochvíl et al., 1984). Tehdy definice vysvětlovala, že při vyšším obsahu bílkovin může i mléko s nadlimitní TKM být kvalitní, to znamená bez získané sekundární kyselosti (i při TKM např. 8,8 °SH). Od roku 1984 vzrostl obsah bílkovin cca o 0,2 %. Lze provést výpočet, že horní limit TKM by měl být zvýšen o cca 0,18 °SH, jestliže při obsahu bílkovin cca 3,3 % bylo odhadnuto, že tvoří 2/5 TKM. Korespondující návrh pro limity pH, kdy u původně navržených limitů pH již může jít o prolomení pufrčního systému mléka, by mohl být 6,55 až 6,95 pro

kvalitní mléko, a to z původních 6,3 až 7,2. Provedený pokusný návrh pro změnu ve vnímání zavedených limitů TKM a doporučených pro pH upravuje pohled na hodnocení kyselostí mléka (TKM a pH) z kvalitativního a technologického hlediska.

Klíčová slova: bazénový vzorek, syrové kravské mléko, titrační kyselost mléka, aktivní kyselost mléka, elektrická vodivost, obsah hrubých bílkovin, kasein

Abstract

The titratable acidity of milk (TAM) was clearly neglected as a qualitative indicator of raw milk in the previous period of about 20 years. Primary TAM consists 40% from the effect of casein (proteins), about the same amount from the effect of minerals and traces of organic acids and about 20% from the effect of the secondary reaction attributable to phosphates during alkaline titration. TAM will continue to be an important hygienic-technological indicator for real reasons. In the Czech Republic, TAM is long-term limited: usually 6.2 to 7.8 °SH. TAM as a technological property has succumbed to certain influential changes over a longer period of time (mainly due to the increasing protein content of milk by approx. 0.2% as a result of genetic breeding and improvement of the health status and nutrition of dairy cows), while certain shifts in the applied limit values when assessing the quality of raw milk can also be a factor. An experimental proposal for a change in the perception of the established TAM limits was carried out based on a real current evaluation of the results in the Czech Republic ($n = 207$ (primary TAM) and 414 (primary and secondary TAM obtained by fermentation under the described conditions)) during the entire calendar year for both milked breeds (H and CF). All milk samples were negative for the presence of residues of inhibitory substances. Under the described conditions of delay (storage of milk) until the TAM analysis, it increased due to microbial activity from 7.28 ± 0.57 °SH to 13.76 ± 6.96 °SH ($P < 0.001$). Correlations between TAM and active acidity pH tend to be weak. A correlation of primary TAM with pH of 0.08 ($P > 0.05$) was previously reported. This correlation of primary TAM to pH shows that only 0.64% of the variability in pH is due to variability within TAM. Here, the correlations for TAM primary and secondary and for TAM secondary with primary and pH were -0.89 and -0.85 . These indicate that with the clear inclusion of secondary TAM up to 78.8 and 72.2% of the variability in pH can be accounted for variability of TAM values. More significant correlation values are precisely the result of the influence of a significant share of the obtained TAM, i.e. possible suspicion of a negative effect of technology on quality. TAM can enter (after breaking the buffering capacity) into a significant relationship with lactose ($r = -0.75$; $P < 0.001$), with its secondary component, although in the case of primary TAM there was no relationship ($r = 0.07$, $P > 0.05$). Then 55.7% of the

variability in TAM values is conditioned by variations in changes in lactose content. The proposal of TAM limits according to the corresponding pH values was already defined (Kratochvíl et al., 1984). At that time, this definition explained that with a higher protein content also milk with an above-limit TAM can be of good quality, it means without acquired secondary acidity (even with a TAM e.g. 8.8 °SH). The protein content has increased by approx. 0.2% since 1984. A calculation can be made that the upper limit of TAM should be increased by about 0.18 °SH, when at a protein content of about 3.3% it was estimated to be 2/5 of TAM. The corresponding proposal for pH limits, when the originally proposed pH limits may already be about breaking the buffering system of milk, could be 6.55 to 6.95 for good milk quality, out of 6.3 to 7.2 originally. A trial proposal for a change in the perception of established TAM limits and recommended for pH modifies the view of the assessment of milk acidity (TAM and pH) from a qualitative and technological point of view.

Keywords: bulk tank sample, raw cow milk, milk titration acidity, milk active acidity, electrical conductivity, content of crude protein, casein

Úvod

Titrační kyselost mléka (TKM) je významným ukazatelem kvality mléka pro technologické účely jeho zpracování. TKM (též SH; Pijanowski, 1977; Klíčnick, 1978; Navrátilová et al., 2012; Samková et al., 2012) se stanovuje alkalickou titrací (ČSN 57 0530). Vyjádřena je ve střední Evropě ve stupních Soxhlet-Henkela (°SH, titrace roztokem NaOH v $\text{ml} \times 2,5 \text{ mmol} \times \text{l}^{-1}$). TKM je ukazatelem kyselosti složek mléka (primární) a případně získané kyselosti (sekundární) mikrobiálním rozkladem (nestandardní skladování a transport – porušení chlazení a hygieny) nebo nechtěnými technologickými kyselými přísadami chemikálií, jako např. dezinfekčních prostředků. Nativní TKM sestává ze 40 % z vlivu kaseinu (resp. bílkovin; Pijanowski, 1977; Kratochvíl, 1984; Mariani a Bonatti, 1988), ze 40 % z vlivu minerálních látek a stop organických kyselin a z 20 % z účinku sekundární reakce připadající na fosfáty při alkalické titraci.

Zatímco mlékárenské provozní laboratoře sledují TKM a meziproduktů na denní bázi, ostatní mléčné laboratoře zahrnuté v systému už od sledování tohoto ukazatele téměř upustily. Důvodem bylo dosažení dlouhodobé, relativně stabilní kvality. Řada zemí ve světě ovšem TKM dále v kvalitě suroviny zohledňuje, především v náročnějších transportních a klimatických podmínkách.

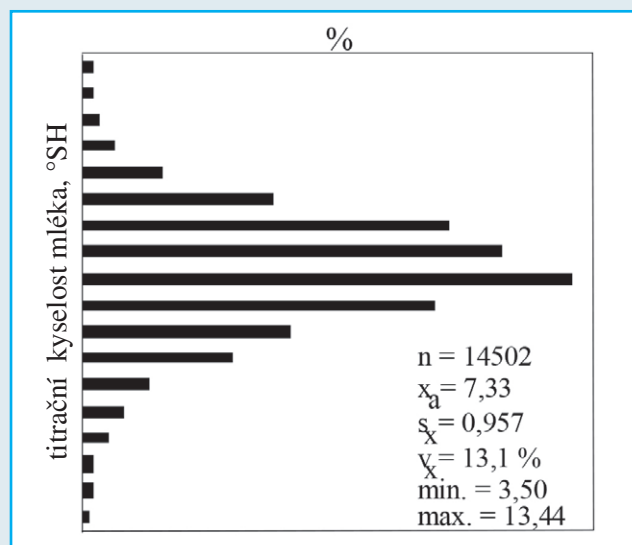
V první a druhé polovině minulého století, až do 90. let bývaly v praxi problémy s TKM poměrně často, nejčastěji se zvýšenou, později i se sníženou, v důsledku chyb v technologii získávání mléka (Thieme et al., 1983 a, b; Brauner a Hanuš, 1984; Varvažovský et al., 1985; Famigli-Bergamini, 1987; Hanuš a Pitnerová, 1987; Pen et al., 1994; Pen, 1995). Tehdejší následná praktická

technologická řešení přinesla zlepšení a vymizení problémů s TKM. Od té doby se vyskytují jen sporadicky. Překvapivě jeden z řídkých případů problému s TKM v poslední době, se surovinou, nastal v létě 2023, po celých 10 letech relativního klidu (Nejeschlebová et al., 2024). Mohl souviset se souběžným poklesem obsahu bílkovin v mléce v důsledku tepelného stresu zvířat.

