

**ISSN 0355-1180**

**HELSINGIN YLIOPISTO**

**Elintarvike- ja ravitsemustieteiden osasto**

**EKT-sarja 1909**

**NIR-TEKNOLOGIAN KÄYTTÖ PAAHDETUN KAHVIN ANALYSOIMISESSA**

**Olli Vähämäki**

**Helsinki 2019**

|   |   |   |  |
|---|---|---|--|
| Tiedekunta – Fakultet – Faculty<br>Maatalous-metsätieteellinen  |   | Osasto – Avdelning – Department<br>Elintarvike- ja ravitsemustieteiden osasto |  |
| Tekijä – Författare – Author<br>Olli Vähämäki   |   |   |  |
| Työn nimi – Arbetets titel – Title<br>NIR-teknologian käyttö paahdetun kahvin analysoimisessa   |   |   |  |
| Oppiaine – Läroämne – Subject<br>Elintarviketeknologia (yleinen elintarviketeknologia)  |   |   |  |
| Työn laji – Arbetets art – Level<br>Maisterintutkielma  | Aika – Datum – Month and year<br>Lokakuu 2019 | Sivumäärä – Sidoantal – Number of pages<br>59                                 |  |
| Tiivistelmä – Referat – Abstract<br><br><p>Kahvi on laadullisilta ominaisuuksiltaan hyvin herkkä elintarvike. Kahvin väri- ja kosteuspitoisuus ovat tärkeitä parametreja paahdetun kahvin prosessoinnin ja aistinvaraisen laadun kannalta. NIR-teknologia (engl. near infrared technology) on analysointimenetelmä, joka perustuu infrapunasäteilyyn. NIR-laite lähettää näytteeseen lähi-infrapunasäteilyä, jolloin yhdisteiden kemialliset sidokset absorboivat sitä ja tuottavat värähtelyenergiaa. Tämä absorptio voidaan nähdä näytteelle ominaisesta spektristä.</p> <p>Tutkimuksen tavoitteena oli kalibroida NIR-laite mittaamaan paahdetusta kahvista väriä, kosteuspitoisuutta ja tiheyttä. Lisäksi tutkittiin kahvin jauhatuksen vaikutusta sen väriin NIR-laitteella ja referenssimenetelmällä. Tässä tutkimuksessa referenssimenetelmänä värin määrittämisessä toimi Hunterlab D25LT -värimittari. Kosteuspitoisuuden referenssimenetelmänä oli kuiva-ainepitoisuuden määrittäminen uunissa kuivatuista näytteistä. Tiheyden referenssimenetelmänä toimi mittaukset JEL STAV 2003 Stampfvolumeter -mittarilla, joka antaa hyvän kuvan kahvin tilavuudesta, kun se pakataan vakuumpakkaukseen. Tutkimuksessa käytetty materiaali saatiin paahtimolta. Näytteiden määrän värikalibraatioissa oli 278 kpl, kosteuspitoisuuskalibraatioissa 199 kpl ja tiheyskalibraatioissa 64 kpl.</p> <p>Kalibraatioita arvioitiin vertaamalla referenssituloksia kalibraation ennustettuihin arvoihin. Värikalibraatio saavutti ennustearvon <math>R^2 = 0,99</math>, joka on NIR-kalibraatiolla erinomainen. Kosteuspitoisuudelle ennustearvoksi saatiin <math>R^2 = 0,91</math>, joka on myös hyväksyttävä, koska kalibraatioissa oli matalat virhearvot. Tiheydelle ennustearvoksi saatiin <math>R^2 = 0,89</math>, mutta suuret virhearvot lisäsivät kalibraation epäluotettavuutta. Tutkittaessa jauhatuksen vaikutusta väriin havaittiin tilastollisin menetelmin, että mittausmenetelmien keskihajontojen ja keskivirheiden erot olivat hyvin pieniä. t-testipareista havaittiin, että jauhatuksella ei ollut tilastollisesti merkitsevää vaikutusta tuloksiin. 1-jauhatuksen näytteet olivat kuitenkin väriltään vaaleampia, mikä oli yksi alkuhypoteeseista.</p> <p>NIR-mittaustapaa voidaan käyttää tulevaisuudessa mittaamaan paahdetun kahvin väriä ja kosteuspitoisuutta. Tiheyskalibraatio tarvitsisi enemmän referenssimittauksia ollakseen luotettava.</p> |   |   |  |
| Avainsanat – Nyckelord – Keywords<br>NIR, lähi-infrapuna, spektroskopia, paahdettu, kahvi, kalibraatio, väri, jauhatus, tiheys  |   |   |  |
| Säilytyspaikka – Förvaringställe – Where deposited<br>Helsingin yliopiston digitaalinen arkisto,Helda   |   |   |  |
| Muuta tietoa – Övriga uppgifter – Additional information<br>EKT-sarja 1909  |   |   |  |

|   |  |   |   |
|---|--|---|---|
| Tiedekunta – Fakultet – Faculty<br>Faculty of Agriculture and Forestry  |  | Osasto – Avdelning – Department<br>Department of Food and Nutrition |   |
| Tekijä – Författare – Author<br>Olli Vähämäki   |  |   |   |
| Työn nimi – Arbetets titel – Title<br>Using NIR-technology for analyzing roasted coffee   |  |   |   |
| Oppiaine – Läroämne – Subject<br>Food Technology  |  |   |   |
| Työn laji – Arbetets art – Level<br>Master's Thesis   |  | Aika – Datum – Month and year<br>October 2019                       | Sivumäärä – Sidoantal – Number of pages<br>59 |
| Tiivistelmä – Referat – Abstract<br><br><p>Coffee is a very delicate product which requires specific handling during processing. Colour and moisture content of coffee are important parameters for roasted coffee processing and sensory quality. NIR (Near Infrared) technology is an analyzing method which is based on infrared radiation. The NIR device sends near infrared radiation to the sample, where the chemical bonds absorb the radiation and start vibrating. This absorption can be seen from the spectras of the sample.</p> <p>The goal of this study was to develop calibrations for roasted coffee colour, moisture content and density. The goal was also to investigate how coffee grinding affects the measured colour in roasted coffee. For this study Hunterlab D25LT worked as the reference method for roasted coffee colour. The reference method of moisture content was an oven based dry matter determination. JEL STAV 2003 Stampfvolumeter worked as the reference instrument for determining roasted coffee density, as it gives a good idea of the coffee density when it's packed in vacuum package.</p> <p>The material used was received from the roastery. The colour calibration had 278 samples, the moisture content calibration had 199 samples and the density calibration had 64 samples.</p> <p>The reliability of the calibrations was evaluated by comparing the reference values to the estimated values of the calibrations. The colour calibration reached a prediction value of <math>R^2 = 0.99</math> which is an excellent value for a NIR calibration. The moisture content calibration reached <math>R^2 = 0.91</math> which is acceptable, as the calibration had low error values. For density the calibration received <math>R^2 = 0.89</math> but big error values increased the unreliability of the calibration. The differences between the colour measuring methods were found to be minimal. The standard deviation and standard error values of the methods were very similar. T-test pairs showed that grind level did not have statistically significant effect on colour value. Grind level 1 samples still received a higher <math>L^*</math>-value, which was one of the hypotheses for the study.</p> <p>NIR-method can be used in the future as a way of measuring the colour and moisture content of roasted coffee. Density calibration would need more development for the calibration to be reliable.</p> |  |   |   |
| Avainsanat – Nyckelord – Keywords<br>NIR, near infrared, spectroscopy, roasted, coffee, calibration, colour, grind, density   |  |   |   |
| Säilytyspaikka – Förvaringställe – Where deposited<br>The Digital Repository of University of Helsinki, Helda   |  |   |   |
| Muita tietoja – Övriga uppgifter – Additional information<br>EKT Series 1909  |  |   |   |

## **ESIPUHE**

Tässä Paulig Groupille tehdyssä työssä haluttiin kehittää NIR-kalibraatioita ja tutkia uusien muuttujien mittausta NIR-teknologialla. Lisäksi haluttiin tutkia, kuinka paljon jauhatuus vaikuttaa paahdetun kahvin mittaustuloksiin. Tarkoituksena oli kehittää toimivat NIR-kalibraatiot, joita paahtimo voisi käyttää jatkossa hyödyksi. NIR- ja referenssianalyysit tehtiin Pauligin kahvilaboratoriossa Vuosaarella.

Kiitos ohjaajilleni, jotka olivat Riikka Malm Pauligilta ja Kirsi Jouppila Helsingin yliopistolta. Kiitos Pirita Kaunistolle, joka ehdotti maisterityön aihetta. Kiitos myös Antti Knaapilalle, joka auttoi tilastollisten tuloksien analysoinnissa. Kiitos Pauligin työntekijöille, jotka auttoivat minua tarvittavien näytteiden saamisessa. Kiitos myös FOSSin ja Bernerin henkilökunnalle NIR-laitteen käytön avustamisessa.

Helsingissä 1.10.2019

Olli Vähämäki

## SISÄLLYSLUETTELO

|       |  |    |
|-------|--|----|
| 1     | JOHDANTO   | 6  |
| 2     | KIRJALLISUUSKATSAUS  | 8  |
| 2.1   | Kahvi elintarvikkeena  | 8  |
| 2.1.1 | Kahvipavun rakenne   | 8  |
| 2.1.2 | Kahvipavun kemiallinen koostumus   | 9  |
| 2.2   | Kahvin prosessointi  | 11 |
| 2.2.1 | Kahvin esikäsittelyprosessi  | 11 |
| 2.2.2 | Kahvin paahtoprosessi  | 13 |
| 2.2.3 | Kahvin jauhatus  | 17 |
| 2.3   | NIR-teknologia   | 18 |
| 2.3.1 | NIR-teknologian perusteet  | 18 |
| 2.3.2 | Kemometria sekä tilastolliset työkalut NIR-teknologiassa                 | 23 |
| 2.3.3 | Kalibraation teko  | 27 |
| 2.4   | Kahvin tutkiminen NIR-teknologialla                                      | 28 |
| 3     | KOKEELLINEN OSUUS  | 32 |
| 3.1   | Materiaalit ja menetelmät  | 32 |
| 3.1.1 | Näytteet   | 32 |
| 3.1.2 | Värikalibraation teko ja referenssimenetelmä                             | 33 |
| 3.1.3 | Kosteuspitoisuuskalibraation teko ja referenssimenetelmä                 | 34 |
| 3.1.4 | Tiheyskalibraatio ja referenssimenetelmä                                 | 34 |
| 3.1.5 | Väri-jauhatustutkimuksen koeasetelma                                     | 35 |
| 3.1.6 | NIR-laitteen käyttö ja ohjelmisto sekä spektridatan analysointi          | 35 |
| 3.1.7 | Tilastolliset menetelmät   | 37 |
| 3.2   | Tulokset   | 38 |
| 3.2.1 | Spektridata  | 38 |
| 3.2.2 | Väri-, kosteuspitoisuus- ja tiheyskalibraation kehittäminen ja arviointi | 39 |
| 3.2.3 | Väri-jauhatustutkimuksen tilastollinen käsittely                         | 42 |
| 3.2.4 | Pääkomponenttianalyysin tulkinta   | 45 |
| 3.3   | Pohdinta   | 46 |
| 4     | PÄÄTELMÄT  | 50 |
| 5     | LÄHDELUETTELO  | 52 |
| 6     | LIITTEET   | 55 |

## 1 JOHDANTO

Kahvi on maailman toiseksi suosituin juoma veden jälkeen, ja sillä on valtava kaupallinen merkitys (Barbin ym. 2014). Se on juoma, joka valmistetaan paahdetuista kahvipavuista. Kahvin laadun varmistaminen on sen valtavan suosion takia hyvin tärkeää. Kahvi on laadullisilta ominaisuuksiltaan erittäin herkkä elintarvike, jonka ominaisuudet voivat vaihdella satokausien välillä sään, viljelyn ja prosessointitavan takia (Santos ym. 2016). Tämän vuoksi laadunvarmistus voi osoittautua haastavaksi, sillä kontrolloitujen parametrien raja-arvot voivat muuttua raaka-aineen muutoksien takia. Tämän takia tarvitaan luotettavia menetelmiä kahvin tutkimiselle ja arvioimiselle.

*Genus Coffea* -suvun kaksi lajiketta ovat kaupallisesti tärkeitä: *Coffea arabica* (arabica-kahvi) ja *Coffea canephora* (robusta-kahvi). Lajikkeet eroavat kasvuolosuhteiltaan, laadullisilta ominaisuuksiltaan ja maultaan (Barbin ym. 2014). Arabica-kahvi on kaupallisesti arvokkaampaa, ja sitä pidetään robusta-kahvia hienompana maultaan. Suurin osa kaupallisesti saatavilla olevista kahveista on arabican ja robustan erilaisia sekoituksia (Barbin ym. 2014).

Kahvipapu pitää prosessoida ennen kuin sitä voidaan paahtaa. Tämä prosessointi on usein monivaiheinen, ja siinä on erilaisia menetelmiä. Pääprosessointimenetelmiä raakakahville ovat kuiva- ja märkäprosessointi. Valmistettavan kahvin laatu on olennaisesti yhteydessä kemialliseen koostumukseen paahdetussa kahvissa. Kemialliseen koostumukseen taas vaikuttavat raakakahvin laji ja poiminnan jälkeiset käsittelyt, kuten kuivaus, säilytys, paahto ja jauhatus (Alessandrini ym. 2008). Vihreiden raakapapujen pääasiallinen kemiallinen koostumus on pienimolekyylipainoisia hiilihydraatteja. Näistä sakkaroosia voi olla 7 % kuivapainosta arabicassa ja robustassa (Arya ja Rao 2010), ja se on yksi eniten makeuteen vaikuttavista hiilihydraateista kahvissa (Santos ym. 2016). Myös fruktoosia ja glukoosia esiintyy kahvissa, mutta vähemmän. Hiilihydraattien väheneminen on paahtoprosessiin kuuluva ilmiö. Sakkaroosin suuri pitoisuus ja sen vähentyminen paahton aikana vaikuttavat kahvin lopulliseen makuun ja koostumukseen (Santos ym. 2016). Sakkaroosin pääreaktioihin paahton aikana kuuluvat fragmentoituminen ja karamellisoituminen (Arya ja Rao 2010). Karamellisoituminen on pelkistävien sokerien

reaktio, joka tuottaa ruskeita väriaineita ja aromia. Fragmentoitumisella tarkoitetaan yhdisteiden hajoamista.

Kahvin lipidit yhdistetään aromiin ja flavoriin. Kafestoli (engl. cafestol), kahweoli (engl. kahweol) ja 16-O-metyylikafestoli (engl. 16-O-methylcafestol) kuuluvat lipidifraktioon kahvissa. Nämä yhdisteet kuuluvat diterpeeneihin, laajaan hiilivetyjen aineryhmään, ja niillä on erilaisia terveydellisiä vaikutuksia ihmisissä (Scholz ym. 2014), kuten kolesterolia nostava vaikutus suodattamattomassa kahvissa.

Kosteuspitoisuus on yksi raakakahvin tärkeimmistä laatuparametreista. Suurin osa kahvin vienti- ja tuontimaista valvoo kosteuspitoisuutta yhtenä raakakahvin laatuksista. Turvallisuusväli on 8,0–12,5 % tuorepainosta. Kosteuspitoisuus, joka on turvallisuusvälin ulkopuolella, kyseenalaistaa pavun laadun (Adnan ym. 2017). Kosteuspitoisuus, joka on alle 8 %, aiheuttaa pavuissa kutistumista ja ei-toivottuja ulkonäkömuutoksia, kun taas yli 12,5 %:n kosteuden ylittävät pavut ovat herkempiä homekasvustolle ja niiden tuottamille mykotoksiineille (Adnan ym. 2017). Kosteuspitoisuus on tärkeä parametri myös sen takia, että se vaikuttaa paahdossa saatavaan kahvipapujen väriin, tiheyteen ja aromiin lopputuotteessa. Tämän takia sille tarvitaan nopea ja luotettava mittaussuunnitelma.

NIR-teknologia (engl. Near Infrared technology) on potentiaalinen sen nopeuden, yksinkertaisuuden ja turvallisuuden takia. Sillä pystytään mittaamaan useita näytteitä ilman esivalmisteluita, eikä näyte tuhoudu mittauksessa. Lisäksi mittaukset ovat nopeita, kemikaalivapaita eivätkä aiheuta kustannuksia (Barbin ym. 2014). Tulokset ovat olleet lupaavia, ja NIR-teknologiaa on alkanut hyödyntää useampi kahvinvalmistaja ympäri maailmaa. NIR-teknologiaa pystytään hyödyntämään sekä raakakahvin että paahdetun kahvin analysoinnissa (Páscoa ym. 2015).

Tämän tutkimuksen tavoitteena oli ottaa käyttöön NIR-teknologia kahvin pääparametrien mittaussuunnitelmassa (väri, kosteuspitoisuus). Tarkoituksena oli tehdä kattava kalibraatio kahvin kosteuspitoisuudelle ja värille, jotta teknologiaa voi hyödyntää paahdusprosessissa ja kahvin laadunvarmistuksessa. Lisäksi haluttiin selvittää, miten kahvin jauhatusta vaikuttaa kahvin väriin. Tavoitteena oli myös tutkia, voiko kahvin tiheyttä mitata NIR-teknologialla luotettavasti. Tutkimuksen hypoteesina oli se, että hienommalla jauhatuksella olisi tuloksissa vähemmän hajontaa ja sen väriarvot olisivat vaaleampia.

## 2 KIRJALLISUUSKATSAUS

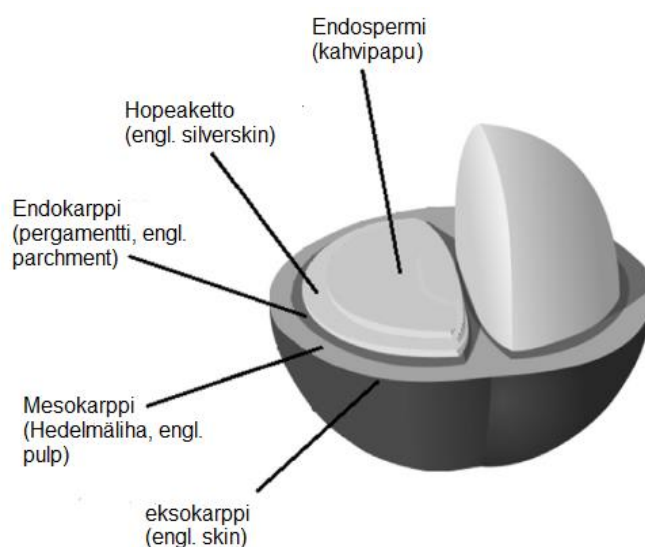
### 2.1 Kahvi elintarvikkeena

#### 2.1.1 Kahvipavun rakenne

Kahvipavussa on kaksi selkeästi jaettavaa monimuotoisuuden tasoa. Makroskooppisella tasolla papu on muodostunut kasvisolukkerroksista, jotka ovat taittuneita yhdessä ja muodostavat kiinteän ellipsin muotoisen rakenteen. Mikroskooppisella tasolla kudoksesta koostuu erimuotoisista soluista, jotka sisältävät sokereita, proteiineja ja lipidejä ja jotka ovat sulkeutuneet polysakkaridiseinällä (Bee ym. 2005).

Kahvipavun hedelmä koostuu oranssi-punertavasta eksokarpista (joka kypsyessä muuttuu punaiseksi) (engl. skin), kelta-valkoisesta hedelmälihasta/mesokarpista (engl. mesocarp/pulp) ja kasvilimasta (engl. mucilage), keltaisesta pergamentista/endokarpista (engl. parchment/endocarp) ja hopeaketosta (engl. silverskin), jotka ympäröivät kahvipapua (endospermi) (De Melo Pereira ym. 2019). Eksokarppi antaa hedelmälle ulkoista kimmoisuutta. Kahvimarjan rakenne on esitetty kuvassa 1.

Kahvipavun flavori alkaa muodostua kahvipensaassa kahvimarjan kypsyessä. Flavorin monimuotoisuus kehittyy edelleen kahvin eri prosessivaiheissa. Kahvimarjoja poimitaan joka vuosi, kun ne ovat kirkkaanpunaisia, kiiltäviä ja kiinteitä. Ulkoisen kerroksen poiston jälkeen kirsikan kokoisen marjan sisällä olevia siemeniä kutsutaan yleisesti kahvipavuiksi (Wang 2012).