Cílem práce byla komparativní úvaha, na bázi aktuálních a historických výsledků, nad možnou dynamikou změn v hodnotách titrační kyselosti mléka a jejího vztahu k aktivní kyselosti mléka (pH), při zohlednění významu pro technologické limity mléčné suroviny.

Materiál a metody

Bazénové vzorky syrového kravského mléka byly odbírané měsíčně od května 2021 do dubna 2022. Počet vzorků byl $n = 207$ (Tab. 1) po redukci případně extrémních hodnot kvalifikovaným odhadem $z = 214$. Soubor tedy zahrnuje celkový vliv ročního období ($n =$ cca 19 vzorků měsíčně). Odběry proběhly ve vazných, ale zejména ve volných stájích ($n =$ celkem 36), v oblastech měst: Ústí nad Orlicí, Žamberk, Jeseník, Šumperk, Olomouc a Přerov. Zahrnuta byla oblast podhorská a nížinná. Zahrnuto celkově bylo cca 5 000 dojnic plemene Holštýn (62 %) a České strakaté (38 %). Vzorky byly přepraveny do laboratoře (VÚM Praha, pracoviště Šumperk) v chladových podmínkách ($\leq 6^\circ\text{C}$) v termoboxu bez chemické konzervace pro stanovení TKM (primární). Dále byly původní vzorky mléka, v systému oficiální kontroly kvality mléka, bez konzervace nebo konzervovány Heeschénovým činidlem a bronopolem (0,03 %), podle účelu analýzy (bod mrznutí mléka, mikrobiologická vyšetření, složky mléka a počet somatických buněk) přepraveny



Obr. 1 Vizualní analýza datových souborů (histogram) parametrů individuálních vzorků mléka – pro TKM je na první pohled zřejmá forma frekvenční distribuce dat blízká normálnímu rozdělení, tzv. Gaussově křivce (Hanus et al., 2001)

v chladových podmínkách ($\leq 6^\circ\text{C}$) do akreditované (ČSN EN ISO/IEC 17025) laboratoře rozborů mléka ČMSCH a.s. (LRM) Brno – Tuřany. Získaná, sekundární TKM byla docílena (Tab. 2) ponecháním vzorků po cca 18 hodin do druhého dne při pokojové teplotě ($16 - 22^\circ\text{C}$), čímž došlo k náhodné modifikaci vzorku podle podmínek a zisku TKM (sekundární) cestou přirozeného pomnožení přítomné mikroflóry (modifikovaný vzorek).

Analytické postupy použité pro rozborů vzorků mléka jsou podrobněji popsány v předchozím hodnocení (Nejeschlebová et al., 2024). Pro relevantní mléčné ukazatele byly vypočteny základní statistické parametry, arit-

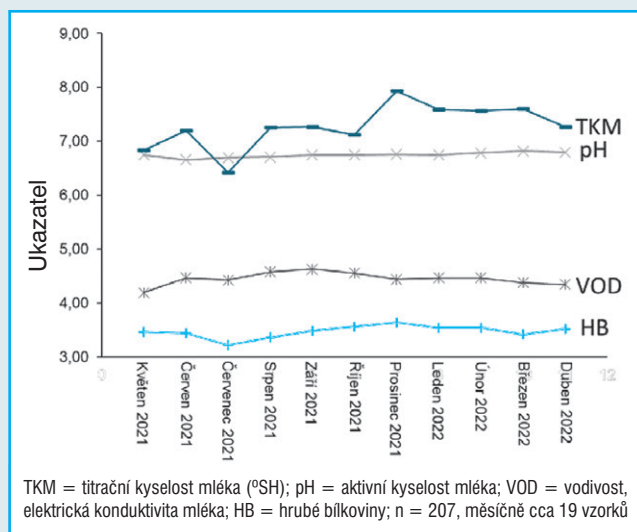
Tab. 1 Základní charakteristiky mléčných ukazatelů a primární TKM v bazénových vzorcích mléka pro celý kalendářní rok a dvě dojená plemena

Parametr / Ukazatel	TKM	VOD	pH	PSB	T	HB	L	STP	KAS	MOC	BMM	CPM	VMK
Jednotka	°SH	$\text{mS} \times \text{cm}^{-1}$	–	$10^3 \times \text{ml}^{-1}$	%	%	%	%	%	$\text{mg} \times \text{l}^{-1}$	$-\text{m}^\circ\text{C}$	$10^3 \text{ KTJ} \times \text{ml}^{-1}$	$\text{mmol} \times 100 \text{ gT}^{-1}$
n	207	207	207	207	207	207	207	207	207	207	207	207	207
x	7,28	4,46	6,75	204	4,03	3,48	4,99	9,1	2,77	256	541	18	0,7895
sd	0,566	0,165	0,059	103	0,294	0,176	0,086	0,199	0,216	80	22	61	0,2442
vx (%)	7,8	3,7	0,9	50,5	7,3	5,1	1,7	2,2	7,8	31,3	4,1	338,9	30,9

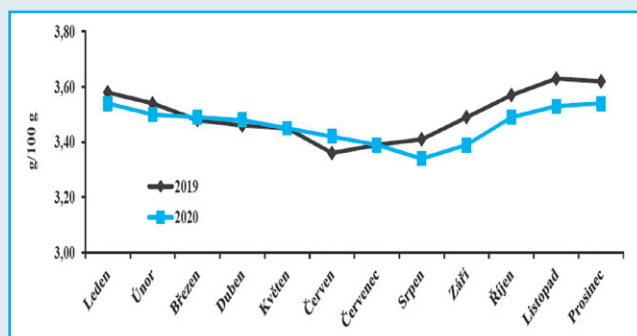
TKM, titrační kyselost mléka – původní mléko; n počet případů; x aritmetický průměr; sd směrodatná odchylka; vx variační koeficient; VOD, vodivost (elektrická vodivost); pH, aktivní kyselost; PSB, počet somatických buněk; T, obsah tuku; HB, obsah hrubých bílkovin; L, koncentrace monohydrátu laktózy; STP, obsah sušiny tukuprosté; KAS, obsah kaseinu; MOC, koncentrace močoviny; BMM, bod mrznutí mléka – ekvivalent; CPM, celkový počet mezofilních mikroorganismů; VMK, obsah volných mastných kyselin v mléčném tuku.

Tab. 2 Základní charakteristiky mléčných ukazatelů a sekundární s primární TKM v bazénových vzorcích mléka pro celý kalendářní rok a dvě dojená plemena.

Parametr / Ukazatel	TKM	VOD	pH	T	HB	L	STP	KAS	MOC	BMM
Jednotka	°SH	$\text{mS} \times \text{cm}^{-1}$	–	%	%	%	%	%	$\text{mg} \times \text{l}^{-1}$	$-\text{m}^\circ\text{C}$
n	207	207	207	207	207	207	207	207	207	207
x	13,76	4,87	6,25	4,01	3,52	4,86	9,04	2,78	296	548
sd	6,961	0,426	0,553	0,279	0,184	0,174	0,329	0,255	107	26
vx (%)	50,5	8,7	8,8	6,9	5,2	3,6	3,6	9,1	36,1	4,7
párový t-test	13,07	15,18	12,98							
významnost	$P < 0,001$	$P < 0,001$	$P < 0,001$							



Obr. 2 Graf průběhů měsíčních aritmetických průměrů pro primární TKM (°SH), pH, elektrickou vodivost (mS×cm⁻¹) a obsah hrubých bílkovin (%) mléka



Obr. 3 Sezónní dynamika obsahu hrubých bílkovin v mléce v ČR 2019 a 2020 (Bucek et al., 2021)

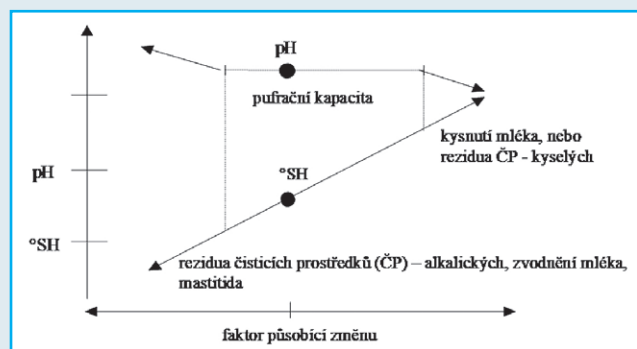
metické průměry (\bar{x}), variabilita ve formě směrodatné odchylky (s_d , $n-1$) a variační koeficienty (v_x v %). Byl proveden párový t-test mezi průměry výsledků mléčných ukazatelů vzorků původních (primární TKM) a přirozeně fermentovaných (sekundární, získaná TKM, za popsáných podmínek). Byly vypočteny lineární regrese a korelační koeficienty (r) mezi TKM a pH mléka. Korelace, ale i výsledky párového t-testu byly konvenčně identifikovány s ohledem na platnost nulové hypotézy ($>$, $<$ 0,05). Výpočty byly provedeny v MS Excel 2013 (Microsoft Corporation, Redmond, Washington, USA).

Výsledky a diskuse

Tato práce se zabývá výsledky primární TKM (Tab. 1), s ohledem na způsob odběru a transportu bazénových vzorků mléka, ale i získané, sekundární TKM (Tab. 2). Základní statistické parametry souboru TKM a ostatních mléčných ukazatelů pro celý kalendářní rok v uvedené oblasti jsou shrnuty v Tab. 1. Největší databáze TKM hodnocená v ČR (2001, Obr. 1; individuální vzorky mléka z kontroly užitkovosti dojníc) ukazuje, že při zajištění odběrových podmínek vzorkování pro získání především hodnot primární TKM (nicméně sekundární vlivy nejsou

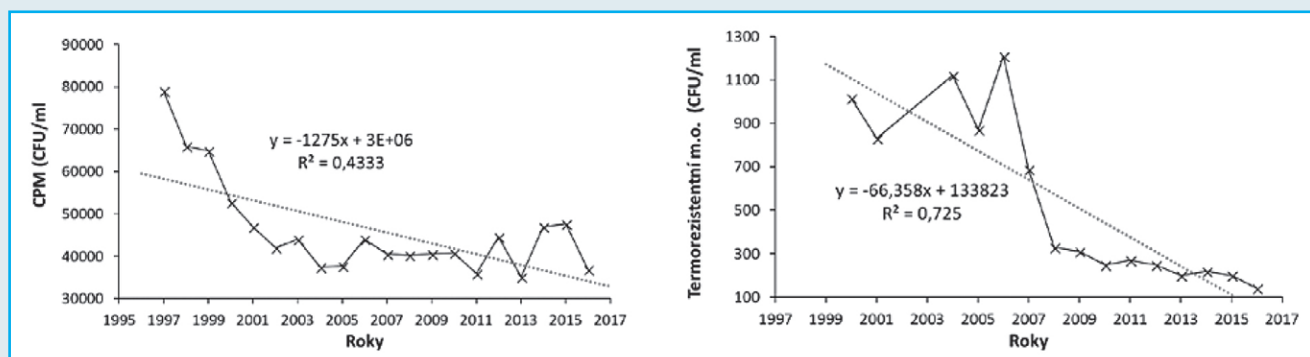
zcela vyloučeny) vykazuje soubor rozdělení dat blízké normální frekvenční distribuci, tedy Gaussově křivce.

Pokud jde o aktuální instrukci o sezónní dynamice primární TKM v porovnání k aktivní kyselosti pH a elektrické vodivosti, tato se nachází v Obr. 2. Özdemir a Kahyaoglu (2020) označili sezónu za významný ($P < 0,01$) faktor variability TKM v Turecku s maximem v létě, pravděpodobně pro možnost vyššího vlivu sekundární TKM. Pokud by ovšem možnost sekundární TKM byla technologicky téměř eliminována, mohla by to být zrovna tak dobře také zima, jak i naznačuje aktuální Obr. 2, pravděpodobně v důsledku obvykle sezónně vyššího obsahu bílkovin v mléce (Obr. 2 a 3; Bucek et al., 2021, Q CZ, ČMSCH). Jak patrně, léto může působit na sezónní elevaci TKM vlivem podílu případné sekundární kyselosti a zima stejně tak vlivem primární TKM. Tedy, podle inherentních vlastností, resp. podmínek daného mlékařského systému, mohou být sezónní výsledky TKM lokálně i opačné. Lze proto obecně konstatovat, že sezónní dynamika středních hodnot TKM může být dle celkových podmínek mlékařství velmi proměnlivá, nevyrovnaná, netypická a nepravidelná. Individuálně ovšem i jen podle podmínek technologických, např. nedostatečného chlazení mléka.



Obr. 4 Schéma vlivu pufrční kapacity mléka na změny kyselosti pH a SH

Všechny vzorky mléka ($n = 207$) v této studii byly negativní na vyšetření výskytu reziduí inhibičních látek (RIL). Tedy výsledky proporcionálních změn primární a sekundární TKM podle experimentálních podmínek jsou zde diskutovány bez vlivu antibiotik, dezinfekčních prostředků a přirozených inhibitorů. Za popsáných podmínek prostředí a prodlevy (uložení mléka) do analýzy TKM se tato zvýšila (Tab. 2), za spolupůsobení přirozeného biologického spektra kontaminující mikroflóry mléka v dnešních chovech dojníc, o 6,48 °SH ($P < 0,001$) na $13,76 \pm 6,96$ °SH, to je relativně o 89 % (100 % = primární hodnota TKM, Tab. 1). Toto zvýšení korespondovalo, resp. souviselo ve smyslu základního chemismu mléka, rovněž s adekvátním zvýšením elektrické vodivosti mléka a snížením hodnoty pH (Tab. 2): - o 0,41 mS×cm⁻¹ ($P < 0,01$) na $4,87 \pm 0,43$ mS×cm⁻¹, to je relativně o 9,2 %; - o 0,5 ($P < 0,01$) na $6,25 \pm 0,55$, to je relativně o 7,4 %. Tyto změny jsou poměrně výrazné, jak patrně, což logicky odpovídá vyšší, zde popisované, zátěži mléka.