**Kuva 1.** Kahvimarjan rakenne.

## 2.1.2 Kahvipavun kemiallinen koostumus

Raakakahvin yleislaatuun vaikuttaa moni tekijä, kuten maaperän koostumus, korkeus merenpinnasta ja viljelytilalla vallinnut sää (Wang 2012). Arabica-kahvin pääyhdisteet ovat soluseinän polysakkaridit (48–60 % kuivapainosta), pääosin galaktomannaanit ja arabinogalaktaani-proteiinit, lipidit (13–17 %), proteiinit (11–15 %), sakkaroosi (7–11 %) ja klorogeenihapot (5–8 %) (Bertrand ym. 2010). Bertrandin ym. (2010) mukaan kaikilla näillä yhdisteillä on tärkeä rooli monimutkaisessa paahtoprosessissa. Proteiinit ja aminohapot ovat olennaisia sokerien vähenemisessä ja niiden muuttumisessa aromien esiasteiksi Maillard-reaktion kautta. Raakakahvin kemiallinen koostumus on esitetty taulukossa 1 (Wang 2012).

**Taulukko 1.** Arabica- ja robusta-raakakahvien kemiallinen koostumus Wangin (2012) mukaan.

| Komponentti           | Pitoisuus (g/100 g) |         |
|-----------------------|---------------------|---------|
|                       | Arabica             | Robusta |
| Polysakkaridit        | 49,8                | 54,4    |
| Sakkaroosi            | 8                   | 4       |
| Pelkistävät sokerit   | 0,1                 | 0,4     |
| Muut sokerit          | 1                   | 2       |
| Lipidit               | 16,2                | 10      |
| Proteiinit            | 9,8                 | 9,5     |
| Aminohapot            | 0,5                 | 0,8     |
| Alifaattiset hapot    | 1,1                 | 1,2     |
| Kviinihappo           | 0,4                 | 0,4     |
| Klorogeenihappo (CGA) | 6,5                 | 10      |
| Kofeiini              | 1,2                 | 2,2     |
| Trigolliini           | 1                   | 0,7     |
| Mineraalit            | 4,2                 | 4,4     |
| Vesi                  | 8–12                | 8–12    |

### Kahvin hiilihydraatit

Raakakahvi sisältää erilaisia hiilihydraatteja, jotka ovat jaettavissa polysakkaridien ryhmään ja pienen molekyylipainon omaaviin sokereihin, jotka sisältävät tri-, di- ja monosakkaridit (Clarke 1985). Knoppin ym. (2005) tutkimuksessa havaittiin, että kahvimarjan kuiva- tai märkäprosessoinnilla oli suora vaikutus kahvin fruktoosi- ja glukoosipitoisuuksiin. Riippuen prosessointitavasta vain pieniä pitoisuuksia näitä yhdisteitä oli läsnä prosessoinnin jälkeen. Tutkimuksessa hyödynnetyllä märkäprosessoinnilla fruktoosin ja glukoosin pitoisuudet olivat huomattavasti suurempia. Tämä varmistettiin laboratoriossa tehdyillä

malliprosessoinneilla. Vertailunäytteillä havaittiin, että molempien sokereiden pienet pitoisuudet johtuivat märkäprosessoinnista.

Fruktoosin ja glukoosin vähentymistä märkäprosessoidussa kahvissa tutkivat myös Kleinwächter ja Selmar (2010). Heidän tutkimuksessaan todettiin, että glukoosin ja fruktoosin pitoisuudet pienenevät huomattavasti kahvipavun ensimmäisen kuivattamispäivän aikana. Tutkimuksesta pääteltiin, että märkäprosessoidun kahvin matalat fruktoosi- ja glukoosipitoisuudet johtuvat ainakin osittain metabolisista prosesseista.

Polysakkaridit ovat tärkeä osa raakakahvin koostumusta. Soluseinän polysakkaridit muodostavat puolet kahvin kuivapainosta ja ovat osa kahvipavun soluseinän liukenematonta polysakkaridirakennetta (Fischer ym. 2001). Kahvipavun polysakkaridien jakauma on kolmen polymeerityypin hallitsema: arabinogalaktaani, mannaani ja selluloosa (Clarke ja Vitzthum 2001). Fischerin ym. (2001) tutkimus vertaili kokonaispolysakkaridipitoisuutta arabican ja robustan välillä sekä raportoi aineiston rakenteellisista eroista eristetyissä arabinogalaktaanissa (engl. arabinogalactan) ja galaktomannaasissa (engl. galactomannan). Galaktomannaanissa ei havaittu lajikkeiden välillä rakenteellisia eroja, mutta arabinogalaktaanissa havaittiin eroja arabinaanisivuketjujen haaroittuneisuudessa. Arabicaan verrattuna robustassa oli suurempia pitoisuuksia arabinogalaktaania, jonka sivuketjut olivat pidempiä.

### Raakakahvin hapot

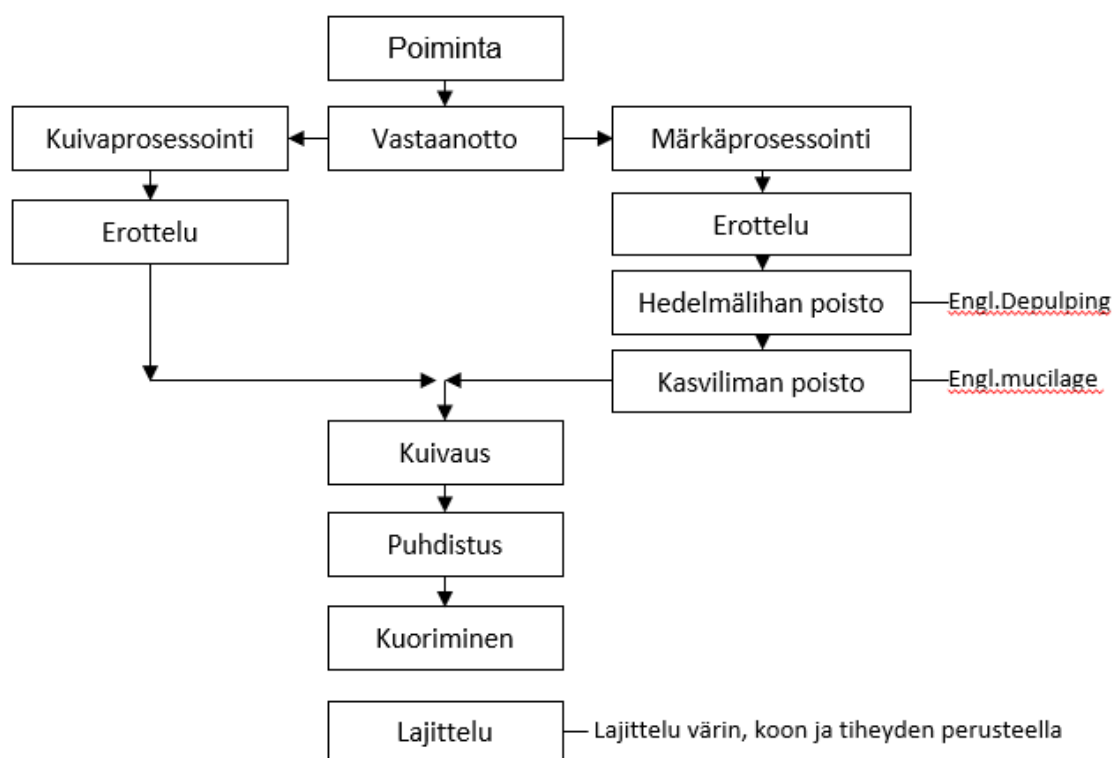
Päähapot raakakahvissa ovat sitruunahappo (engl. citric acid), omenahappo (engl. malic acid), klorogeenihappo (engl. chlorogenic acid) ja kviinihappo (engl. quinic acid). Paahdon aikana kolmen ensimmäisen hapon pitoisuudet pienenevät, kun taas kviinihappo lisääntyi (Wang 2012).

## 2.2 Kahvin prosessointi

### 2.2.1 Kahvin esikäsittelyprosessi

Raakakahvin prosessoinnissa on kaksi pääprosessointimenetelmää, joilla raakakahvista eristetään ei-halutut osat ja saadaan halutut kemialliset reaktiot aikaan. Nämä menetelmät ovat kuiva- ja märkäprosessointi (kuva 2). Valitulla metodilla on suora vaikutus kemialliseen koostumukseen ennen paahtoa ja sen jälkeen sekä lopullisen juoman laatuun. Kahvimarjalle tarvitaan prosessointia, jotta voidaan erottaa hedelmäliha ja endokarppi sekä kuivattaa kahvipavut.

Kuivaprozessointi tehdään pääosin robusta-kahville, mutta sitä käytetään myös pääosalle Brasilian arabica-kahvista (Clarke ja Macrae 1987). Kuivaprozessointia käytetään usein alueilla, joilla olosuhteet mahdollistavat auringossa kuivattamisen. Märkäprozessointia käytetään arabica-kahville, ja siitä saadaan lopputuloksena miedompaa kahvia. Märkäprozessoidun kahvin yleisesti hienostuneempana pidetty maku saadaan aikaan monivaiheisen prosessointitavan ansiosta.



**Kuva 2.** Kahvimarjan prosessointi pavuksi eri menetelmillä Clarken (1985) mukaan.

Kuivaprosessointi on yksinkertainen ja vähemmän vaativa sadonkorjuun suhteen, koska hedelmälihaa ei poisteta mekaanisesti. Tämän takia poiminnassa tulee mukaan kypsiä (punaisia), epäkypsiä (vihreitä) ja ylikypsiä (tummuneita, rakenteeltaan huonoja) marjoja. Kahvimarjat kuivataan välittömästi poiminnan jälkeen (Clarke ja Macrae 1987). Kuivaprosessoinnissa marjat altistetaan auringolle tai ilmakeivaimille, kunnes kosteuspuiteisuus on noin 10–12 %. Kuivatusalueen (pation) tulee olla hieman kalteva ja tarpeeksi iso, jotta kahvimarjat eivät ole paksuissa kerroksissa varsinkaan kuivauksen alussa. Pation kaltevuus mahdollistaa ylimääräisen veden poisvalumisen. Vasta kun kahvimarjan pinta on kuivunut (ulkoisen veden haihtuminen) voidaan kahvia kuivata paksummissa kerroksissa. Patioiden tulee olla rakennettuina alueille, joilla ei ole kylmää ilmaa, auringonvalon määrä on suuri ja kuivauspinnan kaltevuus pieni. Kuivauksen jälkeen marjat pestään ja niiden sisältö tyhjennetään, jolloin kuivunut kuori ja hedelmäliha poistetaan. Tuotteena saadaan kahvipapu, jonka ympärillä on kuivaprosessoinnissa usein vielä hopeaketto. Kuivunut kuori ja hedelmäliha ovat sivuvirtaa (De Melo Pereira ym. 2019).

Märkäprosessointi vaatii paljon tiukempaa kontrollia poiminnan suhteen, sillä raakoja tai osittain kuivuneita marjoja ei pystytä käsittelemään hedelmälihan poistolaitteella (engl. pulper). Ennen hedelmälihan poistamista vihreiden kahvimarjojen erottelu kypsistä voidaan tehdä vesialtaissa, joissa epäkypsät ja ylikypsät pavut nousevat pinnalle. Vesialtailla saadaan myös poistettua kivet, oksat ja lehdet tehokkaasti. Pulping-prosessi sisältää hedelmälihan poiston. Hedelmälihan poistamisen jälkeen pitää kasvilima poistaa pergamentista (engl. parchment). Tämä voidaan tehdä mekaanisesti, kemiallisesti tai fermentoimalla. Kahvin prosessoinnin tulisi alkaa mahdollisimman pian poiminnan jälkeen, jotta voidaan estää hedelmän pilaantuminen ei-halutun fermentaation tai homeen muodostumisen takia (Bee ym. 2005, Illy 2002, De Melo Pereira ym. 2019). Märkäprosessoitu kahvi sisältää yleisesti enemmän hapokkuutta ja aromeja kuin kuivaprosessoitu kahvi. Tämä johtuu muun muassa fermentaatiosta, jossa kahvin aromit pääsevät kehittymään.

Kuiva- tai märkäprosessoinnista riippumatta pavut pitää kuivata 10–12 %:n kosteuspuiteisuuteen. Kuivausprosessi voidaan tehdä aurinkokuivauksella tai erilaisilla mekaanisilla kuivaimilla, esimerkiksi rumpukuivaimilla tai ilmakeivaimilla. Kuivausmenetelmä yhdistyy usein taloudellisiin tekijöihin riippuen siitä, mikä menetelmä on kyseisellä kahvitilalla realistisin (De Melo Pereira ym. 2019). Mitä tasaisempi kahvipapujen massa on, sitä parempi ja yhtenäisempi on kuivausprosessi. Epäkypsissä vihreissä kahvimarjoissa kosteuspuiteisuus voi olla noin 70 % ennen kuivausta, kun taas kypsissä se vaihtelee välillä 50–70 % ennen kuivausta (Bee ym. 2005).

### 2.2.2 Kahvin paahtoprosessi

Kahvin paahtoprosessi on aika- ja lämpötilariippuvainen prosessi, jossa vesipitoisuus ja pavun liikkuminen ovat tärkeitä (Clarke ja Vitzthum 2001). Raakapavun laatu, prosessilämpötila ja kuuman ilman kosteus ovat tärkeitä tekijöitä paahtetun kahvin laadulle. Kahvi paahdetaan lämpökäsittelyllä, jonka aikana pavun ytimen lämpötila nousee yli 200 °C:seen, joka on epätavallisen korkea lämpötila elintarvikkeelle (Baggenstoss ym. 2008). Tyypillisesti paahtoprosessi on nopea, 5–20 minuuttia, ja lämpötila vaihtelee 200°C:sta 230°C:seen (Santos ym. 2016). Paahton aikana käytettävällä lämpötilalla on vaikutus kahvipavun fysikaalisiin ominaisuuksiin. Baptistinin ym. (2018) tutkimuksessa havaittiin, että korkeammissa lämpötiloissa kahvipavun pinta-ala laajeni ja pavun tiheys aleni. Paahton aikana painonpudotus vaihtelee välillä 14–23 % riippuen pavun maantieteellisestä alkuperästä, raakakahvin kosteuspitoisuudesta, säilytysolosuhteista ja paahtomenetelmästä.

Paahto on kahvintuotannossa avainvaihe laadukkaalle kahville ja luultavasti tärkein tekijä hyvälaatuisen kahvin tuottamiselle. Tämän vaiheen pitää olla kontrolloitu sekä toistettavissa, jotta kuluttajien vaatimukset voidaan toteuttaa (Berkia ym. 2006). Kahvin aistittavat ominaisuudet ja fysikaalis-kemialliset ominaisuudet pitää arvioida lähellä tuotantoa, jotta voidaan varmistaa oikeat paahto-olosuhteet. Luotettavin ja tehokkain menetelmä reaaliaikaiseen laadunvarmistukseen on in-line-mittaus, jolla voidaan varmistaa tuotteen laatu (Santos ym. 2016). Kahvin paahtoastetta arvioidaan silmämääräisesti väriä tutkimalla, värimittarilla tai veden haihtumisen määrällä paahton jälkeen (Wei ja Tanokura 2015). Paahtetut pavut luokitellaan paahtoasteen avulla. Niiden paahtoaste näkyy värissä, kehittyneessä flavorissa, menetetyssä kuivapainossa ja kemiallisissa muutoksissa eri komponenteissa. Yksinkertaisin termein paahtettua kahvia voidaan kutsua vaaleaksi, keskipaahtoiseksi tai tummaksi paahtoksi.

Kahvin aistittavat ominaisuudet liittyvät hyvin oleellisesti paahtettujen papujen kemialliseen koostumukseen, johon taas vaikuttaa lajike ja sen maantieteellinen alkuperä. Myös muilla tekijöillä, kuten paahto-olosuhteilla, teknologisilla tekijöillä (paahtokoneen tyyppi ja kapasiteetti, kahvin uutossa käytetty laitteisto) ja fysikaalisilla parametreilla (pavun koko ja muoto ja mahdollisten laatuvirheiden läsnäolo) on vaikutusta.

### Kahvipavun rakenteen muutos paahdon aikana

Paahdon aikana kahvipavut muuttuvat fysikaalis-kemialliselta rakenteeltaan pyrolyysin ja monien reaktioon osallistuvien kompleksien ansiosta (Clarke ja Macrae 1989). Kaikkein tärkein vaikutus on paahdon aikana papuihin siirtyvän lämmön määrällä, jota voidaan säädellä lämpötilalla ja ajalla. Paahdossa papu on altistettuna tasaiselle painon alenemiselle veden haihtumisen ja sen jälkeisen pyrolyysireaktion ansiosta. Samaan aikaan kahvipapu kasvaa tilavuudeltaan sisäisen kaasunmuodostuksen takia muun muassa hiilidioksidin ja muiden lämpöhajoamisen tuotteiden ansiosta). Samanaikaisen painonpudotuksen ja tilavuuden lisääntymisen takia kahvipapujen tiheys laskee ja kahvipavulle muodostuu tyypillinen huokoinen rakenne (Alessandrini ym. 2008). Tämän lisäksi kahvipavun sisäinen kosteuspitoisuus laskee noin kolmeen prosenttiin (Correia ym. 2018). Kun kahvipavun lämpötila saavuttaa yli 180 °C:n lämpötilan, lämpöä luovuttava reaktio, jossa on mukana polysakkarideja, proteiineja, klorogeenihappoa ja trigollineja, muodostaa kokonaisuuden, joka määrittää paahdetun kahvin värin, flavorin ja aromin (Bustos-Vanegas ym. 2018). Reaktiossa vapautuu hiilidioksidia (Schenker ym. 2000). Endospermin altistuessa 180—200 C kuumuudelle tapahtuu pavun halkeaminen. Liiallisen ruskistumisen ja aromin heikentymisen ehkäisemiseksi pavut poistetaan paahtokammioista ja jäädytetään nopeasti kylmällä ilmalla tai vesisuihkulla (Cavaco ym. 2012). Paahdossa saatu huokoinen rakenne lisää reaktiopinta-alaa lämmönvaihdossa, mikä taas lisää jäähtyksen tehokkuutta (Bustos-Vanegas ym. 2018). Suuri osa vapautuneesta hiilidioksidista jää kahvipavun sisälle ja vapautuu jatkuvasti jäähtyksen jälkeen. Tämän takia paahdetun kahvin pitää antaa levätä ennen pakkaamista, jotta voidaan välttyä turpoavilta tai paukahtavilta pakkauksilta (Wang ja Lim 2017). Hiilidioksidin poistuminen pavusta ja sen aiheuttama pakollinen lepoaika ennen pakkaamista (engl. degassing) ovat olleet haaste kahviteollisuudessa jo vuosikymmeniä, eikä hiilidioksidin poistumismekanismia tunneta vieläkään riittävän hyvin. Hiilidioksidin muodostuminen paahdetussa kahvissa on pitkälti perusteltu Maillardin reaktiolla ja Streckerin aminohapposynteesillä (Wang 2012). Maillardin reaktio on kemiallinen reaktio, jossa pelkistävät sokerit ja vapaan aminoryhmän omaavat aminohapot, peptidit ja proteiinit, reagoivat keskenään.

Kahvipavun rakenteen muuttuminen johtuu pääosin pavun kosteuden haihtumisesta sekä veden ja hiilidioksidin vapautumisesta paahtoreaktiossa, jossa vesi ja hiilidioksidi toimivat pavun rakenteellisen lujuuden vastavoimana Clarken ja Vitzthumin (2001) mukaan.

### Hiilihydraattien muutokset paahdossa

Hiilihydraateissa tapahtuu isoja muutoksia paahdon aikana riippuen käytettävästä lämpötilasta. Sakkaroosi vähenee nopeasti paahdon aikana, jolloin esimerkiksi vaaleissa paahdoissa noin 3–4 % alkuperäisestä sakkaroosipitoisuudesta pavussa säilyy. Keskippahtoisissa kahveissa voi olla vielä 1 % sakkaroosia, ja tummissa paahdoissa sakkaroosi menetetään kokonaan (Clarke ja Macrae 1989). Sakkaroosi on aromin esiaste kahvissa ja sen hajoaminen muodostaa karboksyylihappoja, furaania ja aldehydejä, jotka vaikuttavat kahvin flavoriin (Wei ja Tanokura 2015). Mallireaktioiden avulla on todistettu, että sakkaroosi on merkittävä lähde kahvin paahdossa muodostuville alifaattisille hapoille. Clarke ja Macrae (1989) kertovat, että yksinkertaiset sokerit, eritoten glukoosi, fruktoosi ja arabinoosi, hajoavat paahtoprosessin aikana. Clarke ja Vitzthum (2001) kuvailevat, että nämä pääreaktioaineet reagoivat monella tapaa paahdossa. Niissä tapahtuu fragmentoitumista, jolloin ne muodostavat matalan molekyyllipainon tuotteita, kuten alifaattisia happoja. Reaktiot aminohappojen tai proteiinien kanssa muodostavat Maillardin reaktiossa yhdisteitä, jotka voivat olla joko polymeerisiä tai matalan molekyyllipainon omaavia. Varsinkin jälkimmäiset vaikuttavat kahvin flavoria muodostavina yhdisteinä. Muita flavoriin vaikuttavia ainesosia ovat furaanit, pyratsiinit ja pyrolit, joita muodostuu paahdossa trigolliinin avulla epäsuorasti. Trigolliini on pyridiinistä johdannainen yhdiste, joka vaikuttaa epäsuorasti muun muassa furaanien ja pyratsiinien muodostumiseen paahdon aikana (Wei ja Tanokura 2015).