Obr. 5 Dynamika vývoje počtu původních mikroorganismů (celkový počet a termorezistentní) v dodávaném mléce ($r = -0,66$; $P < 0,01$; $r = -0,85$; $P < 0,001$; 20, 17 roků; Hanuš et al., 2019)

TKM je významná pro technologické zpracování mléka (pro sýrařství – koagulace, i pro fermentované mléčné výrobky), ale i pro trvanlivost mléka (konzumní mléko). Pufrací kapacita mléka je silnější v oblasti kyselé než alkalické (Obr. 4). Pokud vzroste mírně kyselost mléka, např. mikrobiálním rozkladem laktózy, hodnota pH ještě neklesá, ale hodnota SH již vzrůstá. TKM reaguje citlivěji oproti pH. Z toho důvodu někdy mezi kyselostmi pH a SH nemusí být příliš těsný vztah (Obr. 4). Pufrací kapacita mléka je chemicky určována obsahy fosfátů, koloidního kalcium-fosfátu, citrátů, uhličitánů, proteinů a solí kyseliny mléčné v mléce (Pijanowski, 1977; Klíčnick, 1978; Navrátilová et al., 2012). Z hlediska vývoje standardů TKM byla pro první normy kvality mléka v ČR standardní TKM definována zpočátku v oboru od 6 do 8 °SH, což bylo později, pro poslední, dnes nezávaznou verzi normy ČSN 57 0529, zúženo na 6,2 až 7,8 °SH. Toto rozpětí je dodnes jako doporučené, případně využíváno ve znění dodavatelsko-odběratelských smluv.

Četné vědecké a odborné práce se v periodě frekventních problémů kvality s TKM zabývaly výslovně vlivem

kontrovaného metabolického stavu dojníc a zdravotního stavu na TKM (Famigli-Bergamini, 1987; Beseda et al., 1990; Polahár et al., 1991; Trávníček et al., 1991; Jaduř et al., 1992; Pen et al., 1994; Pen, 1995; Fischer et al., 2011; Machado et al., 2017). Thieme et al. (1983 a, b) shrnuli již dříve ve svém známém, dnes již klasickém, schématu hlavní příčiny praktických odchylek TKM (SH) od normy: 1) pro zvýšení – kysnutí mléka (sekundární kyselost (SK), Bailey, 1922 a 1923), čisticí a dezinfekční prostředky v mléce, kyselá (SK), vysoký obsah kyselin v mléce (primární kyselost (PK)), acidotická látková výměna (PK), mnoho čerstvých otelených krav (PK), mnoho mladých krav (PK); 2) pro snížení – hodně starodojných krav (PK), mnoho starých krav (PK), mnoho subklinických mastitid (PK), nízký obsah bílkovin v mléce (PK), alkalická látková výměna (PK), zvodnění mléka (SK; Bailey, 1922 a 1923), čisticí a dezinfekční prostředky v mléce, alkalické (SK).

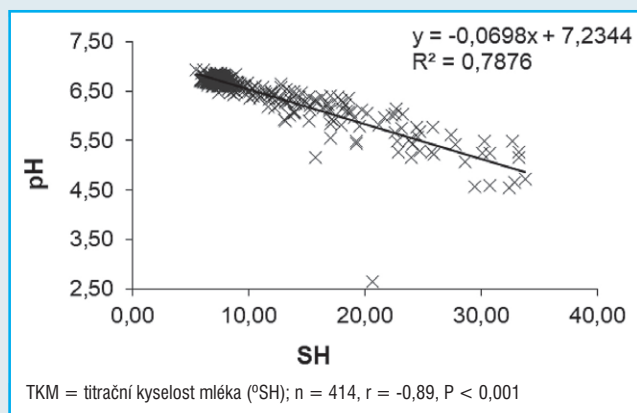
Mikroflóra mléčných stájí může být v čase pozměněna podle druhového nebo kmenového zastoupení a tím mění sumárně i své vlastnosti směřující především k meta-

Tab. 3 Statistické charakteristiky TKM a ostatních mléčných ukazatelů ve třídách podle pH (ve vazbě na Tab. 1 a Obr. 9) pro původní mléko ($n = 207$)

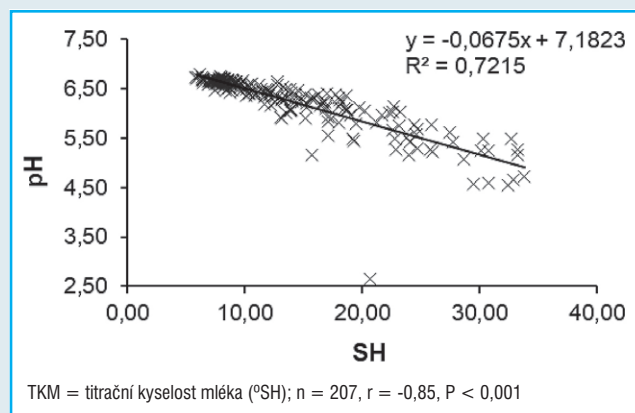
pH	TKM	VOD	PSB	T	HB	L	STP	KAS	MOC	BMM	CPM	VMK	
Jednotka	°SH	$mS \times cm^{-1}$	$10^3 \times ml^{-1}$	%	%	%	%	%	$mg \times l^{-1}$	$-m^{\circ}C$	$10^3 KTJ \times ml^{-1}$	$mmol \times 100 g^{-1}$	
< 6,65	x	7,37	4,41	126	3,95	3,42	5,03	9,08	2,68	260	559	20	0,733
$n = 9$	sd	0,28	0,208	46	0,251	0,158	0,071	0,212	0,174	83	6	37	0,263
6,65 – 6,75	x	7,15	4,47	220	3,95	3,45	5,01	9,07	2,74	268	552	9	0,799
$n = 100$	sd	0,591	0,171	113	0,264	0,185	0,077	0,2	0,228	76	17	10	0,257
> 6,75	x	7,4	4,45	194	4,12	3,51	4,96	9,12	2,82	243	528	27	0,785
$n = 98$	sd	0,535	0,154	93	0,303	0,164	0,09	0,195	0,201	82	20	87	0,231

Tab. 4 Statistické charakteristiky TKM a ostatních mléčných ukazatelů ve třídách podle pH (ve vazbě na Tab. 2 a Obr. 9) pro fermentované mléko ($n = 207$).

pH	TKM	VOD	T	HB	L	STP	KAS	MOC	BMM	
Jednotka	°SH	$mS \times cm^{-1}$	%	%	%	%	%	$mg \times l^{-1}$	$-m^{\circ}C$	
< 6,65	x	15,25	4,95	3,98	3,52	4,84	9,01	2,77	302	551
$n = 167$	sd	6,965	0,422	0,278	0,189	0,184	0,35	0,265	110	26
6,65 – 6,75	x	7,57	4,54	4,13	3,54	4,94	9,14	2,86	284	538
$n = 38$	sd	0,931	0,253	0,249	0,154	0,082	0,18	0,185	85	22
> 6,75	x	7,05	4,84	3,72	3,38	4,77	8,85	2,66	103	507
$n = 2$	sd	1,252	0,375	0,29	0,375	0,184	0,502	0,368	13	13