### Kahvin väri ja pigmentit

Ilmiselvin fysikaalinen muutos paahtoprosessissa on pavun väri. Kahvin väri on tärkeä parametri, ja se kuvaa paahdon lopullista vaikutusta.  $L^*a^*b$ -asteikolla mitattu  $L^*$ -arvo tarkoittaa valoisuutta (engl. luminosity),  $a^*$ -arvo tarkoittaa punaisen tai vihreän intensiteettiä ja  $b$ -arvo tarkoittaa keltaisen ja sinisen intensiteettiä (Santos ym. 2016).

Tuomola (2014) on tutkinut kahvin väriä aikaisemmin. Hänen tutkimuksessaan mainitaan, että lopputuotteen väriin vaikuttavat kymmenet erilaiset tekijät: raakakahvin fysikaaliset ja kemialliset ominaisuudet, paahdon aikaiset ilmavirtaukset, lämpötilaan vaikuttavat tekijät, ilman kosteus ja paahtomaljan lämpötila.

Paahdon aste arvioidaan visuaalisesti pavun ulkoisesta väristä. Laajemman skaalan kaupallisessa tuotannossa, jossa on useita välivaiheita, arviointi tehdään sopivan värimittarin avulla (Clarke ja Macrae 1989).

Pigmentit / värillinen materiaali paahdetussa kahvissa on vieläkin yksi huonoimmin karakterisoiduista ryhmistä reagoivia aineita kahvissa. Nämä tuotteet ovat sakkaroosin karamellisoitumisen, Maillard-reaktion ja aminokomponenttien kondensaatioreaktioiden tulos. Clarke ja Macrae (1989) kuvailevat, että reaktiivinen prekursori ruskettumisreaktiossa voi olla läsnä vapaana aminohappona tai sokerina tai yhdistettynä proteiinina ja polysakkaridina, olettaen että funktionaaliset ryhmät ovat läsnä ja kykeneviä reagoimaan. Melanoidiinit ovat värillisiä, ruskeita pigmenttejä, jotka kehittyvät elintarvikkeiden lämpökäsittelyssä Maillardin reaktiosta tai yllämainitusta karamellisoitumisesta. Polysakkaridit ja proteiinit ovat tärkeitä niiden muodostumisessa. Melanoidiinit muodostuvat siis hiilihydraattien ja yhdisteiden välillä, joissa on vapaa aminoryhmä, kuten aminohapoissa (Bonnänder ym. 2005)

### Paahtovälineistö

Horisontaaliset rumpupaahdokoneet ovat vanhin ja parhaiten tunnettu paahtokonetyyppi, varsinkin panostoimisella periaatteella paahtavat laitteet. Näitä valmistavat muun muassa Probat-Werke (Emmerich, Saksa), Jabez Burns (USA) ja G.W. Barth (Ludwigsberg, Saksa) (Clarke ja Macrae 1989). Horisontaalisesti pyörivät rumpupaahdokoneet ovat yleisin välineistö tuomaan kahvi kontaktiin kuuman ilman kanssa. Leijupetipaahdokone kuljettaa papuja liukuhihnalla paahdon läpi, jolloin kuumaa kaasua ohjataan petiin putkien kautta (Clarke ja Vitzthum 2001). Leijupedilliset paahtokoneet toimivat pääosin panosluontoisesti, mutta nykyisin niistä löytyy myös jatkuvatoimivia versioita (Clarke ja Macrae 1989). Paahtokoneiden pitää tarjota viilennystapa paahdetulle kahville välittömästi, kun haluttu paahtoaste on saavutettu. Yleensä tämä tapahtuu kylmällä ilmalla, mutta se on mahdollista toteuttaa myös veden lisäämisellä (Clarke ja Macrae 1989). Paahtoprosessi tapahtuu normaaleissa (engl. atmospheric) olosuhteissa kuumilla kaasuilla ja ylimääräisellä ilmalla, jotka toimivat pääasiallisena lämmönlähteenä. Kontakti kuumaan metallipintaan voi myös toimia lämmönlähteenä, mutta yleisesti sitä pidetään lisänä kuuman ilmapirran lämpöön. Säteily voi myös tuottaa jonkin verran lämpöä ja joissakin paahtokonemalleissa se voi olla jopa pääasiallinen lämmöntuottaja (Clarke ja Macrae 1989).

### 2.2.3 Kahvin jauhatus

Jauhatuksella on tarkoitus saada käyttötarkoitukseen sopiva partikkelikokojakauma. Kahvin käyttötarkoituksesta ja paahdosta riippuen kahvi jauhetaan hienoksi tai karkeaksi. Hienoimmat jauhatukset löytyvät espressokahveista. Kahvin jauhatusta voidaan mitata partikkelikoon avulla.

Jauhatusprosessissa ei tule esiintyä kosteutta, koska osa jauhetun kahvin rakenteesta liukenee veteen (Petracco 2005). Tämä jättää kuivaprosessointiin kaksi vaihtoehtoa: impact-jauhatuksen ja gap-jauhatuksen. Impact-jauhatus saadaan aikaiseksi teräsarjoilla, jotka pyörivät nopeasti. Terät aiheuttavat kahvipartikkeleissa impulssin, kun ne pääsevät kontaktiin. Impulssi syntyy partikkeliin kohdistuvasta voimasta. Tätä jauhatusmetodia käytetään hyväksi lähinnä kotikäyttöisissä, pienissä jauhatuslaitteissa.

Gap-jauhatus perustuu kahvipapujen läpipääsyyn aukosta, joka on leikkuutyökalujen välissä. Leikkurit on rakennettu niin, että ne pakottavat partikkelit kontaktiin molempien leikkureiden kanssa, koska leikkurien välisen aukon leveys pienenee asteittain. Gap-jauhatuslaitteet jaetaan kolmeen tyyppiin: pyöröleikkureihin (engl. roller cutter), kartioleikkureihin (engl. conical cutter) ja litteisiin leikkureihin (engl. flat cutters) (kuva 3). Pyöröleikkurit ovat pääosin käytössä teollisuudessa (Petracco 2005). Teollisuudessa käytetään valsseja (yksi tai kaksi paria), joita edeltää toinen pari esimurskaavia valsseja, joilla tehdään esirouhinta. Teollisuudessa jauhatuskapasiteetti voi vaihdella sadan kilon ja useamman tonnin tuntivauhdin välillä, riippuen laitteiden koosta ja kapasiteetista.

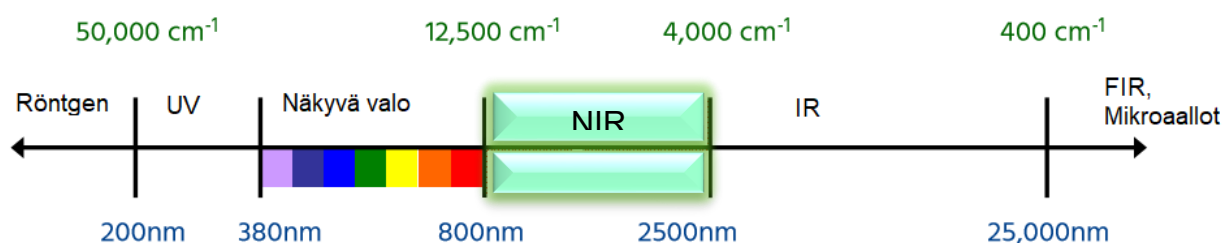


**Kuva 3.** Erilaisia gap-jauhatuslaitteita. Vasemmalta oikealle: pyöröleikkuri, kartioleikkuri, litteä leikkuri (Petracco 2005).

## 2.3 NIR-teknologia

### 2.3.1 NIR-teknologian perusteet

Värähtelyyn ja aallonpituuksiin perustuvat mittausmenetelmät, kuten NIR-teknologia, tarjoavat elintarviketeollisuudessa suoraviivaisen, nopean ja kustannustehokkaan vaihtoehdon olemassa oleville menetelmille (Carle ym. 2015). Infrapunaa aallonpituudet jaetaan lähi-infrapunaan (NIR), keski-infrapunaan (MIR) ja kaukoinfrapunaan (FIR) (Figura ja Texeira 2012). NIR-teknologia perustuu infrapuna- eli lämpösäteilyyn. Elektromagneettisella säteilyllä mitataan näytettä aallonpituusvälillä 750–2500 nm ( $13,333\text{--}4000\text{ cm}^{-1}$ ) (Pasquini 2018) (kuva 4).

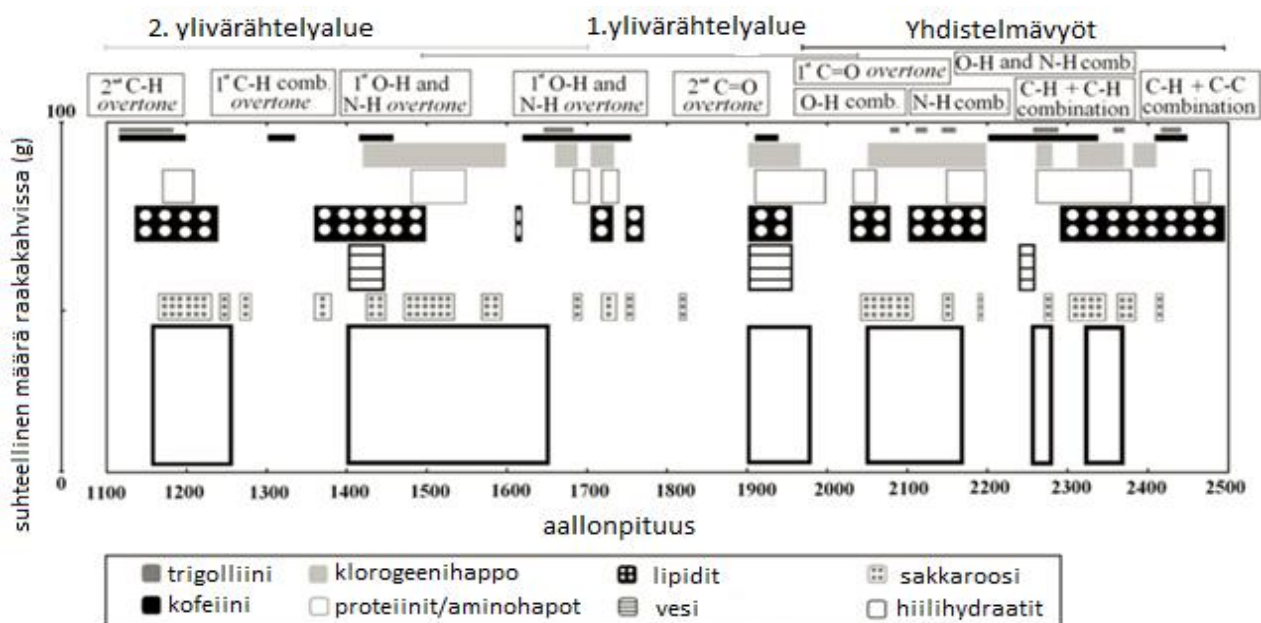


**Kuva 4.** Eri aallonpituuksilla ilmenevät säteilyt Nilssonin (2018) mukaan. Lähi-infrapunaa alue on 750–2500 nm. Infrapuna-alueeseen kuuluu lisäksi keski-infrapuna (MIR) ja kaukoinfrapuna (FIR).

Värähtelyenergia perustuu atomien kykyyn värähdellä niiden sidosten kautta molekyyllissä. Värähtely syntyy molekyylien ja atomien välisten sidosten energiasta. Nämä sidokset voivat toimia kuten elastiset nauhat, jotka venyvät, taipuvat, supistuvat ja pyörivät. Kahden atomin värähtely nähdään venymisenä. Kolmen tai useamman atomin läsnä ollessa sidokset voivat myös taipua, mikä antaa erilaisia värähtelyjä. Erilaiset kemialliset sidokset (C-H, O-H, N-H) vaihtelevat vahvuuksiltaan ja vaativat sen takia eri määrän energiaa, jotta sidoksen värähtely siirtyy seuraavalle energiatasolle. Tämä sidosten energiatarpeen variaatio näkyy spektrissä sarjana absorptioita eri aallonpituuksilla. Spektriä tutkimalla voidaan päätellä, mitä värähtelyjä tapahtuu, ja siten todeta molekyylin rakenne (Davies 2019).

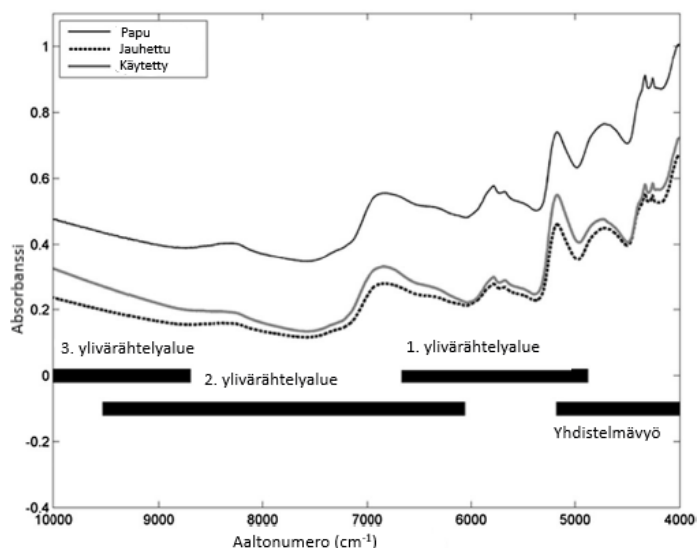
Lähi-infrapuna-alue antaa spektri-informaatiota perusvärähtelyiden lisäksi yhdistelmävärähtelyistä (engl. combination) ja ylivärähtelystä (engl. overtone) (kuva 5 ja kuva 6) (Aquino ym. 2017). Ylivärähtelyt ovat samasta lähteestä kuin perusvärähtelyt, mutta

aaltoluku on kaksin- tai kolminkertainen perusvärähtelyn aaltolukuihin verrattaessa, koska absorptiota tapahtuu muilla aallonpituuksilla (perusvärähtelyn lisäksi) samasta molekyylin tai atomin sidoksesta (Figura ja Texeira 2012). Aaltolukuja ( $\text{cm}^{-1}$ ) yhdistelemällä saadaan yhdistelmävyöitä, jotka näkyvät spektridatassa leveinä piikkeinä. Spektridatassa näkyy useita korkeita piikkejä (kuva 6) sen takia, koska orgaaniset sidokset värähtelevät eri aallonpituuksilla venymällä, taipumalla, supistumalla tai pyörimällä. Piikkejä näkyy spektridatassa paljon myös sen takia, että ylivärähtelyt tapahtuvat NIR-alueella lähellä toisiaan, kaksin- tai kolminkertaisilla aaltoluvuilla perusvärähtelystä.



**Kuva 5.** Kemiallisten sidosten ylivärähtelyalueita sekä yhdistelmävyöt esitettynä kahvin komponenteissa (Ribeiro ym. 2011).

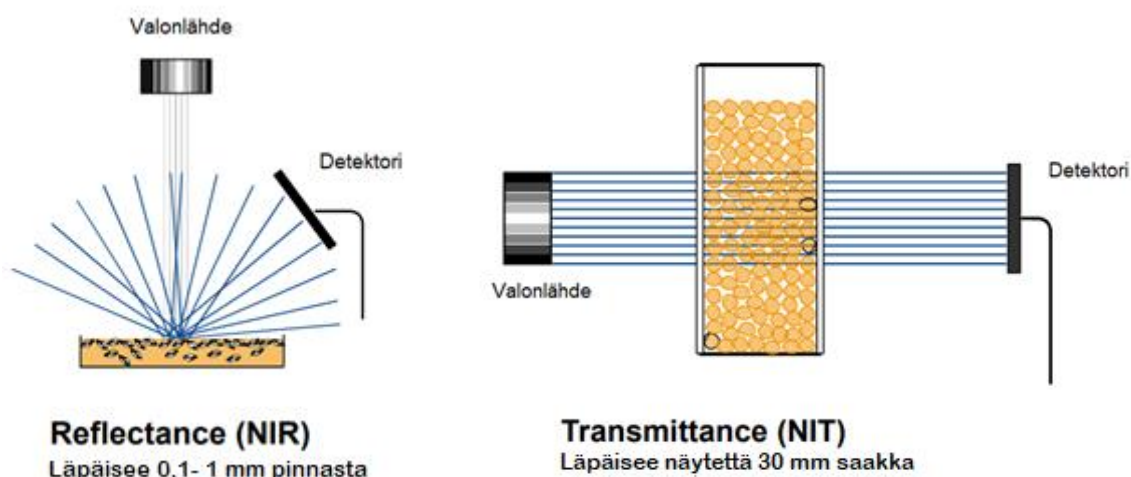
Spektriä voidaan analysoida antamalla vyöt tiettyjen ryhmien värähtelylle. Kuvassa 6 yhdistelmävyö  $5200 \text{ cm}^{-1}$  on hyvin selkeä piikki spektrissä ja se on O-H-sidoksen värähtelyn yhdistelmävyö vesimolekyylissä. Atomin massa, sidoksen lujuus ja anharmonisuus eli poikkeama jaksolliselle värähtelylle ovat kolme pääpiirrettä funktionaalisissa ryhmissä, jotka vaikuttavat NIR-yhdistelmävyöiden paikkaan ja intensiteettiin (Norris ja Williams 1987).



**Kuva 6.** Paahdetun kahvinäytteen spektri. X-akselilla on kuvattu aallonnumero, Y-akselilla absorbanssi. Suora viiva (musta) kuvaa kahvipavun spektriä, katkonainen jauhetun kahvin spektriä ja suora viiva (harmaa) kuvaa kahvipurujen spektriä. 5200  $\text{cm}^{-1}$  alue kuvaa O-H-sidoksen värähtelyä vesimolekyylissä.

Lähi-infrapunalaitteen rakenteeseen kuuluvat linssit ja peilit, jotka keräävät säteilyä, säteilylähde, monokromaattori, suodattimet ja detektorit (Norris ja Williams 1987). Detektorien paikka riippuu siitä, halutaanko näytteestä sironnutta vai näytteestä takaisin heijastunutta säteilyä. Jotta voidaan lähettää yksittäisiä aallonpituuksia (yksi kerrallaan) eri aaltoluvuilta, tarvitaan säteilyä monokromaattorista. Tämä voidaan saada aikaan tarvittavilla suodattimilla. Ne asetetaan säteen tielle ja ohjelmoidaan toimimaan vaiheittain (Figura ja Texeira 2010).

Dispersiivinen NIR-mittaus käyttää hyväksi edellä mainittua hajotettua säteilyä, missä lähetetään yksittäisiä aallonpituuksia kerrallaan näytteeseen. Dispersiivisessä NIR-mittauksessa on erilaisia tekniikoita, riippuen minkälaisesta materiaalista halutaan tutkia. NIR-reflektanssitekniikassa (engl. NIR-reflectance) säteily läpäisee näytettä hyvin vähän ja detektorit mittaavat materiaalin pinnasta takaisin heijastuvaa säteilyä (kuva 7). Baetenin ym. (2015) tutkimuksessa tätä tekniikkaa käytettiin kiteytyneelle sakkaroosille. Transmittanssi-NIR (NIT) läpäisee näytettä n. 30 mm:iin saakka. Näyte on valonlähteen ja detektorin välissä (kuva 7).



**Kuva 7.** NIR-reflektanssin ja NIR-transmittanssin toimintaperiaatteet Nilssonin (2018) mukaan.

Infrapunaspektroskopian tuloksia analysoidaan kuvaajasta, jossa tarkastellaan infrapunon absorptiota tiettyä aallonpituutta vasten. Näitä kuvaajia kutsutaan näyttemateriaalin absorptiospektreiksi (Figura ja Texeira 2010). Infrapunaspektroskopian yksi rajoite on se, että sitä voidaan käyttää vain materiaaleille, jotka sisältävät infrapuna-aktiivisia molekyyliä. Nämä ovat molekyyliä, jotka ovat kykeneviä absorboimaan infrapunasäteilyä (Figura ja Texeira 2010).