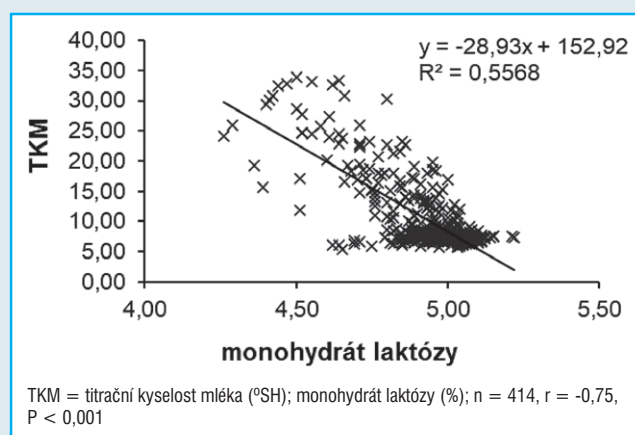
Obr. 6 Lineární regrese vztahu primární a sekundární TKM a aktivní kyselosti pH syrového kravského mléka v aktuálních podmínkách mlékařského prostředí (výsledky z Tab. 1 a 2)



Obr. 7 Lineární regrese vztahu sekundární s primární TKM a aktivní kyselosti pH syrového kravského mléka v aktuálních podmínkách mlékařského prostředí (výsledky z Tab. 2)

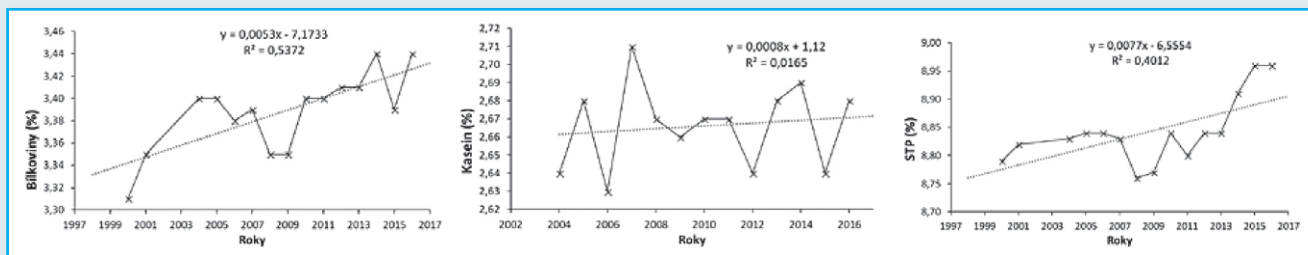
bolické aktivitě. To se může odehrávat dle používané technologie chovu a dojení krav. Tyto faktory mohou vést jednak k rodové, druhové nebo kmenové selekci v sumě mikroorganismů a také k evolučně-genetickým změnám mikroorganismů. Např. může být sníženo zastoupení acidogenní mikroflóry ve prospěch lipolytické nebo proteolytické, což bylo historicky reálně pozorováno, jako důsledek změn v aplikované technologii a v hygieně dojení. Zároveň byla i mikrobiální zátěž nadojeného mléka v nedávné periodě významně snížena (Hanuš et al., 2019; Obr. 5). V mlékařství je pak jistě významná kvantifikace změn, podle času a teploty, jež je původní mikroflóra schopna vyvolávat v dynamice TKM, tedy především v její sekundární složce.

Primární TKM v individuálních vzorcích krav z jejich první třetiny laktace (n = 662; $7,34 \pm 0,83$ °SH; vx = 11,3 %) českého strakatého plemene a černostrakatého nížinného plemene (Hanuš et al., 1992) byla významně korelována (P < 0,01) k řadě mlékařských ukazatelů, z nichž mnohé mají i zjevný zdravotní charakter ve smyslu indikace poruch sekrece mléka (klinických i subklinických mastitid), tzn. k: - denní dojivosti -0,24; - obsahu tuku 0,27; - obsahu hrubých bílkovin 0,43; - obsahu monohydrátu laktózy 0,25; - obsahu tukuprosté sušiny 0,23; - koncentraci chloridů -0,45; - aktivní kyselosti pH -0,29. Tato korelace TKM k pH má logický trend, také však není nijak výrazná a znamená, že jen 8,4 % variability v pH je determinováno variacemi v TKM. Korelace mezi TKM a aktivní kyselostí pH bývají tedy zpravidla nevýrazné (obvykle nepřesahují hodnotu 0,3, často jsou statisticky nevýznamné) právě kvůli existenci a aktivitě systému pufrací kapacity mléka (Obr. 4). Ta je, jak známo, biochemicky logicky, účinnější v kyselé oblasti. Zatímco TKM se již mění (např. v důsledku rozkladu laktózy na kyselinu mléčnou mikrobiální činností) změní se pH až po prolomení účinnosti tohoto pufracího systému. Např. Nejeschlebová et al. (2024) uvedli korelaci primární TKM s pH 0,08 (n = 207; P > 0,05), dříve to byly hodnoty u nerozlišené TKM -0,22, -0,28 a -0,47 (P < 0,05; Hanuš a Foltys, 1991; Hanuš et al., 1993;



Obr. 8 Lineární regrese vztahu mezi obsahem monohydrátu laktózy a primární a sekundární TKM syrového kravského mléka v aktuálních podmínkách mlékařského prostředí (výsledky z Tab. 1 a 2)

Molina et al., 2001). U primární TKM a individuálních vzorků z 1. třetiny laktace dojených plemen krav to pak bylo -0,29 (Hanuš et al., 1992). Při hodnotě 0,08 tato korelace primární TKM k pH ukazuje, že jen 0,64 % variability v pH je podmíněno variabilitou uvnitř TKM. Pro aktuální datový soubor zde byly korelace pro TKM primární a sekundární a pro TKM sekundární s primární (n = 414 a 207) a pH -0,89 a -0,85, Obr. 6 a 7 (obě P < 0,001). Při hodnotách korelací -0,89 a -0,85 TKM k pH tyto naznačují, že při jasném zahrnutí sekundární TKM až 78,8 a 72,2 % variability v pH může být podmíněno variabilitou hodnot TKM, podle metodického charakteru aktuálních databází. Výraznější hodnoty korelací v tomto případě jsou právě důsledkem vlivu značného podílu získané TKM, tzn. podezření z nezvládnuté technologie zisku, uskladnění nebo transportu syrového mléka. Dále je zde zdokumentováno (Obr. 8), jak TKM může vstoupit, ovšem po prolomení pufrací kapacity, do významného vztahu s laktózou (r = -0,75; P < 0,001), a to svojí sekundární složkou, ačkoliv předtím, v případě primární TKM, žádný vztah neexistoval (r = 0,07, P > 0,05; Nejeschlebová et al., 2024). Pak 55,7 % variabi-