NIR-teknologialla pystytään tekemään sekä laadullisia että määrällisiä mittauksia. Useammalle parametrille kalibroitu laite (esimerkiksi väri ja kosteuspitoisuus) pystyy tuottamaan useamman mitattavan parametrin tulokset yhdellä mittauksella. NIR-teknologian etu verrattuna tavanomaisempiin mittauslaitteisiin, kuten kromatografeihin, on se, että näytteet eivät vaadi minkäänlaista esikäsittelyä. Mittaukset voivat olla at-, on- tai in-line-mittauksia. At-line tarkoittaa mittausta, jossa näyte poistetaan, eristetään ja analysoidaan prosessivirran läheisyydessä. In-line-mittauksessa näytettä ei poisteta prosessivirrasta (Pascoa ym. 2015). On-line-mittausprosessissa näytettä mitataan jatkuvaluonteisesti. NIR-teknologiaa pystytään hyödyntämään raakakahvin, paahdetun kahvin ja jauhetun kahvin mittauksissa (Páscoa ym. 2015). Kahvi on yhdistelmä monia orgaanisia molekyyliä, kuten kofeiinia, klorogeenihappoa, polysakkarideja, sakkaroosia, proteiineja ja lipidejä. Tämän takia jokaisen molekyylin vaikutusta on vaikea tunnistaa NIR-teknologialla varsinkin kahvissa, jossa on yli 800 yhdistettä yksikertaisista suoraviivaisista rakenteista aina monimutkaisempiin syklisiin ja heterosyklisiin rakenteisiin (Barbin ym. 2014). NIR-teknologian rajoitteisiin kuuluu ei-valikoivuus, tarve tarkoilte ja kattaville kalibraatioille,

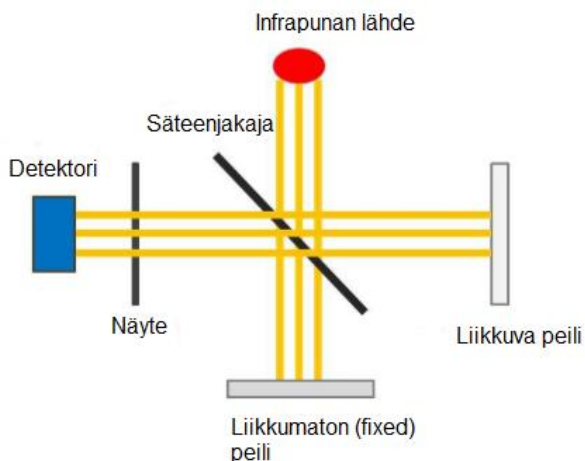
joissa on suuri määrä mittausdataa, sekä vaikeus siirtää kalibraatioita instrumentista toiseen (Pascoa ym. 2015).

Funktionaaliset ryhmät NIR-aallonpituuksilla ovat lähes yksinomaan vetysidoksia, kuten C-H, N-H, O-H ja S-H. Tämän takia NIR-teknologiaa käytetään orgaanisen materiaalin mittaamiseen, koska se on erittäin herkkä huomaamaan O-H-sidokset ja niiden muutokset. Suhteellisen matala veden absorptio NIR-alueella ja NIR-laitteen optiset ominaisuudet tekevät tästä menetelmästä hyvin sopivan analysoimaan näytteitä, joissa on paljon vettä (Alessandrini 2008).

### Muut infrapunasovellukset

FTIR-spektroskopia (engl. fourier transform infrared spectroscopy) on tehokas työkalu kemiallisten sidosten tunnistamiseen molekyyllissä (Wang 2012). Interferometri on yksi pääkomponenteista FTIR-spektrometrissä. FTIR-laite koostuu infrapunavalolähteestä, liikkumattomasta peilistä, liikkuvasta peilistä, säteenjakajasta ja detektorista, jotka on esitetty kuvassa 8. Periaate FTIR-spektroskopialle on se, että säteenjakaja jakaa valosäteen infrapunälähteestä ja lähettää puolet IR-säteilystä liikkumattomaan peiliin ja toisen puolikkaan liikkuvaan peiliin. Jakautuneet säteet yhdistyvät uudelleen muodostaakseen päällekkäisiä aallonsäteitä, jotka ovat vuorovaikutuksessa näytteen kanssa, mikä muodostaa infrapunaspektrin (Wang 2012).

FT-spektrometrit toimivat sisäänrakennetun Michelson-interferometrin avulla. Näytteen interferogrammista absorptiotaajuudet ja niihin liittyvät intensiteetit voidaan laskea Fourier transform -analyysillä (Figura ja Texeira 2010). FTIR-laitteiden etuna NIR-laitteisiin verrattuna on niiden parempi signaali-kohinasuhde ja parempi taajuuksien erotuskyky verrattuna dispersiivisiin laitteisiin. FTIR-spektrometrejä on käytetty esimerkiksi aistinvaraisten ominaisuuksien analyysihin kahvin tutkimisessa.



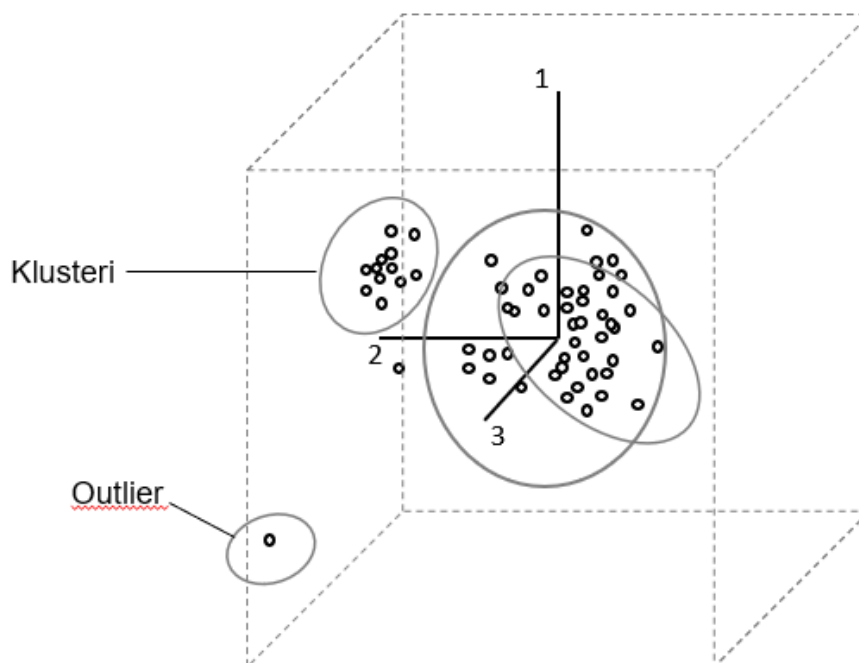
**Kuva 8.** FTIR-spektrometrin diagrammi (Wang 2012).

### 2.3.2 Kemometria sekä tilastolliset työkalut NIR-teknologiassa

Kemometriaa käytetään NIR-teknologian kanssa kalibraatioiden teossa sekä analysoinnissa. Kemometrialla tarkoitetaan matemaattisia ja tilastollisia menetelmiä, joita käytetään kemiassa hyödyksi. Kemometrisessä analyysissä on kolme pääkategoriaa Infometrixin (2010) mukaan: kartoittava data-analyysi, continuous property regression ja luokittelumalli. Kartoittavaa data-analyysiä (engl. exploratory data-analysis) käytetään usein paljastamaan piilossa olevia kuvioita monimutkaisessa datassa vähentämällä informaatiota, jotta data saadaan ymmärrettävämpään muotoon. Pääkomponenttianalyysi (engl. principal components analysis, PCA) on yksi esimerkkimenetelmä siitä. Continuous property -regressiota käytetään kehittämään kalibraatiomalleja, jotka korreloivat tietoa mittauksien sisällä. Osittainen pienimmän neliösumman regressio (engl. partial least squares regression, PLSR) ja pääkomponenttiregressio (engl. principal components regression, PCR) ovat kaksi kemometristä menetelmää, jotka on suunniteltu välttämään ongelmia datan ”hälyn” kanssa. Luokittelumallia (engl. classification model) hyödynnetään tilanteissa, joissa näytteiden tulee olla ennakkoon luokiteltu/jaoteltu kategorioihin tai luokkiin. Luokittelumallia käytetään näytteen luokkaan asettamiseen vertaamalla sitä aikaisemmin analysoituun aineistoon.

PLSR) sisältää muutaman edun verrattuna PCR:ään. PLSR vaatii vähemmän piileviä muuttujia kuin PCR ja on sen takia ”sääteliäämpi” (engl. parsimonious). Tämä tarkoittaa sitä, että data on helpommin luettavissa. Tämä ei kuitenkaan vaikuttanut analyysityökalun

ennustuskykyyn Wentzellin ja Montoton (2002) mukaan. PLSR käsittelee datan ei-linearisuuksia paremmin kuin PCR (Wentzell ja Montoto 2002).



**Kuva 9.** Pääkomponenttianalyysikuva. Kuvassa ympyröitynä näyteklusteri, outlier-näyte ja keskellä ympyröitynä päällekkäin olevat aineistot.

Pääkomponenttianalyysi, PCA, on yleisimmin käytetty menetelmä. Se vähentää datan moniulotteisuutta yksinkertaistamalla dataa kahteen tai kolmeen ulottuvuuteen (Wang 2012). Pääkomponenttianalyysikuvat ovat kolmiulotteisia, ja ne kuvaavat kolmea ensimmäistä pääkomponenttia. Ensimmäinen pääkomponentti kuvailee suurinta osaa variaatiosta, ja ensimmäiset kolme pääkomponenttia kuvaavat yleensä yli 80 % näytteiden variaatiosta (Nilsson 2018). PCA-kuvissa yksittäinen piste edustaa yhtä näytettä. Lähempänä kuvan alkupisteitä ovat keskimääräiset näytteet. Keskiarvosta poikkeavat näytteet ovat kuvassa kauempana (Nilsson 2018). PCA:n tavoite on visualisoida datan rakenne helpompaan muotoon. PCA-malli on rakennettu neljästä osasta: data, kuvaajat, lataukset (engl. loadings) ja jäännökset (Bro ja Smilde 2014). Jäännöksillä on sama rakenne kuin spektridatalla, ja ne voivat täten antaa tärkeää kemiallista informaatiota spektrin variaatioista, joita ei ole vielä selitetty. Nilssonin (2018) mukaan jäännökset ovat se osa datasta, jota malli ei selitä. PCA-kuvia voidaan piirtää scatter-kuvioina. Näin voidaan usein nähdä helposti erilaisia dataryhmittymiä.

PCA-kuvia analysoidaan hyödyntämällä laskettuja GH- ja NH-arvoja (Global H ja Neighbourhood H). H-arvoja voidaan hyödyntää populaatiosta poikkeavien näytteiden tunnistamisessa. Näitä näytteitä kutsutaan outlier-näytteiksi. Nilssonin (2018) mukaan GH-arvo lasketaan näytteestä mittaamalla näytteen etäisyyttä mallin keskiarvoa vastaan. Tätä etäisyyttä kutsutaan Mahalanobiksen etäisyydeksi, ja sen arvon rajaksi on määritetty arvo 3, sillä se sisältää 99 % näytteiden variaatiosta. Mahalanobiksen etäisyyttä käytetään määrittämään näytteiden rajat ja tunnistamaan samankaltaisuudet spektridatassa (Scholz ym. 2014). Mitä suurempi GH-arvo on, sitä erilaisempi on näyte kokonaispopulaatiosta. NH-arvo kuvaa spektrin etäisyyttä sitä läheisimpänä olevaan spektriin hyvässä aineistossa, ja sen raja-arvoksi on määritetty arvo 0,6. Tätä kutsutaan nimellä Mahalanobiksen naapurietäisyys (engl. Mahalanobis neighbourhood distance). Pääkomponentit ovat empiirisiä funktioita, jotka vaihtelevat aineistoryhmien perusteella.

### Tilastolliset menetelmät

Kalibroinnin toimivuutta arvioidaan termeillä SEC (1) (engl. standard error of calibration), SECV (2) (engl. Standard error of cross-validation) ja SEP(C) (3) (engl. bias corrected standard error of prediction) -termeillä. Termit kuvaavat virhettä ennustetuissa arvoissa. SEP lasketaan arvioimaan kalibraation ennustearvoa. Nilsson (2018) on esittänyt kirjallisuudessa kalibraatiolle oleelliset yhtälöt.

$$SEC = \sqrt{\frac{1}{N-terms-1} \sum_{i=1}^N (x_{i,ref} - x_{i,pred})^2} \quad (1)$$

$$SECV = \sqrt{\sum_{i=1}^N (x_{i,ref} - x_{i,pred})^2} \quad (2)$$

$$SEP(C) = \sqrt{\frac{1}{N-1} \sum_{i=1}^N (x_{i,ref} - x_{i,pred} - bias)^2} \quad (3)$$

Kalibraatiomallien validointia voidaan tehdä usealla eri tavalla. SECV kertoo ristivalidoinnin keskivirheestä.

Ristivalidoinnissa kaikki aineiston näytteet käytetään mallin rakentamiseen. Baetenin ym. (2015) mukaan kalibraation toimivuutta arvioidaan ilman ulkoisia validointinäytteitä ristivalidoinnin avulla. Koska tämä vaatii referenssidataa referenssimenetelmästä, mallin kykyä ennustaa oikein tuloksia mitataan ennustevirheen avulla. Tätä arvioidaan keskivirheistä ristivalidoinnissa (engl. RMSECV). RMSECV perustuu kalibraatiodataan, ja se lasketaan referenssiarvon erosta siihen kohdistuvaan ennustettuun arvoon, joka jaetaan näytteiden määrällä. RMSECV:iä voidaan kutsua RMSEP:n (Root Mean Square Error Prediction) arvioksi, sillä ainoa ero on, miten näytteet valitaan validaatioon. RMSEP:llä tarkoitetaan keskivirhettä, jota mm. Baeten ym. (2015) käytti hyväksi tutkimuksessa. Se on arvio variaatiosta referenssien ja ennustettujen arvojen erillisellä aineistolla

Nilsson (2018) kuvailee kirjallisuudessa, että referenssien outlier-näytteitä eli poikkeavuuksia etsitään ristivalidoinnilla. Sillä tutkitaan myös uuden datan laatua. Esimerkkivirheitä referenssitulosten outlier-näytteissä ovat kirjoitusvirheet desimaaleissa, näytteen ei-sopivuus populaatioon ja mittaus/käsittelyvirheet.

#### ANN-verkostot NIR-spektroskopiassa

ANN-verkostot (engl. artificial neural network) ovat ottaneet inspiraatiota elävien organismien neuroverkostoista. Kahta erityyppistä ANN:ää on käytetty NIR-spektroskopian sovelluksiin. Nämä ovat Feed forward -neuroverkosto ja Kohonen self-organizing map -neuraaliverkko (Williams ja Norris 1987).

Feed forward -neuroverkkoa ja Kohonen self-organizing map:ia voidaan käyttää kalibraatioiden luomiseen NIR-reflektanssi/transmittanssisovelluksiin, jotka vaativat korkeaa tarkkuutta, sekä luokittelutarkoituksiin. Niitä voidaan käyttää vaihtoehtoisesti PLSR:n tai PCR:n sijaan. Kohonen self-organizing map perustuu ohjaamattomaan oppimiseen ja koostuu kaksiulotteisesta ristikosta neuroneita.

Neuroverkkojen etuihin kuuluu niiden joustavuus ja kyky mallintaa melkein mitä vain ei-lineaarista suhdetta. Esimerkiksi vilja-analyyseissä ANN:ää voidaan Williamsin ja Norrisin (1987) mukaan käyttää NIR-kalibraatioon, jos halutaan sen sisällyttävän vuosittaiset ja alueelliset vaihtelut. Lineaaristen menetelmien, kuten PLS:n ja PCR:n kanssa on usein tarpeellista jakaa laaja kalibraatio useampiin lineaarisiin malleihin, jotka on koottu yhteen. Jokainen näistä malleista on siten kykenevä ennakoimaan arvoja vain tietyllä pitoisuusalueella.

Neuroverkkojen heikkouksiin kuuluu kokemuksen tarvitseminen, kun valitaan sopiva rakenne annetulle kalibraatiolle tai luokitteluongelmalle. Lisäksi NIR-spektroskopiassa tarvittavien sisääntuloneuronien määrä voi olla useita satoja, jolloin kehitysprosessi voi muuttua hyvin pitkäksi (Norris ja Williams 1987).

### 2.3.3 Kalibraation teko

NIR-laitteen kalibraatio saadaan aikaan mittaamalla suuri määrä spektrinäytteitä, jotka on analysoitu referenssimenetelmällä. Tämän jälkeen näytteiden spektrejä verrataan toisiinsa. Tähän käytetään apuna matemaattisia algoritmejä (Figura ja Texeira 2010).

Spektrejä esikäsittellään usein poistamalla selkeästi nähtävä häly (engl. noise) spektridatasta. Myös outlier-näytteet voidaan poistaa esikäsittelyllä. Outlier-näytteiden poisto parantaa kalibraation suorituskykyä useimmissa tapauksissa. Tämä voi kuitenkin joissain tapauksissa heikentää kalibraatiomallin monipuolisuutta, jolloin ennustekyky heikkenee. Tämän takia outlier-näytteiden poistamisen tulisi aina johtua hyvästä syystä, esimerkiksi kun niiden alkuperää tai poikkeavan käyttäytymisen syytä ei tiedetä (Porep ym. 2015). Fysikaalisten tekijöiden, kuten partikkelikoon ja lämpötilan, vaikutusta pyritään myös vähentämään, sillä niillä on Nilssonin (2018) mukaan vaikutusta mittaustulokseen. Spektridatassa voidaan hyödyntää kalibrintiohjelmiston käyttämiä matemaattisia muunnoksia: derivative, gap, smooth ja gap 2. Scholz ym. (2014) kuvasivat tutkimuksessaan näitä numeroarvoja. Ensimmäinen numero kertoo derivatiivin järjestyksen. Toinen numero on väli (nanometreinä), jolla derivatiivi lasketaan. Kolmas numero on nanometriä, jota käytetään ensimmäisessä tasoituksessa. Viimeinen numero kertoo nanometriä määräästä toisessa tasoituksessa (engl. gap 2). Matemaattisen käsittelyn tavoitteena on eliminoida pohjaviivan siirtymiä (engl. baseline shift) ja piikkien päällekkäisyyksiä (engl. peak overlap).

Yleisesti Nilsson (2018) neuvoo, että noin 100 näytettä on yleensä minimi, jotta voidaan saada hyvä malli. Kalibraation vahvuutta lisää se, että siihen sisällytetään mahdollisimman paljon vaihtelua näytteiden välillä. Kahvin kaltaisella elintarvikkeella satokausien välistä eroa on hyvä saada mitattua. Muita vaihteluja näytteissä ovat mahdolliset maantieteelliset vaihtelut ja lajikkeet. Kalibraation teko on kuitenkin jatkuvaluontoinen prosessi. Varsinkin luontaista vaihtelua sisältävässä materiaalissa kuten kahvissa on tärkeää, että kalibraatiota ja spektrikirjastoa päivitetään säännöllisesti. NIR-spektrit sisältävät fysikaalista ja kemiallista

informaatiota. Fysikaalinen informaatio on usein ei-haluttua ja se voidaan poistaa spektrien matemaattisella käsittelyllä. SNV-muunnos (engl. Standard normal variate) skaalaa kaikki spektrit, jolloin niiden keskihajonta on sama. Tämä vähentää partikkelikoon vaikutusta spektreissä.

## 2.4 Kahvin tutkiminen NIR-teknologialla

NIR-teknologiaa on hyödynnetty kahviteollisuudessa. Kahvin luontainen satokausien ero tekee tutkimisesta haastavaa (Santos ym. 2016). Haastavuutta lisää kahvin korkea kemiallisten yhdisteiden määrä. Suurin osa tieteellisistä julkaisuista käsittelee NIR-teknologiaa laadunvarmistuksessa, joka sisältää raakojen materiaalien sekä väli- ja lopputuotteiden tunnistamista (Grassi ja Alamprese 2018).

NIR-teknologian pääkäyttö on ollut arabica- ja robusta-lajikkeiden erottelu. Bertone ym. (2016) tutkivat paahdon astetta ja arabica-robusta-suhdetta sekä paahdetussa että jauhetussa kahvissa. Koska arabica-kahvi saa 20–25 % suuremman hinnan markkinoilla, on taloudellisia syitä vaatia kahvin alkuperän autenttisuutta, varsinkin kahvisekoituksissa, joissa on usein arabica-kahvia eri määriä. Bertonen ym. (2016) tutkimuksessa kalibraation selitysasteeksi saatiin värille  $R^2 = 0,87$ . Arabicapitoisuuden selitysasteeksi saatiin  $R^2 = 0,97$ . Tutkimuksen tulokset osoittivat, että samoja menetelmiä voidaan hyödyntää tulevaisuudessa paahtoasteen ja kahvisekoituksen koostumuksen monitoroimiseen. Myös Pasqua ym. (2015) tutkivat NIR-teknologian hyötykäyttöä kahvinjakelijoille nopeana, helppona ja edullisena diagnostiikkamenetelmänä kahvin aitouden tutkimisessa. Tutkimuksessa käytettiin neljää esimerkkiä. Tutkimusmateriaali sisälsi raakakahvinäytteitä ja paahdettuja kahvinäytteitä sekä käytettyjä kahvinäytteitä (kahvinpuruja), jotta voitiin osoittaa, että NIR-teknologiaa pystytään hyödyntämään kaikissa kahvin analyyseissa. Raakakahvien laatua arvioitiin viiallisten ja ei-viiallisten papujen määrällä näytteessä, ja lisäksi papujen maantieteellinen alkuperä saatiin selville. Santos ym. (2012) tutkivat maantieteellisesti eri sijainneista peräisin olevia arabica- ja robusta-näytteitä. Selitysaste  $R^2$  vaihteli tutkimuksen näytteissä välillä 0,5–0,8 ja suhteelliset virheet välillä 3–5 %. Robusta-näytteiden selitysaste oli korkeampi ja suhteellinen virhe matalampi, jolloin niiden analysointi onnistui arabica-näytteiden analysointia paremmin.

Eri kahvilajikkeiden erottelun lisäksi NIR-teknologiaa on hyödynnetty hyvien ja huonolaatuisten papujen erottelussa. Craig ym. (2018) tutkivat paahdetussa kahvissa

viallisten papujen osuutta prosentteina jauhetussa kahvissa. Viallisissa pavuissa virhemakua ilmenee happamissa, raaissa ja mustissa pavuissa. Tuloksiksi saatiin  $R^2 = 0,84-0,95$ . RMSEP-arvoiksi saatiin 0,026–0,055.

Lommin (2018) tutkimuksessa tutkittiin NIR-teknologian hyödyntämistä kahvin laadunvarmistuksessa ja kehitettiin kalibraatiot raakakahville ja paahdetulle kahville. Kalibraatioita hyödynnettiin värin, kosteuden ja raakakahvin sakkaroosin määrittämiseen. NIR-teknologiaa on myös hyödynnetty kahvin laadunvarmistusta mallintavissa tutkimuksissa, joissa näytteisiin on sekoitettu vierasesineitä, esimerkiksi maissia. Tällöin tutkimuksen kohteena on ollut näiden virhenäytteiden erottelu. Brasilialaisesta kahvista onnistuttiin erottamaan Correian ym. (2018) tutkimuksessa poikkeavat materiaalit minimimäärissä mikro-NIR-laitteella todistaen menetelmän hyödyn laadunvarmistuksessa. Mikro-NIR on pienempi, suppeammalta aallonpituusväliltä mittaava laite, joka käyttää samaa teknologiaa kuin tavallinen NIR-laite.

NIR-teknologian on myös huomattu olevan hyvä vastike high-performance nestekromatografille varsinkin kofeiinin ja theobromidin mittaauksessa (Páscoa ym. 2015) Zhang ym. (2013) tutkivat kofeiinipitoisuutta paahdetussa, jauhetussa arabica-kahvissa. Eri paahtoasteen kahvinäytteitä analysoitiin NIR-laitteella. Kalibraatiot kehitettiin kemometrinen analyysien ja spektridatan perusteella. Tutkimuksessa selitysasteeksi saatiin  $R^2 = 0,918$  ja RMSECV = 0,375 (mg/g).

Downey ym. (1997) tutkivat erottelukykyä ja lajikkeiden tunnistamista puhtaan arabica- ja robusta-raakakahvinäytteiden välillä. Tämän lisäksi he tutkivat paahdettuja papuja sekä jauhettuja kahvisekoituksia. Erottelu saatiin aikaiseksi pääkomponenttianalyysillä (PCA). Tutkimuksessa huomattiin myös mahdollinen NIR- ja MIR-spektroskopisten mallien yhdistelmä luotettavuuden kasvattamiseksi.

Paahdon astetta on pystytty analysoimaan tuntemattomissa näytteissä Alessandrinin ym. (2008) tutkimana. Lisäksi paahdon vaikutusta kahvin hapokkuuteen on tutkittu Santosin ym. (2016) toimesta. Heidän tutkimuksessaan saatiin luotettava malli arvioimaan kahvin hapokkuutta koko paahtoprosessin ajan.

Sakkaroosipitoisuutta ja väriä tutkittiin NIR-spektroskopiolla paahdon aikana. Tutkimuksessa onnistuttiin tunnistamaan eri ajan paahdossa olleet näytteet ja niiden eroavaisuudet. Tämän avulla kahvin paahtoprosessi voitiin lopettaa juuri sillä hetkellä, kun sakkaroosin ja värin arvot olivat tuotteelle sopivat (Santos ym. 2016). Samassa tutkimuksessa hyödynnettiin in-line -värimonitorointia CIE  $L^*a^*b^*$ -väriparametreilla.

Hiilihydraattien määrittelykselle on erilaisia menetelmiä, kuten Somogyi-Nelson- tai Munson-Walker-metodologiat. On tärkeää kehittää analyttisiä työkaluja monitoroimaan sakkaroosipitoisuutta kahvin paahdon aikana. NIR-teknologiaa pystyttiin hyödyntämään tämänkaltaisessa tilanteessa Santoksen ym. (2016) tutkimuksessa, jossa tutkittiin kahvin paahdon suhdetta väriin. Tutkimuksessa osoittautui myös, että  $L^*$ -arvon ja sakkaroosipitoisuuden korrelaation avulla voitiin ohjata paahdon kestoa. Tulokset saatiin reflektanssi-NIR:llä.

NIR-teknologialle kehitetään online-sovelluksia, joiden tarkoituksena on mitata jotain tiettyä ominaisuutta jatkuvalla syötöllä niin, että pienetkin erot voidaan huomata. Davrieux ym. (2008) tekivät omassa tutkimuksessaan kosteusominaisuuksille kalibraation, jota pystyttiin käyttämään paahtoprosessin lopussa kontrolloimaan papujen kosteusarvoa hyvällä tarkkuudella. Tämänkaltaisen on-line -laite mahdollistaa veden lisäämisen tarkkailun paahdon lopussa sekä parantaa laaduntarkkailua ajan myötä.

Fysikaalisia ominaisuuksia on tutkittu huomattavasti vähemmän NIR-teknologian avulla. Bustos-Vanegaksen ym. (2018) tutkimus käsitteli ennakoivien mallien kehittämistä kahvipavuille paahdon aikana. Tilavuutta, pinta-alaa ja tiheyttä arvioitiin joka 20. sekunti ja empiiriset mallit sovitettiin esittämään fysikaalisia ominaisuuksia kosteusarvon funktiona. Koska paahdossa vapautuu vesihöyryä, on tiheys paahdetussa kahvipavussa yhteydessä menetettyyn massaan. Bustos-Vanegasin ym. (2018) tutkimuksessa saatiin kaksi parametriä yhdistettyä tiheyden määrittämiseen selitysasteella  $R^2=0,97$ .

Alessandrini (2008) raportoi, että viime vuosina NIR-teknologian on huomattu olevan lupaava vaihtoehtoismittaustapa erilaisille fysikaalis-kemiallisille ja aistinvaraisille ominaisuuksille. Lueteltuja esimerkkejä ovat muun muassa kuiva-ainepitoisuus, rasvapitoisuus ja kokonaistyyppipitoisuus sekä aistittavat ominaisuudet kuten ”hajoavuus”, ”kiinteys”, ”kumimaisuus” ja ”kosteus”. Fysikaalisten ominaisuuksien kuten tiheyden tutkimista teki Alessandrini ym. (2008), joka tutki painonmenetystä, tiheyttä ja kosteusarvoa yhteydessä paahdoasteeseen. PLS-regressiomallit rakennettiin kahvin spektridatan pohjalta eri paahtopiirteiden mallintamisen mahdollistamiseksi. Tiheys, kosteusarvo ja painonmenetys valittiin tutkimukseen, koska ne kuvaavat fysikaalis-kemiallisia muutoksia kahvissa paahdon aikana. Tutkimuksessa onnistuttiin mallintamaan

nämä ominaisuudet yhdistettynä paahdon asteeseen. Paahdon asteet ennustettiin tarkasti, mikä johti korkeaan korrelaatioon mitattujen ja ennustettujen arvojen välillä.

Ribeiro ym. (2011) tutkivat kahvinäytteiden hapokkuutta, flavoria, karvautta, runsautta (engl. body) ja muita aistinvaraisia ominaisuuksia. Myös Esteban-Díez ym. (2004) tutkivat kahvin aistinvaraisia ominaisuuksia. Espresso-kahvista tutkittiin havaittua hapokkuutta, suutuntumaa, kitkeryyttä ja jälkimakua. NIR-reflektanssimenetelmällä tehtyjä mittauksia käytettiin ennustamaan kaikkia aistinvaraisia ominaisuuksia laadunvarmistuksen näkökulmasta. Erilliset kalibraatiot tehtiin jokaiselle ominaisuudelle PLS-regression avulla, mikä korreloi NIR-spektridatan kanssa. Tulokset saatiin korkealla tarkkuudella, missä RMSECV vaihteli välillä 4,7–7,0 %. Tutkimuksen tuloksilla osoitettiin vastaavanlaisen metodologian hyötykäyttö in-line- tai on-line-rutiinikäytössä ennustamaan tuntemattomien espressonäytteiden laatua.

Maistokokeiden aistinvaraiset tulokset on onnistuttu korreloimaan eri tarkkuuksilla NIR-datan kanssa tutkimuksissa. Espresso-kahvin havaittu hapokkuus, suutuntuma, kitkeryys ja jälkimaku ennustettiin hyödyntämällä PLS:ää, jolloin PLS korreloi paahdetun kahvin spektridatan aistinvaraisten ominaisuuksien kanssa.

### 3 KOKEELLINEN OSUUS

#### 3.1 Materiaalit ja menetelmät

Tässä tutkimuksessa kalibraatiot kehitettiin paahdetun ja jauhetun kahvin värille, kosteuspitoisuudelle ja tiheydelle. Värin ja kosteuspitoisuuden kalibraatiot tehtiin Lommin (2018) tutkimuksessa tekemän kalibraation pohjalle, josta kalibraation vahvuutta lähdettiin parantamaan tekemällä lisää referenssimittauksia. Lommin tekemässä kalibraatiossa oli paahdetulle jauhetulle kahville mittauksia yhteensä 136. Mittaukset ja niiden spektridata olivat yksittäisiä mittauksia, joista ei ollut tehty rinnakkaisia määrittäyksiä. Tavoitteena oli parantaa kalibraation luotettavuutta tekemällä lisää referenssimittauksia varsinkin tummista paahtonäytteistä, joita ei ollut kalibraatiossa montaa. Näytteitä mitattiin mahdollisimman kattavasti värialueelta 12,5–22,6 (L\*). Kosteuspitoisuusmittauksia pyrittiin mittaamaan mahdollisimman kattavasti kosteuspitoisuusalueella 2,5–4,3 %.

##### 3.1.1 Näytteet

Kaikki näytteet kalibraation teossa saatiin paahtimon tuotannosta paahto- tai pakkausprosessin jälkeen. Kaikki näytteet edustivat tiettyä tuotetta, jolloin näytteiden eroja olivat tuotekohtaiset reseptivaihtelut (eri määrä arabica-kahvia ja robustakahvia), paahtoaste, paahtolämpötila ja paahtoaste. Näytteet edustivat paahtoasteita 1–5, missä 1 edustaa vaaleinta paahtoastetta ja 5 tummina paahtoastetta. Jauhatusasteet vaihtelivat hienoista jauhatuksista karkeaan pannujauhatukseen. Kaikki näytteet mitattiin referenssimenetelmällä laboratorio-olosuhteissa, huoneenlämpötilassa, erillisessä eristetyssä mittaushuoneessa. Tutkimuksessa käytetyt laitteet on esitelty taulukossa 2.

**Taulukko 2.** Tutkimuksessa käytetyt laitteet

| Laite        | Valmistaja, malli                      |
|--------------|--|
| Värimittari  | HunterLab D25LT, Reston, VA, USA       |
| Lämpökaappi  | Termaks TS 8056, Bergen, Norja         |
| NIR-laite    | FOSS NIRS DS2500, Tanska               |
| Eksikaattori | Akryylinen, kuivausaineena silikageeli |

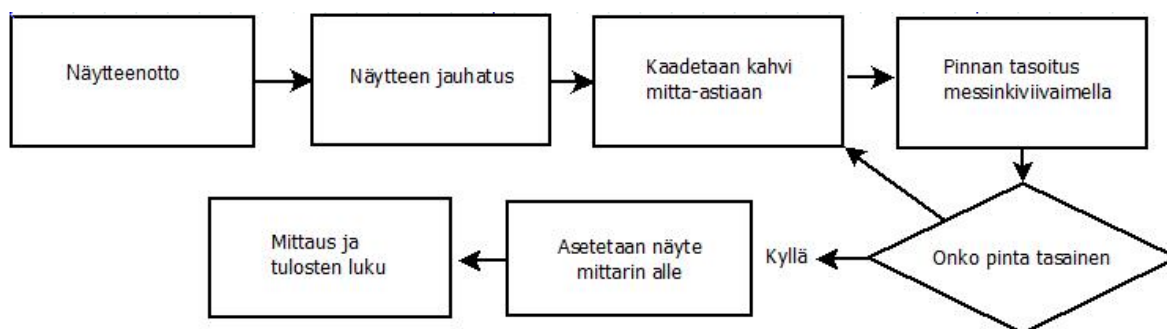
### 3.1.2 Värikalibraation teko ja referenssimenetelmä

Värikalibraation näytteet saatiin tuotannon laadunvarmistukselta, ja ne sisälsivät pakattuja tuotteita sekä paahtonäytteitä paahtajilta. Näytteitä mitattiin aikavälillä 20.7.–5.11.2018.

Referenssimenetelmässä käytettynä värimittarina toimi Hunterlab D25LT (Reston VA, USA). Laitteen käyttö tapahtuu kosketusnäyttöisellä LCD-näytöllä, johon tulokset saadaan  $L^*a^*b^*$ -asteikolla. Laitteen valonlähteenä toimii jatkuvatoiminen tungsten-halogenilamppu, jolla simuloidaan päivänvaloa

Väriin mittaus (kuva 10) tapahtui mittausastian tasoitetulta materiaaalipinnalta. Materiaalipinta tasoitettiin messinkiviivaimella, ja tavoitteena oli saada materiaalin pinta tasaiseksi yhdellä vedolla. Messinkiviivaimen ylimääräiset vedot vaikuttavat kahvipartikkelien paikkaan pinnassa ja täten ne voivat antaa virheellisiä mittausarvoja. Tämän takia tulokset ovat hyvin riippuvaisia siitä, miten mittaja tasoittaa materiaalin pinnan. Karkeampien ja hyvin hienojen jauhatuksien kanssa rinnakkaismittaustulosten erot ovat yleensä suurempia, sillä pinnasta on haastavaa saada tasainen vaihtelevan partikkelikoon takia.

Värikalibraation tekemisessä näytteet mitattiin sekä Hunterlabin mittarilla että NIR-laitteella. Referenssimittauksen tulokset merkittiin NIR-laitteen mittausohjelmistoon. Kun mittauksia oli tyydyttävä määrä, siirrettiin mittausdata tietokoneen avulla mittausohjelmaan ja tehtiin niiden perusteella kalibraatio winISI-ohjelmalla.



**Kuva 10.** Hunterlab-värimittarin vuokaavio Tuomisen (2014) mukaan.

### 3.1.3 Kosteuspitoisuuskalibraation teko ja referenssimenetelmä

Kosteuspitoisuusmittauksien referenssimetodina toimi kuiva-ainepitoisuuden mittaaminen uunissa kuivatuista näytteistä. Menetelmä on aikaa vievä, eikä sitä voi käyttää tämän takia rutiinilaadunvarmistuksessa, mutta kalibraation teossa sillä saa tarkat referenssiarvot. Näytettä punnitaan viisi grammaa, joka laitetaan alumiinisiin folioastioihin. Folioastiat punnittiin. Näytteitä kuivattiin lämpökaapissa 104 °C:ssa neljä tuntia ja jäähdytettiin eksikkaattorissa puoli tuntia. Kuivausaineena käytettiin silikageelirakeita. Tämän jälkeen näytteet punnittiin välittömästi, josta saadaan kosteuspitoisuus yhtälöllä (4),

$$x = \frac{(a-b)}{a} \cdot 100 \quad (4)$$

missä a = näytteen massa ennen kuivausta ja b = näytteen massa kuivauksen jälkeen.

Kosteuspitoisuusmittauksissa tehtiin kaksi rinnakkaismäärittystä. Mittauksien tulokset merkittiin kahden desimaalin tarkkuudella.

### 3.1.4 Tiheyskalibraatio ja referenssimenetelmä

Iskutilavuuden mittaamisen referenssilaitteena toimi JEL STAV 2003 stampfvolumeter -iskutilavuusmittari. Prosessissa siihen asetetaan 70 g näytettä 250 ml:n mittalasiin. Mittari tasoittaa 201 iskulla kahvin pinnan, jolloin mittalasin numeroasteikolta voidaan lukea mihin kahvin pinta tasoittui. Tämä menetelmä antaa hyvän kuvan kahvin tiheydestä, kun se pakataan 500 gramman vakuumpakkaukseen tuotannossa.

Tiheysmuuttujaa tutkittaessa haluttiin välttää mahdolliset virheet. NIR-mittauksissa käytettiin siis myös tarkasti mitattua samaa 70 g:n näytettä, joka oli mitattu referenssimenetelmällä. Tuotteiden lämpötiloja kirjattiin aluksi myös, sillä poikkeava lämpötila voi vaikuttaa negatiivisesti mittausvarmuuteen. Tiheyskalibraation mittaukset tehtiin aikavälillä 1.–29.3.2019. Kalibraatio kehitettiin ja arvioitiin aikavälillä 29.–30.3.2019.

### 3.1.5 Väri-jauhatustutkimuksen koeasetelma

Ennen väri-jauhatustutkimuksen aloittamista piti kehittää luotettava kalibraatio värin mittaamiselle, jotta tuloksia voitiin pitää luotettavina. Väritutkimusta varten valittiin 99 kpl näytteitä mahdollisimman kattavalla väriskaalalla. Näytteet jaoteltiin kolmeen luokkaan: vaaleapaahtoiset, tummat ja keskipaahtoiset. Näistä 33 kpl oli vaaleita (20–22 L\*), 33 kpl keskipaahtoisia (16–19 L\*) ja 33 kpl tummia (12–15 L\*). Vaaleapaahtoisiin näytteisiin kuului neljää erilaista tuotetta. Keskipaahtoisiin näytteisiin kuului viittä erilaista tuotetta. Tummapaahtoisiin näytteisiin kuului seitsemää eri tuotetta. Eri tuotteita tutkimuksessa oli yhteensä 16.

Näytteet valmistettiin kahdella jauhatuksella. Tutkimukseen käytetyssä myllyssä on 12 erilaista jauhatusasetusta. Paahtonäytteet jauhetaan normaalisti asetuksella 3. Tutkimuksessa haluttiin verrata tätä jauhatusta hienompaan jauhatukseen, joten toiseksi jauhatustavaksi valittiin asetus 1.

Paahtonäytteet saatiin suoraan paahtoprosessin jälkeen ja mittaukset tehtiin samana päivänä. Näytteet mitattiin ensin referenssimetodilla, jossa samalle näytteelle tehtiin kolme rinnakkaismittausta. Joka mittauksen jälkeen näyte kaadettiin takaisin näytteenottoastiaan ja tasoitettiin näytteenmittausastialle uudestaan. Näin varmistettiin, että rinnakkaisnäytteet eivät olleet täysin samasta kohdasta mitattu.

Referenssimittauksien jälkeen paahtonäytteet analysoitiin NIR-laitteella. Mittaukset tehtiin samalla periaatteella: mittauksen jälkeen näyte kaadettiin takaisin ja sekoitettiin. Väritutkimuksen mittausdata kerättiin ja mitattiin aikavälillä 14.12.2018–8.2.2019.