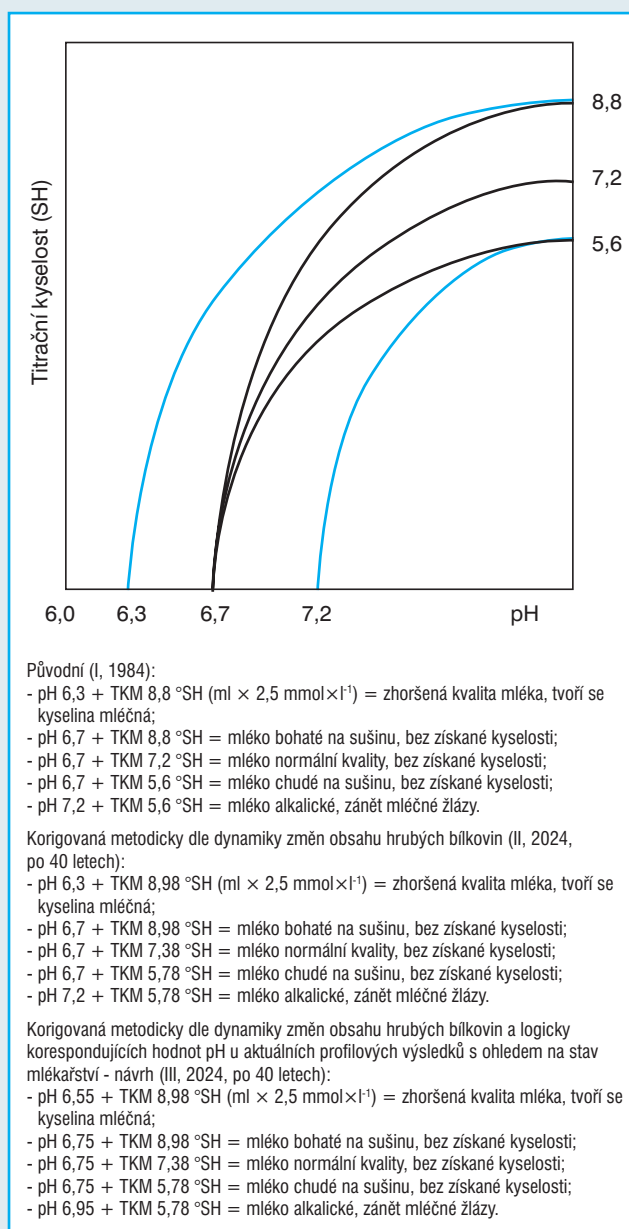
Obr. 9 Dynamika vývoje obsahu hrubých bílkovin, kaseinu a sušiny tukuprosté v dodávaném mléce v ČR (Hanuš et al., 2019; $r = 0,73, 0,13$ a $0,63$; $P < 0,01, > 0,05$ a $< 0,01; 17, 13$ a 17 roků)

lity v hodnotách TKM je podmínováno variacemi změn v obsahu laktózy.

Již dříve byl definován návrh limitů TKM podle korespondujících hodnot pH, tedy v komparaci, s logickým vysvětlením podstaty věci (Obr. 9; Kratochvíl et al., 1984) v zajímavém schématu. To bylo učiněno v době ostré sledovanosti ukazatele TKM a souvisejících odborných diskusí z důvodů vyšší frekvence výskytu problémů (Thieme et al., 1983 a, b; Varvažovský et al., 1985; Famigli-Bergamini, 1987; Hanuš a Pitnerová, 1987; Pen et al., 1994; Pen, 1995). Kratochvílův návrh vysvětloval, že např. při vyšším obsahu bílkovin může i mléko s nadlimitní TKM být kvalitní, bez získané sekundární kyselosti (i při TKM např. 8,8 °SH), právě pro tento obsah bílkovin. V této souvislosti je třeba uvést, že vlivem genetického zušlechťování, ale zejména lepší se výživy krav, především ve složce energetické, za nějakých dvacet let vzrostl obsah bílkovin (Obr. 10) od r. 1984 cca o 0,2 %. Taková je realita. Přesto v témže čase bylo limitní rozpětí TKM zúženo z 6 až 8 na 6,2 až 7,8 °SH, což úplně neodpovídá této vývojové realitě. Proto lze provést výpočet, že horní limit TKM, když při obsahu bílkovin cca 3,3 % bylo odhadnuto, že tvoří 2/5 TKM, by měl být zvýšen o cca 0,18 °SH (Obr. 9; II, 2024, po 40 letech). Logika, podle korespondujících hodnot pH v současnosti (Tab. 3 a 4), pak vede k závěru, že korespondující návrh pro limity a vysvětlení ve vztahu k pH, když lze uvažovat, že u původně navržených limitů pH již může jít o prolomení pufručního systému mléka (přítomnost i sekundární TKM), by mohl být 6,55 až 6,95 pro kvalitní mléko, a to z původních 6,3 až 7,2 (Obr. 9; III, 2024, po 40 letech). Tolik k logice vývoje dřívějšího a současného, možného vnímání technologických limitů kyselosti mléka a pro relevantní profesní diskuse v kontextu aktuálně zjišťovaných hodnot (Tab. 1, 2, 3 a 4).

Průměrné hodnoty primární TKM a dalších mléčných ukazatelů (Tab. 3 a 4), zejména těch, souvisejících přímo nebo nepřímo s TKM, jako obsah hrubých bílkovin, kaseinu a sušiny tukuprosté, získané na základě diferenciace současné databáze ($n = 207$) s ohledem na aktivní kyselost pH, podle původního (I) a již upraveného (III) schématu na Obr. 9, vhodně podporují závěry úvahy nad tímto schématem i potvrzují vlastní návrhy jeho aktuálních korektur (II a III). To upravuje pohled na hodnocení kyselosti mléka (TKM a pH) z kvalitativního a technologického hlediska. K diskutovanému postupu opravňuje

i historický vývoj středních hodnot obsahu bílkovin a TKM a jejich variability v mlékařství ČR obecně, tedy zachycený dlouhodobý mírný až zřetelný nárůst hodnot obou ukazatelů (Hanuš et al., 2021 a, b; Obr. 1 a 10; Tab. 1).



Obr. 10 Klasifikace mléka podle titrační kyselosti (TKM) a pH původní (I; Kratochvíl, 1984) a vývojově korigovaná (II a III, 2024)

Závěr

TKM, jakkoliv byla jako kvalitativní ukazatel syrového mléka v předchozí periodě cca 20 let zřetelně významově upozaděna, zůstane i nadále důležitým hygienicko-technologickým ukazatelem, nejen z historického, ale především z reálného důvodu. TKM (především primární, ale potenciálně částečně i sekundární) jako technologická vlastnost, především mléčné suroviny, tedy částečně mimo testy zpracovatelských meziproduktů, podlehla za delší období určitým vlivovým změnám, kdy lze počítat i s určitými posuny případně aplikovaných limitních hodnot při posuzování kvality syrového mléka. Byl proveden pokusný návrh pro změnu ve vnímání zavedených limitů TKM a doporučených pro pH podložený o reálné, aktuální hodnocení výsledků. To upravuje pohled na hodnocení kyselosti mléka (TKM a pH) z kvalitativního a technologického hlediska.

Poděkování

Práce vznikla za podpory projektů MZe NAZV Země QK 21010212 a QK 21010326.

Seznam literatury

- BAILEY, E. M. (1922): Cryoscopy of Milk. *Journal of AOAC International*, 5, (4), s. 448-497. <https://doi.org/10.1093/jaoac/5.4.484>
- BAILEY, E. M. (1923): Cryoscopy of Milk. *Journal of AOAC International*, 6, (4), s. 429-434. <https://doi.org/10.1093/jaoac/6.4.429>
- BESEDA, I., ĎURIŠOVÁ, B., SOKOL, J., POLAHÁR, B., VÁLKA, J., STANKO, P. (1990): Vztahy mezi ukazovat'elmi profilového testu dojnic při syndróme snížené titrační kyselosti. *Veterinární Medicína (Praha)*, 35, s. 137-144.
- BRAUNER, J., HANUŠ, O. (1984): Technologické vlastnosti mléka a jeho chemické složky u večerního, ranního a celkového výdojku. *Bulletin VÚCHS Rapotín, Výzkum v chovu skotu*, 3, s. 5-9.
- BUCEK, P., KUČERA, J., CHMELÁŘ, M., KRUPA, E., VOBECKÁ, J., LIPOVSKÝ, D. (2021): Studie Q CZ 2020. ČMSCH.
- FAMIGLI-BERGAMINI, P. (1987): Rapporti tra patologia (non mammaria) ed aspetti quali-quantitativi del latte nella bovina. *Societa Italiana di Buoiatria*, Bologna, 19, s. 8-10, 89-99.
- FISCHER, V., RIBEIRO, M. E. R., ZANELA, M. B., MARQUES, L. T., ABREU, A. S., MACHADO, S. C., FRUSCALSO, V., BARBOSA, R. S., STUMPF, M. T. (2011): Leite instável não ácido: um problema solução nável? XXI Congresso Brasileiro de Zootecnia, Universidade Federal de Alagoas, 23 a 27 de maio, s. 1-19.
- HANUŠ, O., BEBER, K., FICNAR, J., GENČUROVÁ, V., GABRIEL, B., BERANOVÁ A. (1993): Vztahy mezi kysací schopností bazénového kravského mléka, jeho složením a obsahem některých metabolitů. *Živočišná Výroba / Czech Journal of Animal Science*, 38, 7, s. 635-644.
- HANUŠ, O., BJELKA, M., TICHÁČEK, A., JEDELSKÁ, R., KOPECKÝ, J. (2001): Analýza nezbytnosti a účelnosti transformací dat u souborů výsledků některých mléčných parametrů. V *Chov a šlechtění skotu pro konkurenceschopnou výrobu: sborník referátů VÚCHS Rapotín*, s. 122-137.
- HANUŠ, O., FOLTYS, V. (1991): Některé vlastnosti a minerální složky mléka plemene skotu v Československu. *Živočišná Výroba / Czech Journal of Animal Science*, 36, 6, s. 497-505.
- HANUŠ, O., KUČERA, J., ŘÍHA, J., HEGEDŮŠOVÁ, Z., JEDELSKÁ, R. (2021 b): Význam hodnoty titrační kyselosti mléka nyní a dříve – část II. *Mlékařské listy – zpravodaj*, 32, 186, 3, s. 1-8.
- HANUŠ, O., PITNEROVÁ, J. (1987): Hodnota titrační kyselosti kravského mléka ve vztahu k některým faktorům. *Náš chov*, 12, s. 2-4.
- HANUŠ, O., ROUBAL, P., KLIMEŠOVÁ, M., JEDELSKÁ, R., HEGEDŮŠOVÁ, Z. (2019): Retrospektivní analýza trendů vývoje dojivosti a kvality syrového kravského mléka v České republice. *Mlékařské listy – zpravodaj*, 30, 172, 1, s. 4-11.
- HANUŠ, O., ŘÍHA, J., KUČERA, J., HEGEDŮŠOVÁ, Z., JEDELSKÁ, R. (2021 a): Význam hodnoty titrační kyselosti mléka dříve a nyní – část I. *Mlékařské listy – zpravodaj*, 32, 185, 2, s. 1-7.
- HANUŠ, O., ŽVÁČKOVÁ, I., GENČUROVÁ, V., GABRIEL, B. (1992): Vztah obsahu laktózy v mléce k ukazatelům zdravotního stavu mléčné žlázy v první třetině laktace. *Veterinární Medicína (Praha)*, 37, 11, s. 595-604.
- JAĎUŠ, P., BESEDA, I., KRÁLÍKOVÁ, J., VÁLKA, J., ĎURIŠOVÁ, B., STANKO, P. (1992): Funkčně narušená pečeň vo vz'ahu ku snížení titrační kyselosti mléka. *Veterinární Medicína (Praha)*, 37, 11, s. 605-612.
- KLÍČNÍK, V. (1978): Technologie živočišných produktů (Mlékařství). SPN, VŠZ Brno, 1978, s. 270.
- KRATOCHVÍL, L. (1984): Kyselost mléka a hodnota pH. *Náš chov*, 3, příloha *Mlékárenský Průmysl*, s. 1-2.
- MACHADO, S. C., FISCHER, V., STUMPF, M. T., STIVANIN, S. C. B. (2017): Seasonal variation, method of determination of bovine milk stability, and its relation with physical, chemical, and sanitary characteristics of raw milk. *Revista Brasileira de Zootecnia / Brazilian Journal of Animal Science*, 46, 4, s. 340-347. <https://doi.org/10.1590/s1806-92902017000400010>
- MARIANI, P., BONATTI, P. (1988): Il latte ad acidità anomala. III. Osservazioni sulla composizione chimica dei lattini ad elevata acidità titolabile. *Scienza e tecnica lattiero-casearia*, 39, 1, s. 43-48.
- MOLINA, L. H., GONZÁLEZ, R., BRITO, C., CARRILLO, B., PINTO, M. (2001): Correlación entre la termoestabilidad y prueba de alcohol de la leche a nivel de un centro de acopio lechero. *Archivos de medicina veterinaria / Archives Medicine Veterinary*, 33, 2. <http://dx.doi.org/10.4067/S0301-732X2001000200012>
- NAVŘÁTILOVÁ, P., KRÁLOVÁ, M., JANŠTOVÁ, B., PŘÍDALOVÁ, H., CUPÁKOVÁ, Š., VORLOVÁ, L. (2012): Hygiene produkce mléka. Veterinární a farmaceutická univerzita v Brně, Fakulta veterinární hygieny a ekologie, Ústav hygieny a technologie mléka, ISBN 978-80-7305-625-4, s. 129.
- NEJESCHLEBOVÁ, H., HANUŠ, O., SU, M., TIŠNOVSKÁ, M., TICHOVSKÝ, P., KOPECKÝ, J., JEDELSKÁ, R., ČEJKOVÁ, J. (2024): Titrační kyselost mléka po delší době opět předmětem zvýšeného zájmu v mlékařství. *Mlékařské listy – zpravodaj*, 35, 203, 2, 2024, 5-12.
- ÖZDEMİR, D., KAHYAĞLU, D. T. (2020): Identification of microbiological, physical, and chemical quality of milk from milk collection centers in Kastamonu Province. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Science*, 44, s. 118-130. doi:10.3906/vet-1908-86
- PEN, A. (1995): Ursachen des erhöhten Säuregrades in der Kuhmilch. Bericht über die 22. Tierzuchttagung BAL Gumpenstein, Aktuelle Forschungsergebnisse und Versorgungsempfehlungen in der Rindermast und Milchviehfütterung, s. 51-57.
- PEN, A., PUHAN, J., LEBAR, J., MAJČEN, M., SREŠ, F., STAJNKO, M., LAŠIČ, T., KRESLIN, D., ČELAK, S., MARINIČ, M. (1994): Problem kisllosti mleka. Živinorejsko-Veterinarski zavod za Pomurje, Oddelek za kmetijsko raziskovanje, Murska Sobota, Slovenija, s. 43.
- PIJANOWSKI, E. (1977): Základy chémie a technológie mliekárstva. Basics of chemistry and dairy technology. Príroda – Bratislava, s. 69.
- POLAHÁR, P., BESEDA, I., ĎURIŠOVÁ, E., ŠMIDRIÁKOVÁ, M., STANKO, P., VÁLKA, J. (1991): Hodnotenie niektorých parametrov mléka pri jeho zníženej a normálnej titračnej kyslosti viacrozmernou štatistickou analýzou. *Živočišná Výroba / Czech Journal of Animal Science*, 36, 4, s. 329-335.
- SAMKOVÁ, E. et al. (2012): Mléko: produkce a kvalita. Vědecká monografie, Zemědělská fakulta, Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích. ISBN: 978-80-7394-383-7, s. 240.
- THIEME, D. A., DETTMER, R., SCHMEICHEL, A. (1983 a): Zur physiologischen Säurezahl-Norm für Herdenmischmilch. *Monatshäfte für Veterinärmedizin*, 38, 1, s. 13-16.
- THIEME, D. A., GRUNWALD, A., KRON, A., SANDER, W., SCHMEICHEL, A. (1983 b): Normalabweichungen der Säurezahl von Herdenmischmilch und deren Ursachen. *Monatshäfte für Veterinärmedizin*, 38, 1, s. 16-24.