### 3.1.6 NIR-laitteen käyttö ja ohjelmisto sekä spektridatan analysointi

Tässä tutkimuksessa kahvin mittaamiseen on käytetty reflektanssi-NIR-tekniikkaa ja dispersiivistä NIR-laitetta. Aallonpituuden mittausväli NIR-laitteella oli 400–2500 nm, jossa absorptio saatiin 0,5 nm:n välein. Tutkimuksessa käytettävä NIR-laite käytti hyödyksi kolmea ohjelmaa: WinISI, ISIscan ja Mosaic solo.

Spektridata saatiin näytteistä, joissa esikäsittelynä oli pelkästään papujen jauhaminen. Näytettä pyrittiin silmämääräisesti mittaamaan aina samankaltainen määrä värikalibraation

teossa. Tiheyskalibraation ja kosteuspitoisuuskalibraation teossa punnittiin aina sama määrä näytettä mittaukseen.

Ennen NIR-laitteen käyttöä tehtiin halutulle näytteelle referenssimittaukset. NIR-laitteen mittaukset tehtiin laitteen omalla mittausohjelmalla, joka oli yhdistetty tietokoneeseen. Isiscan-ohjelmalla tehtiin näytteiden mittaus, spektridatan kerääminen, datan siirto sekä alustava datan analysointi. Laitteen toiminnasta pidettiin huolta Isiscan-ohjelman päivittäisillä diagnostiikan suorituskykytesteillä. Tämän lisäksi laitteen toimivuutta testattiin päivittäin laitevalmistajan (FOSS) kvartsia sisältävällä DS2500-tarkistusnäytteellä. Tarkistusnäyte mittasi matemaattista etäisyyttä laitteen omista referenssiarvoista ja ilmoitti, jos tulokset olivat poikkeavia Global-arvoista (GH) tai Neighbourhood-arvoista (NH). Poikkeavissa arvoissa laite vaati sisäisen kalibraation päivittämistä. Tällöin laite kalibroitiin käyttämällä laitteen sisäisiä aallonpituuden asetuksia ja ERC-kalibrointinäytettä.

Laitteelle tehtyjä kalibraatioita ja mitattua dataa pystyttiin hallitsemaan Mosaic Solo -ohjelmalla. Mosaic Solo -ohjelmalla tuotiin NIR-mittaukset siirrettävään muotoon ja yksittäisten mittausten tuloksia pystyttiin tarkastelemaan jälkepäin surveillance-välilehdeltä. Mosaic Solo -ohjelmalla laitteelle pystytään tekemään tuotekohtaisesti eri mittausohjelmia, joihin halutut parametrit ja kalibraatiot voidaan yhdistää. Tässä tutkimuksessa laitteelle kehitettiin mittausohjelmaksi ”Paahdettu jauhettu kahvi” ja parametreiksi asetettiin väri ja kosteuspitoisuus.

Spektridata siirrettiin kalibraation tekoa varten WinISI-ohjelmalle. Dataa tarkasteltiin aluksi silmämääräisesti ja tarkastettiin spektrit, ettei sieltä löydy ylimääräistä hälyä (engl. noise), joka näkyisi poikkeavina piikkeinä datassa. Ennen kalibraation tekoa data muokattiin matemaattisilla käsittelyillä muotoon 1, 4, 4, 1 (Derivative 1, Gap 4, Smooth 4, Smooth2 1).

Kalibrointia varten WinISI:lla valittiin aallonpituusväleiksi 408–1092 nm ja 1100–2498 nm. Välillä 408–1092 mittausväleiksi määriteltiin 8 nm ja välillä 1100–2498 väleiksi määriteltiin 2 nm. Tämä tehtiin laitevalmistaja FOSSin suositusten mukaisesti.

Kalibraation toimivuutta arvioitiin termeillä SEP(C), systemaattisella virheellä (engl. bias) ja regressiosuoran kulmakertoimella (engl. slope). Kalibrointinäytteiden ristivalidoinnin avulla tarkistettiin myös SECV sekä selitysaste  $R^2$ . Kalibraatioiden outliereita sekä mittausten yhteneväisyyttä tutkittiin scatter plot -toiminnolla, jossa kalibraation ennustettuja arvoja verrattiin kalibraation sisältämiin referenssimittauksiin.

Laitteen kalibraatiot kosteuspitoisuudelle, värille ja tiheydelle tehtiin winISI-ohjelmalla, joka käsittelee kaikkien mittauksien spektridataa, näytteiden arvoja ja hyödyntää matemaattisia kaavoja, joilla se tekee kaikista näytteistä yhteisen kalibraation. WinISIIllä pystyttiin myös tekemään ja analysoimaan PCA-kuvia.

WinISI-sovelluksella pystytään suoraan tuomaan spektrit ja monitoritiedostot ISIScan:sta. WinISI pystyy hyödyntämään LOCAL-kalibraatiomallia, joka käyttää näytetietokantaa näytespesifisille ennusteille. LOCAL-kalibraatiot ovat tarkkoja verrattuna global-kalibraatioon (Foss 2005) mutta vaativat suuren määrän näytteitä ja niissä voi esiintyä epätarkkuuta samaa kalibraatiota hyödynnettäessä eri laitteilla (Nilsson 2018). Tässä tutkimuksessa kalibraatio tehtiin Global-mallilla, sillä se pohjautuu Lommin (2018) aikaisemmin kehittämään kalibraatioon. Global-malli tekee ennustemallin lineaariseksi. Ennustemalli tehtiin PLS-regressiometodilla (osittainen pienimmän neliösumman regressio, engl. partial least squares), ja se on arvioitu ristivalidoinnilla. Kalibraatiot on kehitetty toimimaan 10–30 °C:n lämpötilassa.

### **3.1.7 Tilastolliset menetelmät**

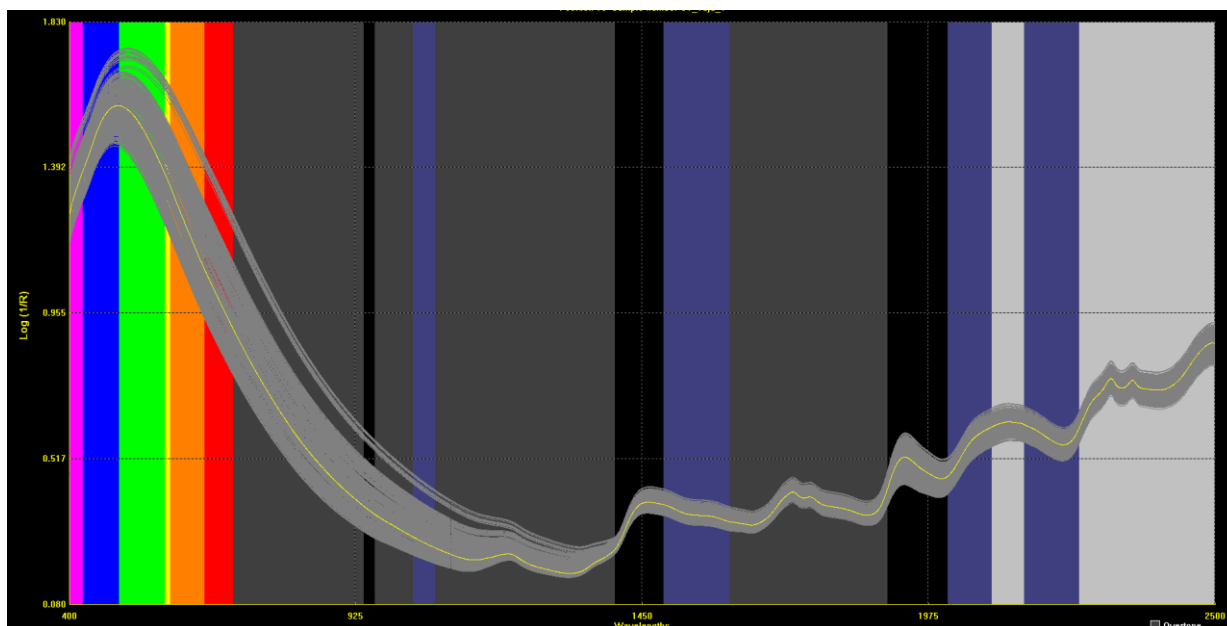
Tuloksia arvioitiin tilastollisilla menetelmillä IBM SPSS statistics -ohjelmalla. Tilastollisia menetelmiä käytettiin, kun tutkittiin jauhatuksen vaikutusta värituloksiin. Mittausdatalle tehtiin normaalisuuden analysointi, varianssianalyysi, parittaiset vertailutestit, t-testit ja keskihajontojen sekä keskivirheiden laskeminen. Varianssianalyysillä tutkittiin, onko jauhatuksella vaikutusta saatuun väriarvoon. Parittaisilla vertailutesteillä tutkittiin sen jälkeen paahtokategorian tuotteiden keskinäisiä eroja. t-testeillä verrattiin värimittausmenetelmien tuloksia keskenään, ja arvioitiin onko eri mittausmenetelmien tuloksilla tilastollisesti merkitseviä eroja. T-testeillä verrattiin myös mittausmenetelmien eroja keskiarvossa, keskihajonnassa ja keskivirheessä. Pääkomponenttianalyysin avulla tuloksia jaettiin erilaisiin ryhmiin visuaalisesti.

## 3.2 Tulokset

### 3.2.1 Spektridata

Kuvassa 11 on esitetty spektridata kosteuspitoisuus- ja värikalibraatiolle. Spektridataa tarkasteltiin silmämääräisesti mahdollisten poikkeamien tai työtiloissa aiheutuneen taustamelun aiheuttaman hälyn varalta. Tutkimuksen spektridatassa ei löytynyt silmämääräisesti havaittavia virheitä. Spektridata käsiteltiin winISI-ohjelman avulla matemaattisesti muokkaamalla. Aallonpituudet kalibraatiossa jaettiin kahteen osaan: 408–1092 nm ja 1100–2498 nm. Spektridatan matemaattiset muokkaukset sekä aallonpituuksien jakaminen tehtiin FOSSin suositusten mukaisesti.

Tutkittaessa jauhatuksen vaikutusta väriin oli spektridatassa 630 mittausta. Spektridata oli suurimmaksi osaksi yhtenäistä, mutta tummimmissa näytteissä spektridata poikkesi hieman, kuten kuvasta 11 voidaan nähdä.



**Kuva 11.** Väritutkimuksen spektridata. Ylimmät spektrit ovat tummapahtoisia kahveja

Paahdettujen kahvinäytteiden kosteuspitoisuus ( $n = 199$ ) oli kalibraation mittauksissa keskimäärin 3,57% ja keskihajonta 0,34. Paahdettujen kahvinäytteiden ( $n = 278$ ) väriarvot olivat kalibraation mittauksissa keskimäärin 17,76. ( $L^*$ ).

### 3.2.2 Väri-, kosteuspitoisuus- ja tiheyskalibraation kehittäminen ja arviointi

Lommin (2018) alkuperäisessä kalibraatiopohjassa paahdetun jauhetun kahvin värimittauksia oli 60 kpl ja kosteuspitoisuusmittauksia oli 76 kpl. Kalibraatiota haluttiin kehittää sen takia, että laitteen käyttö vakiinnutettaisiin tulevaisuudessa tuotantoprosessia varten. Tämän takia varsinkin värimittauksia tarvitsi tehdä lisää, sillä tummien paahtonäytteiden määrä oli alkuperäisessä kalibraatiossa suhteellisen vähäinen.

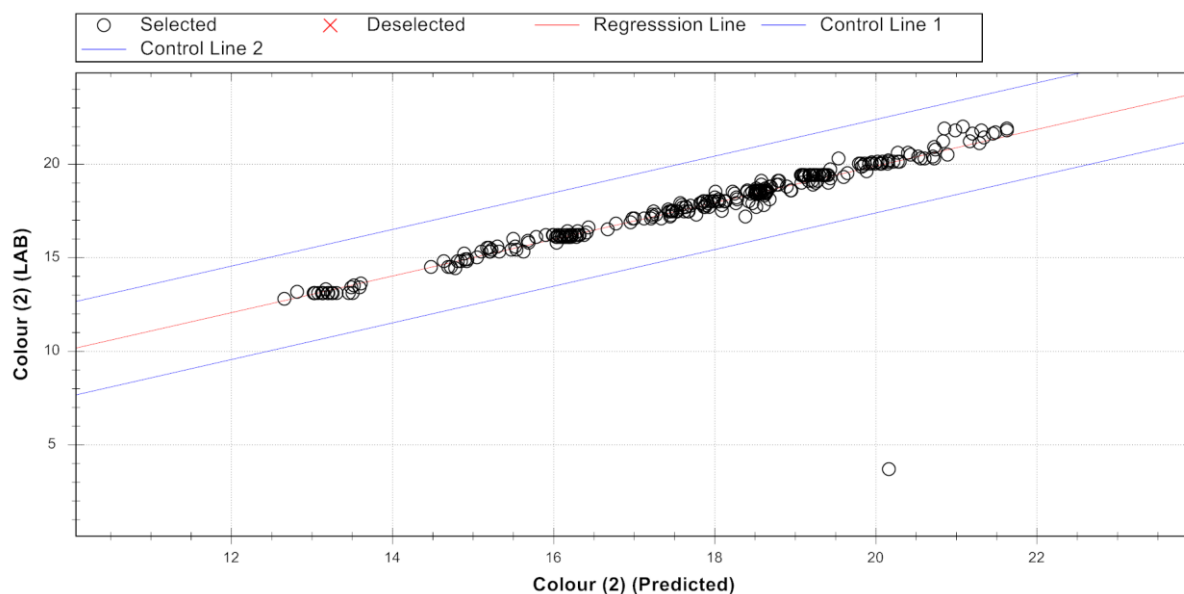
Väri- ja kosteuspitoisuuskalibraatiot tehtiin aikavälillä lokakuu–marraskuu 2018. Tällöin värimittauksia oli kertynyt 278 ja kosteuspitoisuuskalibraation mittauksia oli 199 (taulukko 4). Kalibraation mittaukset yhdistettiin winISI:llä. Kalibraatio lähetettiin FOSSille ja sen toimivuus todettiin. Kalibraatiota tehdessä arvioitiin kalibraation lukuarvoja SEC,  $R^2$ , ja SECV.

**Taulukko 4.** Paahdetun kahvin kalibraation lukuarvoja

|                | Paahdetun kahvin kosteuspitoisuus (%) | Paahdetun kahvin väri (L*) | Paahdetun kahvin tiheys (g/ml) |
|----------------|---------------------------------------|----------------------------|--------------------------------|
| n              | 199                                   | 278                        | 64                             |
| Keskiarvo      | 3,5744                                | 17,7638                    | 174,125                        |
| Keskihajonta   | 0,3455                                | 2,0392                     | 7,997                          |
| Min (arvioitu) | 2,5379                                | 11,6462                    | 150,1339                       |
| Max (arvioitu) | 4,6109                                | 23,8814                    | 198,1161                       |
| SEC            | 0,1030                                | 0,1935                     | 2,8343                         |
| $R^2$          | 0,9111                                | 0,9910                     | 0,89                           |
| SECV           | 0,1596                                | 0,2727                     | 3,3003                         |
| 1- VR          | 0,7854                                | 0,9820                     | 0,827                          |

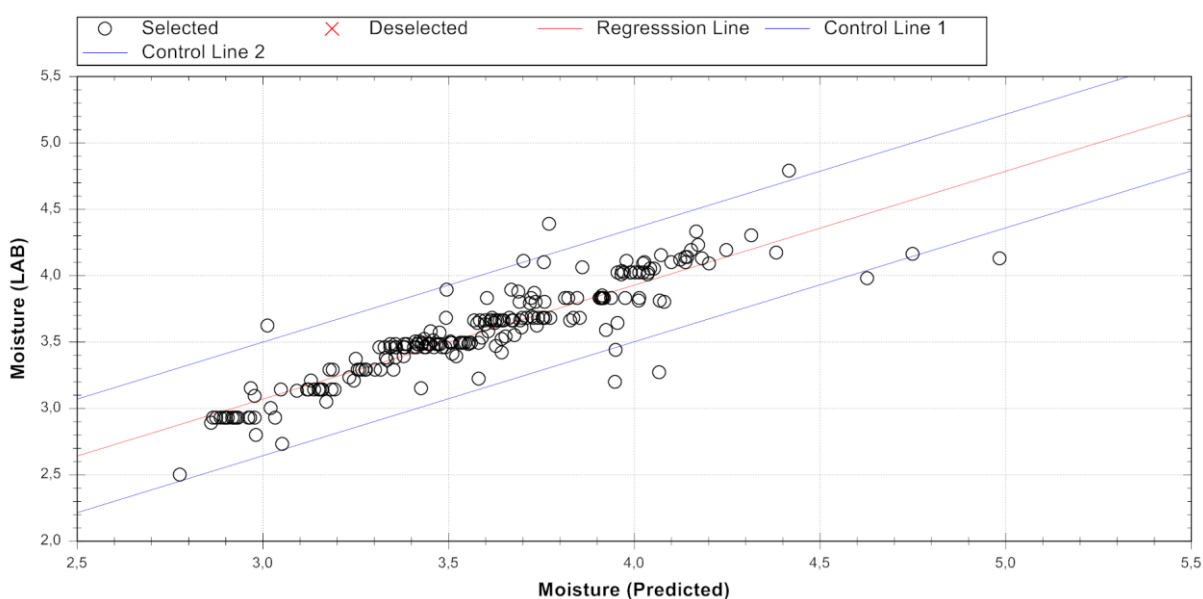
n: kalibraation näytteiden lukumäärä. SD: keskihajonta, Min/Max (arvioitu): ennusteen minimi/maksimiarvo = tulosten keskiarvo  $\pm$  3x SD.  $R^2$  kuvaa kalibraation selitysasetta, SEC kuvaa kalibraation keskivirhettä, SECV kuvaa ristivalidoinnin keskivirhettä, 1-VR: Ristivalidoinnin keskivirhe (SECV)/ tulosten keskiarvo

Värikalibraation testauksessa (kuvassa 12), löydettiin ainoastaan yksi outlier. Tämä oli FOSSin mielestä erittäin hyvä kalibraatio, jossa  $R^2$ -selitysaseta voi saavuttaa arvon 0,99, mikä kertoo sen luotettavuudesta. Kuvan 12 siniset kontrolliviivat kuvaavat kalibraation mittauksien korrelaatiota ennusteen kanssa: mitä paremmin arvot ovat sinisten viivojen sisällä, sitä yhtenäisempi on kalibraatio. Mittausten väriarvojen ennustetut arvot (L\*) vaihtelivat välillä 11,6462 (tummin) –23,8814 (vaalein).



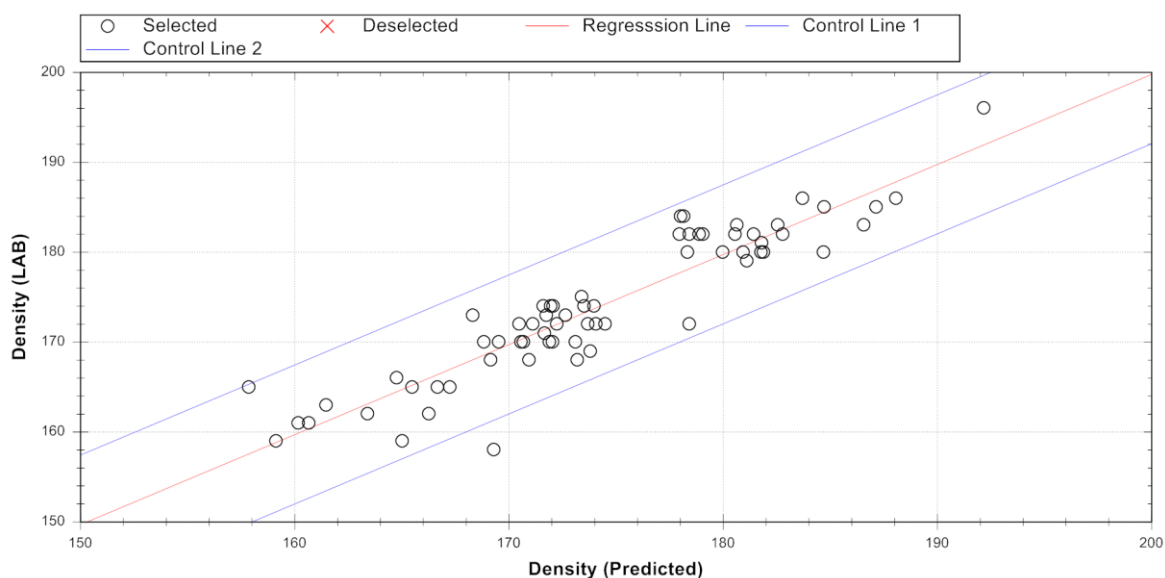
**Kuva 12.** Värikalibraation ennustearvot verrattuna referenssiarvoihin. X-akseli kuvaa kalibraation ennustamaa arvoa, y-akseli kuvaa kalibraation referenssiarvoa. Siniset kontrolliviivat kuvaavat kalibraation mittauksien korrelaatiota.