TRÁVNÍČEK, J., KROUPOVÁ, V., ROHLÍK, V., TESAŘÍK, L. (1991): Titrační kyselost mléka z hlediska metabolického profilu dojníc. *Živočišná Výroba / Czech Journal of Animal Science*, 36, 4, s. 321–327.

VARVAŽOVSKÝ, V., KUKAČKA, F., MÁCHA, F., KROULÍK, J. et al. (1985): Sledování příčin výskytu nestandardního mléka v kyselosti pod 6,2 ml a s omezenými prokysávacími schopnostmi v návaznosti na úroveň výživy. ÚKZÚZ Praha, Závěrečná zpráva 1984 – 1985, s. 21.

Korespondující autor: prof. Ing. Oto Hanuš, Ph.D.

Výzkumný ústav mlékárenský s.r.o., Ke Dvoru 12a,
160 00 Praha 6, e-mail: hanus.oto@seznam.cz

Přijato do tisku: 27. 2. 2024

Lektorováno: 21. 5. 2024

VYUŽITÍ NUKLEÁRNÍ MAGNETICKÉ REZONANCE V MLÉKÁRENSKÉM VÝZKUMU

Lucie Kejdová Rysová¹, Veronika Legarová¹,
Soňa Formánková Herman¹, Andrea Nosková¹,
Šárka Altmanová¹, Hana Nejeschlebová²

¹ Katedra kvality a bezpečnosti potravin, Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů, Česká zemědělská univerzita v Praze

² Výzkumný ústav mlékárenský s.r.o., Praha

The use of nuclear magnetic resonance in the dairy research

Abstrakt

Nukleární magnetická rezonance (NMR) se v posledních letech stala často využívanou analytickou technikou v celé řadě vědních oborů. Nejinak tomu je v mlékárenském výzkumu. Níže je uveden literární přehled vědeckých studií zaměřujících se na aplikaci NMR pro studium profilu metabolitů mléka napříč celým dodavatelským řetězcem. Pomocí nejrůznějších NMR experimentů byly zkoumány změny v mléku v závislosti na zdraví dojníc či složení krmné dávky. Rovněž bylo zjištěno, že NMR lze využít ke kontrole kvality a bezpečnosti mléka. V neposlední řadě bylo NMR široce využíváno ve vědeckých studiích zaměřujících se na sýry, přičemž se často jednalo o sýry s Chráněným označením původu.

Klíčová slova: bezpečnost, kvalita, nukleární magnetická rezonance, mléko, sýry

Abstract

In recent years, nuclear magnetic resonance (NMR) has become a frequently used analytical technique in many scientific fields as well as in the field of dairy research. Below is a literature review of scientific studies focusing

on the application of NMR to study the metabolite profile of milk across the entire supply chain. Using a variety of NMR experiments, changes in milk as a function of dairy cow health or ration composition have been investigated. It has also been found that NMR can be used to monitor milk quality and safety. Finally, NMR has been widely used in scientific studies on cheese, often involving cheeses with Protected Designations of Origin.

Key words: safety, quality, nuclear magnetic resonance, milk, cheese

Úvod

Nukleární magnetická rezonance (NMR) je výkonná analytická technika, kterou lze využít pro spektroskopii v kapalném i pevném stavu, zobrazování i relaxometrii. Pro tyto tři specializace platí stejný základní jev: absorpce energie nastane v případě, že vzorek obsahuje atomy, které mají nenulový jaderný magnetický moment a zároveň jsou umístěny do magnetického pole, kde jsou vystaveny elektromagnetické vlně o vhodné frekvenci. Z toho vyplývá, že prostřednictvím NMR jsou měřitelné jen chemické prvky, jejichž atomová jádra vykazují určité magnetické vlastnosti. To jsou jádra, která mají nenulové spinové kvantové číslo, z nichž jsou nejlépe měřitelná ta se spinovým kvantovým číslem $I = 1/2$. Do této skupiny se řadí následující izotopy ^1H , ^{13}C , ^{15}N , ^{19}F či ^{31}P . Výjimečné postavení má v NMR analýze organických sloučenin především izotop ^1H , což je dáno jeho velkým gyromagnetickým poměrem a vysokým biologickým zastoupením (99,985 %; Ralli a kol. 2018, Lambert a kol. 2019). Atraktivita ^1H NMR techniky v metabolických studiích je dána především snadnou přípravou vzorku a nedestruktivní analýzou, kdy jeden vzorek lze analyzovat v několika po sobě jdoucích NMR experimentech a lze ji použít pro necílenou analýzu. Ve srovnání s kapalinovou a plynovou chromatografií s hmotností spektrometrií (MS) je jednou z výhod NMR přímý a kvantitativní vztah mezi molární koncentrací a intenzitou rezonance. NMR má rovněž několik limitací. Z nichž lze uvést například vysoké pořizovací náklady NMR spektrometru nebo nízkou citlivost, ve které naopak MS techniky vynikají (Sundekilde a kol., 2013).

Jak uvedli Maher a Rochfort (2014), použití NMR spektroskopie v mlékárenském sektoru se datuje již od 50. let 20. století. V této době Odeblad a Westin identifikovali tři odlišné rezonanční signály v mateřském mléku, které označili jako W, T a F. Dle jejich výsledků se W a T nacházely v mléčné plazmě (pravděpodobně se jednalo o rezonanci vody a laktózy), zatímco rezonanční signál F zřejmě pocházel z mléčného tuku. Další zajímavá studie, která byla publikována v druhé polovině 20. století, se zaměřila na minoritní část mléčné tukové kapénky. Autoři této studie provedli pomocí ^1H NMR charakterizaci molekulární struktury lyofilizované membrány. Identifikovat se podařilo různé rezonanční vzorce lipidů, včetně přiřazení protonů v rámci lipidových řetězců (např. CH_3 ,