Kosteuspitoisuuskalibraation tekovaiheessa referenssiarvot eivät olleet alustavasti tarpeeksi tarkkoja, joten kalibraation referenssimittauksien arvot korjattiin kahden desimaalin tarkkuuteen.  $R^2$ -arvo oli kosteudelle 0,91, mikä on hyväksyttävä NIR-menetelmälle. Outlier-näytteitä oli kosteuden kalibraatiossa useampi, kuten on näytetty kuvassa 13. FOSSin mukaan referenssimenetelmästä ja mitattavasta parametrasta (kosteuspitoisuus) johtuen tämän kalibraation teossa oli haasteita. Kosteuspitoisuuskalibraatio on esitetty kuvassa 13.



**Kuva 13.** Kosteuspitoisuuskalibraation ennustearvot verrattuna referenssiarvoihin. X-akseli kuvaa kalibraation ennustamaa arvoa, y-akseli kuvaa kalibraation referenssiarvoa. Siniset kontrolliviivat kuvaavat kalibraation mittauksien korrelaatiota.

Tiheyskalibraatiossa oli 66 näytettä. Kalibraation mittauksien oleelliset arvot ovat taulukossa 4. Keskiarvona kalibraatiolle saatiin  $174,212 \pm 7$ . Selitysaste  $R^2$  oli 0,89.. Kuvassa 14 on esitetty tiheyden kalibraatio. Kuvasta voidaan päätellä, että referenssidatassa on vain yksi selkeä outlier-näyte. Muut näytteet osuvat kontrolliviivojen sisälle. Spektridata käsiteltiin winISI-ohjelman avulla matemaattisesti muokkaamalla se muista kalibraatioista poiketen muotoon 1, 1, 0, 0 (Derivative 1, Gap 1, Smooth 0, Smooth2 0) FOSSin suosituksesta. Kalibraation  $SEC = 2,83$  ja  $SECV = 3,3003$ .



**Kuva 14.** Tiheyskalibraation ennustearvot verrattuna referenssiarvoihin. X-akseli kuvaa kalibraation ennustamaa arvoa, y-akseli kuvaa kalibraation referenssiarvoa. Siniset kontrolliviivat kuvaavat kalibraation mittauksien korrelaatiota

### 3.2.3 Väri-jauhatustutkimuksen tilastollinen käsittely

Väri-jauhatustutkimuksen arvoja tutkittiin tilastollisesti IBM SPSS:llä. Tavoitteena oli selvittää, poikkeavatko tulokset toisistaan tilastollisesti merkittävästi. Ensin verrattiin jauhatuksia ja mittausmenetelmiä paahtoasteiden sisäisesti; vaaleat, keskippahtoiset ja tummat näytteet tutkittiin siis erikseen. Sen lisäksi tutkittiin koko näytopopulaatiota. Jotta dataa pystyttiin tulkitsemaan SPSS:llä, piti mittaukset koodata numeroin. Tämän lisäksi myös mittauspäivät koodattiin numeroin.

Kun data oli muutettu oikeaan muotoon, arvioitiin saatua dataa ensin erissä. Tilastolliset käsittelyt tehtiin erikseen vaaleille näytteille, keskippahtoisisille näytteille ja tummille näytteille. Kaikki tutkimusmateriaali arvioitiin aluksi normaalisuudelta. Normaalisuuden testi tehtiin erikseen vaaleille, keskippahtoisisille ja tummille (taulukko 5).

**Taulukko 5.** Normaalisuuden testaaminen vaaleilla, keskippahtoisisilla ja tummilla näytteillä. Tälle tutkimukselle käytettiin Shapiro-Wilkin-testiä.  $df$ =vapausaste.

| Shapiro-Wilkin-testi |           | df  | p-arvo |
|----------------------|-----------|-----|--------|
| Vaaleat              | NIR       | 181 | 0,000  |
|                      | Hunterlab | 181 | 0,000  |
| Keskippahtoiset      | NIR       | 204 | 0,001  |
|                      | Hunterlab | 204 | 0,001  |
| Tummat               | NIR       | 198 | 0,000  |
|                      | Hunterlab | 198 | 0,000  |

Normaalisuus ei ollut voimassa millään paahtokategoriolla erikseen. Näin ollen tyydyttiin aineiston epänormaalisuuden tuomaan epävarmuustekijään tuloksien kannalta.

Normaalisuuden arvioimisen jälkeen tutkimusdatalle tehtiin varianssianalyysi, jossa testataan kahden tai useamman ryhmän keskiarvojen eroja tilastollisesti (Pakarinen 2009) (taulukko 6).

**Taulukko 6.** Vaaleiden, keskippahtoisten ja tummien näytteiden väritulosten varianssianalyysin tulokset. Kun  $p < 0,05$  on tuloksilla tilastollisesti merkitseviä eroja.  $df$ =vapausaste,  $dfer$ =vapausasteen virhe

| Vaaleat          |           | F        | df,dfer | p-arvo |
|------------------|-----------|----------|---------|--------|
| Jauhatus         | Hunterlab | 0,006    | 1, 173  | 0,937  |
|                  | NIR       | 0,000    | 1, 173  | 0,995  |
| Tuote            | Hunterlab | 1619,905 | 3, 173  | 0,000  |
|                  | NIR       | 1305,999 | 3, 173  | 0,000  |
| Jauhatus * tuote | Hunterlab | 2,854    | 3, 173  | 0,39   |
|                  | NIR       | 1,045    | 3, 173  | 0,374  |

| Keskippahtoiset  |           | F       | df,dfer | p     |
|------------------|-----------|---------|---------|-------|
| Jauhatus         | Hunterlab | 1,847   | 1, 194  | 0,176 |
|                  | NIR       | 8,834   | 1, 194  | 0,03  |
| Tuote            | Hunterlab | 193,221 | 4, 194  | 0,000 |
|                  | NIR       | 180,192 | 4, 194  | 0,000 |
| Jauhatus * tuote | Hunterlab | 0,335   | 4, 194  | 0,854 |
|                  | NIR       | 0,442   | 4, 194  | 0,778 |

| Tummat           |           | F        | df,dfer | p     |
|------------------|-----------|----------|---------|-------|
| Jauhatus         | Hunterlab | 0,198    | 1, 184  | 0,657 |
|                  | NIR       | 2,232    | 1, 184  | 0,137 |
| Tuote            | Hunterlab | 1123,39  | 6, 184  | 0,000 |
|                  | NIR       | 1929,521 | 6, 184  | 0,000 |
| Jauhatus * tuote | Hunterlab | 2,91     | 6, 184  | 0,01  |
|                  | NIR       | 7,951    | 6, 184  | 0,000 |

Kaikkien kategorioiden varianssianalyysissä vapausasteet sekä vapausasteen virhearvot olivat erilaisia, sillä näytteitä oli eri määriä. Jauhatusien ja tuotteiden vapausasteet vaihtelivat. Jauhatus \* tuote -riviä luettaessa voidaan todeta, että jauhatuksella on tuotteissa tilastollisesti merkitsevä yhdysvaikutus jauhatuksen ja tuotteen välillä ( $p < 0,05$ ).

Varianssianalyysin lisäksi tehtiin parittaiset vertailutestit tuotteille. Parittaisilla vertailutesteillä selvitettiin paahtokategorioiden tuotteiden keskinäisiä eroja. Vaaleiden tuotteiden parittaisen vertailutestien tuloksia tarkastellessa (liite 2) voidaan todeta, että keskenään verrattaessa tuotteet erosivat toisistaan tilastollisesti merkitsevästi ( $p < 0,05$ ). Keskippahtoisten tuotteiden kategoriassa (liite 1) B- ja D-tuotteet eivät eronneet toisistaan tilastollisesti merkitsevästi ( $p > 0,05$ ). Tummapahtoisten kategoriassa (liite 3) B- ja G-tuotteiden tulokset eivät eronneet toisistaan tilastollisesti merkitsevästi NIR-menetelmällä.

Keskipaahtoisten ja tummien tuotteiden parittaisten vertailutestien tuloksissa  $p < 0,05$  kaikissa muissa tuotteissa, jolloin voidaan sanoa, että tuotteet erosivat toisistaan tilastollisesti merkitsevästi.

Testattiin NIR- ja Hunterlab-menetelmiä parittain t-testin avulla (taulukko 7). Keskiarvo kuvaa kaikkien kyseisellä metodilla mitattujen näytteiden keskiarvoa.

**Taulukko 7.** Väritutkimuksen t-testien tulokset. Tulokset on jaettu paahdon ja jauhatuksen mukaan, missä 1-jauhatus kuvaa hienompaa jauhatusta ja 3-jauhatus kuvaa karkeampaa jauhatusta. p-arvon ollessa  $>0,05$  tuloksilla ei ole tilastollisesti merkitseviä eroja. P-arvot, jotka ovat 0,000 eivät ole 0 vaan pienempiä kuin 0,01

|             |           | Keskiarvo | Keskihajonta | Keskivirheen keskiarvo | P-arvo |
|-------------|-----------|-----------|--------------|------------------------|--------|
| Vaaleat (1) | NIR       | 20,52444  | 1,136425     | 0,1197                 | 0,000  |
|             | Hunterlab | 20,55789  | 1,124267     | 0,1185                 |        |
| Vaaleat (3) | NIR       | 20,50422  | 1,046029     | 0,110261               | 0,000  |
|             | Hunterlab | 20,54278  | 1,056582     | 0,111374               |        |
| Keski (1)   | NIR       | 18,72245  | 1,136425     | 0,11979                | 0,000  |
|             | Hunterlab | 18,66578  | 1,124267     | 0,118508               |        |
| Keski (3)   | NIR       | 18,61775  | 0,448659     | 0,044424               | 0,199  |
|             | Hunterlab | 18,63039  | 0,422701     | 0,042349               |        |
| Tummat (1)  | NIR       | 15,79414  | 1,144356     | 0,115012               | 0,118  |
|             | Hunterlab | 15,75273  | 1,121045     | 0,112669               |        |
| Tummat (3)  | NIR       | 15,76556  | 1,124862     | 0,113053               | 0,09   |
|             | Hunterlab | 15,7402   | 1,096439     | 0,110196               |        |

Tuloksista nähdään, että saadut keskihajonnat ja keskivirheet ovat hyvin samanlaisia ja niissä on vain pieniä eroja. Kaikki 1-jauhatukselle saadut keskiarvotulokset olivat suurempia kuin 3-jauhatuksella, eli näytteet olivat vaaleampia. Tämä pätee NIR-tuloksiin ja Hunterlab-mittaustuloksiin. Vaaleissa tuotteissa molemmilla jauhatuksilla Hunterlab-menetelmän keskiarvot olivat aavistuksen suurempia eli tuote oli Hunterlabilla mitattaessa vaaleampaa.

Keskivirheissä ainoa huomattava ero oli keskipaahtoisten tuotteiden tuloksissa, joissa 3-jauhatuksella mitatut tuotteet antoivat pienemmän keskivirheen kuin 1-jauhatuksella mitatut tuotteet. Keskipaahtoisten 3-jauhatuksella tehdyt mittaukset antoivat myös pienemmän keskihajonnan kuin 1-jauhatuksella.

Taulukon 7 tuloksista voidaan todeta, että hienompijakoisissa näytteissä keskihajonta on aavistuksen pienempi kuin 3-jauhatuksen tuloksissa. p-arvoa arvoa tutkiessa huomattiin, että  $p < 0,05$  vaaleissa ja keskipaahtoisten 1-jauhatuksessa. Tämä tarkoittaa sitä, että jauhatus vaikutti tilastollisesti merkitsevästi mittausten tuloksiin.

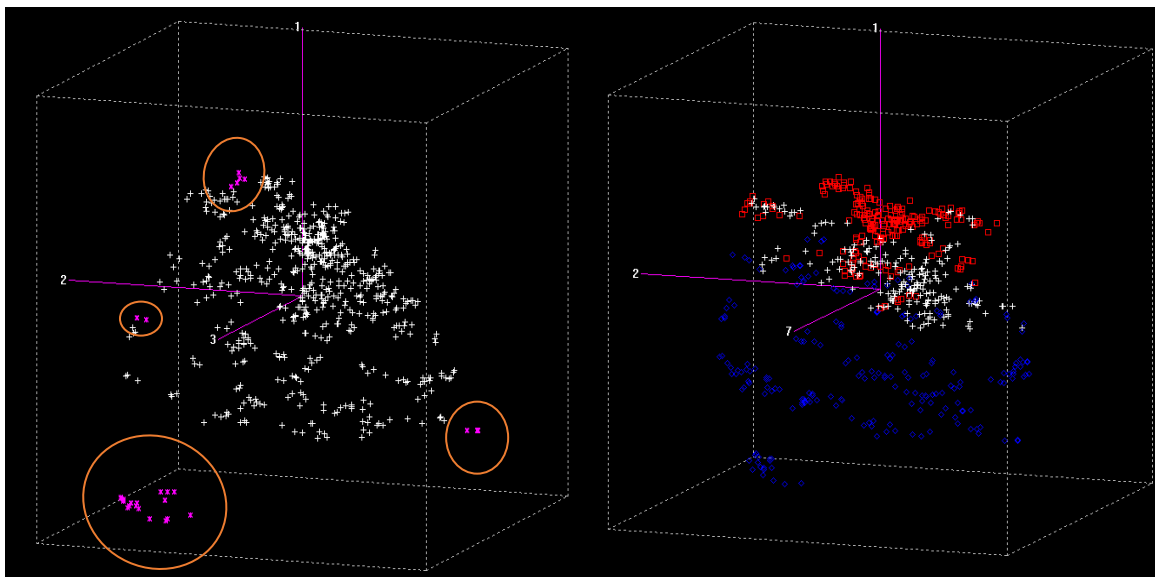
Lisäksi haluttiin vertailla mittausmenetelmien tuloseroja jauhatuksien välillä. Tehtiin T-testiparit, missä verrattiin saman mittausmenetelmän jauhatuksien välisten erojen tuloksia. Tulokset on esitetty taulukossa 8. Tulokset erosivat tilastollisesti toisistaan pelkästään keskippaahoisten näytteiden välillä molemmilla mittausmenetelmillä. Vaaleat ja tummat tuotteet eivät poikenneet toisistaan tilastollisesti merkitsevästi. Tämä tarkoittaa sitä, että jauhatuksilla ei ollut tilastollisesti merkitseviä eroja.

**Taulukko 8.** t-testiparit mittausmenetelmien ja jauhatuksien välillä. Jos  $p < 0,05$ , niin tuloksilla on tilastollisesti merkitseviä eroja. Vertailuparit on tehty eri paahtoasteiden tuloksille.

|                |        |                               | <b>p-arvo</b> |
|----------------|--------|-------------------------------|---------------|
| <b>Vaaleat</b> | Pari 1 | NIR (3) - NIR (1)             | 0,285         |
|                | Pari 2 | Hunterlab (3) - Hunterlab (1) | 0,371         |
| <b>Keski</b>   | Pari 1 | NIR (3) - NIR (1)             | 0,00          |
|                | Pari 2 | Hunterlab (3) - Hunterlab (1) | 0,01          |
| <b>Tummat</b>  | Pari 1 | NIR (3) - NIR (1)             | 0,223         |
|                | Pari 2 | Hunterlab (3) - Hunterlab (1) | 0,616         |

### 3.2.4 Pääkomponenttianalyysin tulkinta

PCA-kuvien tarkastelussa keskityttiin ensin värimittaustuloksien tarkasteluun kokonaisuudessaan. Kuvassa 16 on esitetty kaikki väri-jauhatusmittausten tulokset. Suurin osa näytteistä asettuu GH-arvon rajan (3) sisälle. Poikkeavat populaatiot, jotka olivat tummapaahoisia näytteitä, on ympyröity. Lisäksi yksi vaalea paahto -näytesarja erosi GH-arvoilta. Nämä poikkeamat voidaan selittää poikkeavalla näytteen laadulla, kemiallisella rakenteella (esimerkiksi eri sadon näyte, poikkeavan paahtoprofiilin aiheuttamat muutokset kemiallisessa koostumuksessa) tai mittausvirheellä. Tummapaahoisten näytteiden poikkeavan kemiallisen rakenteen vuoksi on todennäköistä, että näytteet ovat eronneet kokonaispopulaatiosta.



**Kuva 16.** NIR-mittausten pääkomponenttianalyysi. Vasemmalla on esitetty GH-arvoiltaan (raja-arvona GH 3) poikkeavat näytopopulaatiot ympäröitynä GH-arvojen sisälle asettuvat näytteet ovat valkoisia vasemmalla. Oikealla on esitetty partikkelikoon perusteella jakautuvat populaatiot. Partikkelikoon perusteella populaatiot voidaan jakaa kolmeen osaan karkeasti.

Tämän tutkimuksen pääkomponenttianalyysin perusteella voitiin todeta, että outlier-näytteet poikkesivat väriominaisuuksiltaan suurimmasta osasta populaatiota.

### 3.3 Pohdinta

Tutkimuksen yksi päätavoitteista oli saada paahdetun ja jauhetun kahvin kosteuspitoisuudelle ja värille toimivat ennustemallit, joita voidaan käyttää laadunvarmistuksessa hyödyksi jatkossa. Tutkimuksessa kehitetyt ennustemallit toimivat FOSSin mielestä luotettavasti selitysasteilla  $R^2 = 0,99$  värille ja kosteuspitoisuudelle  $R^2 = 0,91$ . Värin selitysaste oli erinomainen, kun taas kosteuden selitysaste oli hyvä. Tässä tutkimuksessa värille saatiin matala keskivirhe ja matala suhteellinen virhe sekä edellä mainittu korkea selitysaste, mitkä kertovat kalibraation luotettavuudesta. Tiheyden selitysaste  $R^2 = 0,89$  ylitti alustavat odotukset.

Kosteuspitoisuuskalibraation matalampaa selitysastetta voidaan perustella sillä, että kalibraatioon sisältyviä näytteitä oli huomattavasti vähemmän kuin värikalibraatioissa. Tämä johtui kosteuspitoisuuskalibraation aikaa vievästä referenssimenetelmästä, jossa näytteitä kuivattiin uunissa neljä tuntia. Ajallisesti referenssimenetelmiä ei ollut mahdollista saada yhtä paljon kuin nopealla värimittauksen referenssimenetelmällä. Kosteuspitoisuuden referenssianalyyseissä olisi lisäksi ollut suotavaa, että rinnakkaisia mittauksia olisi tehty aina

vähintään kolme. Koska kalibraation variaatiota haluttiin saada suureksi, haluttiin panostaa enemmän erilaisten näytteiden mittaamiseen. Tämän takia rinnakkaisia näytteitä oli joskus vain kaksi, sillä näyteunissa ei olisi riittänyt tilaa, jos kaikista näytteistä olisi tehty kolme rinnakkaisnäytettä. Jatkoa ajatellen rinnakkaisia näytteitä olisi suotavaa olla kolme, jotta referenssiarvot olisivat luotettavampia. Kalibraation tarkkuutta ajatellen eliminoitiin referenssinäytteet, joissa rinnakkaiset näytteet saivat poikkeavia arvoja toisistaan. Tämä tehtiin, jottei vääriä arvoja päätyisi kalibraatioon. Inhimillinen mittausvirhe oli siis tekijänä selityksasteessa. Kosteuspitoisuuskalibraation laatua voidaan parantaa jatkossa lisäämällä kalibraationäytteitä sekä poistamalla ylimääräiset outlier-näytteet kalibraatiosta. Joskus on kuitenkin jopa suotavaa, että outliereita on kalibraatiossa.

Värimittaustarkkuutta on tutkittu tässä yrityksessä aikaisemmin Tuomisen (2014) ja Lommin (2018) toimesta. Tuomisen (2014) tutkimuksessa arvioitiin Hunterlabin värimittarin toimintaa. Tutkimuksen värimittausten keskiarvo oli 21,8 L\*. Kuusi mittaajaa määritteli paahtoerästä väriä niin, että kukin teki 16 mittausta näyte-erästä, mikä tuotti 96 mittausta. Vaikka Hunterlabin mittauslaite on todettu Tuomisen tutkimuksessa huonoimmillaan epätarkaksi, saatiin sillä tässä tutkimuksessa kehitettyä hyvälaatuinen NIR-kalibraatio kahvin värianalyysille, kun oltiin tarpeeksi huolellisia ja sisällytettiin kalibraatioon mahdollisimman monipuolisesti näytteitä.

Paahdetun kahvin väriä on tutkittu aikaisemmin kirjallisuudessa useassa tutkimuksessa (Bertone ym. 2016, Lommi 2018 ja Santos ym. 2016). Väriä on tutkittu tavanomaisilla NIR-laitteilla, mutta sen lisäksi myös FTIR-laitteilla, jotka soveltuvat myös tarkempiin laboratorioanalyysiin. Tässä tutkimuksessa saatiin kehitettyä parempi ennustemalli, jos vertaillaan selityksasteita. Bertonen (2016) tutkimuksessa saatiin selityksaste  $R^2 = 0,94$ . Santoksen (2016) tutkimuksessa saatiin paahdetun kahvin värikalibraatiolle myös selityksaste  $R^2 = 0,94$ , joka on myös matalampi kuin tämän tutkimuksen värikalibraation tulos. Sitä selittää muun muassa tämän tutkimuksen laaja näytekirjo sekä kattava kalibraatio, jossa on satoja näytteitä. Verrattuna moneen aikaisempaan tutkimukseen tämän tutkimuksen näytemäärä on suuri. Vanhempien tutkimuksien heikommat selityksasteet voidaan perustella NIR-tekniikan kehittymisellä ja tämän tutkimuksen laitteen tehokkuudella. Pizarron ym. (2007) tutkimuksessa arvioitiin myös paahdetun jauhetun kahvin väriä. Selityksasteeksi  $R^2$  saatiin 96,1–97,3. Tutkimuksen matalampi selityksaste voidaan perustella vanhemmalla laitemallilla sekä sillä, että kalibrointi tehtiin vain aallonpituusvälillä 1100–2200 nm. Tämä voi selittää aavistuksen heikompa selityksastetta.

Tiheyskalibraation hypoteesina oli se, että on mahdollista saada kalibraatio, joka toimii kohtuullisen hyvin. Aikaisempien tutkimusten määrä tiheyteen liittyen oli hyvin vähäistä. Tämän lisäksi referenssimenetelmät aikaisemmissa tutkimuksissa olivat hyvin erilaisia kuin tässä tutkimuksessa käytetty tiheyden mittausta. FOSSin kommentit antoivat oletukseksi sen, että kalibraatio ja sen toimivuus voivat olla mahdollisia, mutta FOSS ei osannut sanoa, toimisiko tiheyskalibraatio varmasti laboratorion referenssimenetelmällä. NIR-tekniikan hyödyntäminen fysikaalisten ominaisuuksien mittaamisessa on vähäistä. Lisäksi referenssimenetelmän matemaattinen epätarkkuus on myös luultavasti heikentänyt mittausta, koska mittaaja arvioi mittaustuloksen silmämääräisesti. Tämänkaltaisen referenssimenetelmä ei välttämättä käänny NIR-laitteen hyödynnettäväksi yksinkertaisesti. Lisäksi kalibraatiota pitäisi muokata mahdollisesti korjauskäyrällä, jos sillä haluttaisiin saada tarkempia tuloksia. Korkeat virhearvot SECV ja SEC kertovat myös tämän kehitetyn kalibraation epäluotettavuudesta. Mittaukset alustavalla kalibraatiolla antoivat kuitenkin yllättävän hyviä tuloksia. Varsinkin vaaleille kahvituotteille, joita kalibraatio sisälsi enemmän, antoi NIR-laite yleisesti mittaustuloksiksi enintään  $\pm 2$  referenssiarvosta. Tämä on kuitenkin yllättävän hyvä ottaen huomioon kalibraation kohtuullisen vähäisen ( $n = 66$ ) kalibraationäytteiden määrän. Kalibraatio päivitettiin matemaattisin keinoin ensimmäisen arvion jälkeen, jolloin sen matemaattista käsittelyä muutettiin 1-4-4-1:stä 0-0-1-1:een. Tällä toimenpiteellä selitysaste parantui ja oli näin ollen  $R^2 = 0,89$ . Koska tiheys on fysikaalinen ominaisuus, siitä ei NIR-tekniikalla saada yhtä tarkkaa mittaustulosta kuin muista mitattavista ominaisuuksista. 63 näytteellä voidaan kehittää aloituskalibraatio, mutta siitä saadaan vielä tarkempi useammilla mittauksilla. FOSSin mukaan  $R^2$  voi saavuttaa noin arvon 0,9 tai enemmän, kun kalibraatioon lisätään mittauksia mahdollisimman laajasti.

Sen lisäksi stampfvolumeterin tulostulkinta on avointa, sillä riippuen pinnan tasaisuudesta tuloksen luvussa voi olla mittaajakohtaista tulkintavaraa. Koska referenssiarvot ovat yhden desimaalin tarkkuudella (esimerkiksi numeroarvo väliltä 155–180), ei kalibraatiota voi tehdä tarkemmaksi kuin lisäämällä näytteiden määrää tasaisesti kaikille tuotetyypeille. Jos kalibraatiota haluttaisiin siitä edelleen tarkentaa, olisi syytä harkita erilaista mittaustulosten menetelmää, sillä NIR-kalibraation tarkkuus on täysin riippuvainen käytetystä referenssimenetelmästä. Lisäksi pitäisi tehdä referenssimittauksia erilaisilla jauhatuksilla, sillä NIR-laite on hyvin herkkä partikkelikoon muutoksille.

Alessandrinin ym. (2008) tutkimuksessa hyödynnettiin referenssimenetelmää, joka yhdistettiin paahdon aikana hävinneeseen painoon. Mallit kehitettiin esittämään fyysisiä ominaisuuksia kosteuspitoisuuden funktiona. Havaittiin, että pinta-alan laajentuminen

pavussa on isotrooppista eli suunnasta riippumatonta, kun paahtolämpötila on yli 220 °C. Pavun lopullinen volyyymi oli suurimmillaan 1,8-kertainen verrattuna alkuvolyymiin. Pavun tiheys vaihteli lineaarisesti kosteuspitoisuuden kanssa. Tätä kautta havainnoitiin kahvipavun tiheyttä. Tässä tutkimuksessa oli tarkoitus hakea suoraa yhteyttä referenssimenetelmästä luettavaan tiheysarvoon.

Väri-jauhatustutkimuksen mittauksien ja tilastollisten menetelmien perusteella voidaan sanoa, että NIR-mittauksissa rinnakkaismittauksien välinen hajonta oli pienempää kuin Hunterlabin referenssimenetelmässä. Tämä päti kaikkiin paahtokategorioihin. Voidaan olettaa, että Hunterlab-menetelmällä mittaajan inhimillisen virheen mahdollisuus on huomattavasti suurempi kuin NIR-menetelmällä. Tätä voidaan perustella myös Tuomisen tutkimuksen (2014) pohjalta, jossa todettiin, että mittaajakohtaiset toimintatavat vaikuttivat saatuihin tuloksiin. Voidaan siis olettaa, että tämän tutkimuksen Hunterlab-mittauksissa olisi enemmän hajontaa, jos mittaajia olisi ollut enemmän.

T-testiparitulosilla voidaan todeta, että NIR:llä ja Hunterlabilla tehdyt mittaukset olivat hyvin samankaltaisia. Tämä on hyvä merkki, sillä NIR-mittaustapa on rakennettu Hunterlab-mittauksien referenssimittauksilla. Suuret poikkeamat voisivat olla merkki kalibraation virheestä. T-testiparien tuloksista taulukossa 6 voidaan todeta, että tutkimuksessa hienommalla jauhatuksella tehdyt näytteet olivat aavistuksen vaaleampia keskiarvoltaan kuin 3-jauhatuksen näytteet. Keskihajonta oli kuitenkin 1-jauhatuksen näytteissä kaikissa kategorioissa hieman suurempi kuin 3-jauhatuksen näytteissä. Ero on kuitenkin huomattavan pieni. NIR-mittaustavan ja Hunterlabin t-testivertailussa vaaleilla (1- sekä 3-jauhatus) sekä keskippahtoisten 1-jauhatuksella oli tilastollisesti merkitseviä eroja. Keskippahtoisten 3-jauhatuksella sekä molemmilla tumman paahton jauhatusasteilla ei mittausten menetelmien tuloksilla ollut tilastollisesti merkitseviä eroja.

T-testiparit tehtiin myös NIR-mittaustavan molemmilla jauhatuksilla keskenään. Tämä tehtiin myös Hunterlabin mittaustuloksilla. Tuloksista huomattiin, että ainoastaan keskippahtoisten näytteiden molemmissa jauhatuksissa oli tilastollista eroa mittaustapojen sisällä. Vaaleiden sekä tummien näytteiden vertailuissa  $p > 0,05$ , jolloin tulokset eivät olleet tilastollisesti merkitseviä.

## 4 PÄÄTELMÄT

Tutkimuksesta voidaan päätellä, että NIR-teknologia soveltuu paahdetun kahvin analysoimiseen ja sitä voidaan hyödyntää useammassa tuotannon vaiheessa. Tulevaisuudessa kalibraatioita voidaan optimoida tekemällä niitä yksittäisille tuotteille. Tutkimusta voidaan jatkokehittää paahdetuille kokonaisille pavuille, jolloin analysoitavaa näytettä ei tarvitsisi aina jauhaa. Tämä olisi hyödyllistä varsinkin kokonaisuena myytävälle paputuotteille.

Tiheyskalibraation kehittäminen onnistui hyvin. Mittausvarmuudessa ei kuitenkaan päästy toivotulle tasolle näytteiden vähäisyyden takia. Tiheyskalibraatiosta voi olla hyötyä, kun kalibraatiota vahvistetaan lisänäytteillä.

Väri-jauhatustutkimuksen tavoitteena oli värin ja jauhatuksen korrelaation tutkiminen. Haluttiin tutkia sitä, vaikuttaako kahvin jauhatuksen aste saatuun väritulokseen. Tutkimuksen hypoteesina oli se, että hienommaksi jauhetut näytteet antaisivat vähemmän hajontaa sisältäviä tuloksia. Tämä pohjautui laadunvarmistuksen oletukseen vuosien kokemuksesta. Lisäksi oletettiin, että hienommat näytteet olisivat vaaleampia. Tätä perusteltiin esimerkiksi Tuomisen (2014) tutkimuksen perusteella. Alkuhypoteesina oli myös se, että NIR-mittaustapa antaisi vähemmän hajontaa rinnakkaisnäytteille verrattuna Hunterlabin. Tutkimuksen hypoteesit olivat osittain oikeat. NIR-mittaukset eivät antaneet matalampaa keskihajontaa kuin Hunterlabin mittaukset. Tulokset ja keskihajonnat olivat kuitenkin niin lähellä toisiaan, että niiden ero eivät olleet merkitseviä. Tämä johtuu siitä, että NIR-kalibraatio pohjautuu Hunterlabin mittauksiin. NIR-mittausmenetelmä ei voi olla tarkempi kuin referenssimenetelmä, johon kalibraatio pohjautuu. NIR-mittausten tulokset antoivat vaaleissa näytteissä (molemmissa jauhatuksissa) matalampia värituloksia kuin Hunterlabin mittausten tulokset. Keskipaahtoisissa ja tummissa näytteissä molemmilla jauhatuksilla NIR-näytteet saivat korkeampia värituloksia kuin Hunterlabin mittaukset.

Oletuksena jauhatuksien tuloksissa oli myös se, että hienommalla jauhatuksella saadaan aavistuksen korkeampia värituloksia (eli vaaleampi näyte) kuin karkeammalla jauhatuksella. Tämä hypoteesi toteutui tutkimuksessa, kun kaikki 1-jauhatuksella tehdyt mittaukset antoivat vaaleampia värituloksia. Tätä hypoteesia tuki Tuomisen (2014) tekemä tutkimus.

Tämän tutkimuksen perusteella voidaan perustella NIR-teknologian käyttö laadunvarmistuksessa tuotannon analyyseissä. Väri- ja kosteuspitoisuuskalibraatioita voidaan hyödyntää sellaisenaan, mutta tiheyden tutkiminen vaatisi enemmän näyttöä ja

kokeilua. Voidaan myös todeta, että tutkimuksessa käytetty jauhatuksien ero ei vaikuttanut huomattavasti saatujen väritulosten keskiarvoihin, keskihajontaan tai keskivirheeseen. Tulevaisuudessa jauhatuksen eroa voidaan tutkia isommalla partikkelikokojen erolla, jolloin tuloksissa todennäköisesti saadaan eroja.

## 5 LÄHDELUETTELO

- Alessandrini L, Romani S, Pinnavaia G, Rosa MD. 2008. Near infrared spectroscopy: An analytical tool to predict coffee roasting degree. *Anal Chim Acta* 625:95-102.
- Adnan A., Hörsten D, Pawelzik E, Mörlein D. 2017. Rapid Prediction of moisture content in intact green coffee beans using near infrared spectroscopy. *Foods* (ISSN 2304-8158). Open Access Journal.
- Aquino LF, Correia RM., Domingos E., Lacerda Jr V., Rodrigues R., Romão W, Tosato F. 2018. Portable Near infrared spectroscopy applied to quality control of Brazilian coffee. *Talanta* 176:59-68.
- Arya M, Rao M. 2010. An Impression of coffee carbohydrates. *Critical reviews in food science and nutrition* 47(1):51-67.
- Baeten V, Rogez H, Fernández Pierna JA, Vermeulen P, Dardenne P. 2015. *Vibrational Spectroscopy Methods for Rapid Control of Agro- Food Products*. Teoksessa: Nollet LML, Toldrá F, toim. *Handbook of Food Analysis*. 3. p. Boca Raton, FL: CRC Press:591-621.
- Baggenstoss J, Poisson L, Kaegi R, Luethi R. 2008. Coffee roasting and quenching technology- formation and stability of aroma compounds. Teoksessa: 22nd ASIC International Conference on Coffee Science. Brazil.
- Barbin DF, Felicio AL de SM, Sun DW, Nixdorf SL, Hirooka EY. 2014. Application of infrared spectral techniques on quality and compositional attributes of coffee: An overview. *Food Res Int* 61:23-32.
- Bee S, Brando C, Brumen G, Carvalhaes N, Kölling-Speer I, Speer K, Liverani FS, Teixeira A, Teixeira R, Thomaziello R, Viani R, Vitzthum O. 2005. *The raw bean*. Teoksessa: Illy A, Viani R, Liverani FS, toim. *Espresso coffee – The science and quality*. 2. p. San Diego, California: Elsevier Academic Press: 87-178.
- Bertrand B, Descroix F, Doulebeau S, Dussert S, Joët T, Kochko A. 2010. Influence of environmental factors, wet processing and their interactions on the biochemical composition of green Arabica coffee beans. *Food Chemistry* 118:693-701.
- Bertone E, Venturello A, Giraud A, Pellegrino G ja Geobaldo F. 2016. Simultaneous determination by NIR spectroscopy of the roasting degree and Arabica/Robusta ration in roasted and ground coffee. *Food Control* 59: 683-689
- Bonnänder B, Eggers R, Engelhardt UH, Maier HG. 2005. *Roasting*. Teoksessa: Illy A, Viani R, Liverani FS, toim. *Espresso coffee – The science and quality*. 2. p. San Diego, California: Elsevier Academic Press:179-214.
- Bro R ja Smilde AK. 2014. *Principal Component Analysis*. *Analytical Methods* 6: 2812-2831.
- Bustos-Vanegas JD, Corrêa PC, Martins MA, Baptestini FM, Campos RC, Oliveira GHH, Nunes EHM. 2018. Developing predictive models for determining physical properties of coffee beans during the roasting process. *Industrial Crops & Products* 112:839-845.
- Clarke R, Macrae R. 1989. *Coffee*. Vol.1, Chemistry. London. Elsevier. 306 s.
- Clarke R, Macrae R. 1989. *Coffee*. Vol.2, Technology. London. Elsevier. 321 s.
- Clarke RJ, Vitzthum OG. 2001. *Coffee recent developments*. Oxford. Blackwell Science. 257 s.
- Correia RM, Tosato F, Domingos E, Rodrigues RRT, Aquino LFM, Filgueiras PR, Lacerda V, Romão W. 2018. Portable near infrared spectroscopy applied to quality control of Brazilian coffee. *Talanta* 176:59-68.
- Davies AMC. An introduction to near infrared (NIR) spectroscopy. Saatavilla: <http://www.impublications.com/content/introduction-near-infrared-nir-spectroscopy>. Tulostettu 10.09.2019
- Davrieux F, Berkia A, Raverdy J-L, Excoffon S. 2008. On-Line Roasted Coffee Quality Control Using NIR Spectroscopy. Teoksessa: 22nd International Conference on Coffee Science, Campinas. Montpellier: 720-23.
- De Melo Pereira GV, De Carvalho Neto DP, Magalhães Júnior AI, Vásquez ZS, Medeiros ABP, Vandenberghe LPS, Soccol CR. 2019. Exploring the impacts of postharvest processing on the aroma formation of coffee beans - a review. *Food Chemistry* 272: 441-452.
- Downey G, Briandet R, Kemsley K, Wilson R. 1997. Near- and Mid-infrared spectroscopies in food authentication: Coffee varietal identification. *J. Agric. Food Chem* 45, 4357-4361

- Esteban-Díez I, González-Sáiz JM, Pizarro C. 2004. Prediction of sensory properties of espresso from roasted coffee samples by near-infrared spectroscopy. *Anal Chim Acta* 525:171-82.
- Figura LO, Teixeira AA. 2010. Optical properties. Teoksessa: Figura LO, Teixeira AA, toim. *Food Physics: physical properties – measurement and applications*. 1. p. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag. s. 391-415
- Fischer M, Reimann S, Trovato V, Redgwell RJ. 2001. Polysaccharides of green Arabica and Robusta coffee beans. *Carbohydr Res* 330:93-101.
- Grassi S, Alamprese C. 2018. Advances in NIR spectroscopy applied to process analytical technology in food industries. *Current opinion in Food Science* 22:17-21
- Infometrix. 2010. Chemometric methods. Saatavilla <https://infometrix.com/chemometrics/methods/>. Tulostettu 11.09.2019
- Kleinwächter M, Selmar D. 2010. Influence of drying on the content of sugars in wet processed green Arabica coffees. *Food Chem* 119:500-504.
- Knopp S, Bytof G, Selmar D. 2005. Influence of processing on the content of sugars in green Arabica coffee beans. *European Food Research and technology* 223:195-201
- Lommi H. 2018. NIR-teknologian hyödyntäminen kahvin laadunvarmistuksessa. Helsingin Yliopisto.
- Nilsson T. 2018. Basic WinISI calibration training - kurssimateriaali. 16.-18.1.2018. Berner, Helsinki.
- Pakarinen. 2009. Tilastollisten testien käytännön toteutus SPSS-ohjelmalla. Kurssimateriaali. Helsingin yliopisto
- Pasquini C. 2018. Near infrared spectroscopy: A mature analytical technique with new perspectives – A review. *Analytica Chimica Acta* 1026:8-36
- Páscoa R, Sarraguça MC, Magalhães LM, Santos JR, Rangel AOSS, Lopes JA. 2015. Use of Near-Infrared Spectroscopy for Coffee beans Quality Assessment. *Coffee in health and disease prevention*:933-942.
- Petracco M. 2005. Teoksessa: Illy A, Viani R, Liverani FS, toim. *Espresso coffee – The science of quality*. 2. p. San Diego, California: Elsevier Academic Press:179-214.
- Porep J, Kammerer D, Reinhold C. 2015. On-line application of near infrared (NIR) spectroscopy in food production. *Trends in Food Science & Technology* 46: 211-230.
- Ribeiro JS, Ferreira MMC, Salva TJG. 2011. Chemometric models for the quantitative descriptive sensory analysis of Arabica coffee beverages using near infrared spectroscopy. *Talanta* 83:1352-58.
- Santos JR, Sarraguça MC, Rangel AOSS, Lopes JA. 2012. Evaluation of green coffee beans quality using near infrared spectroscopy: A quantitative approach. *Food Chem* 135:1828-35.
- Santos JR, Lopo M, Rangel AOSS, Lopes JA. 2016. Exploiting near infrared spectroscopy as an analytical tool for on-line monitoring of acidity during coffee roasting. *Food Control* 60:408-15.
- Santos JR, Viegas O, Páscoa RNMJ, Ferreira IMPLVO, Rangel AOSS, Lopes JA. 2016. In-line monitoring of the coffee roasting process with near infrared spectroscopy: Measurement of sucrose and colour. *Food Chem* 208:103-10.
- Scholz MBS, Kitzberger CSG, Pereira LFP, Davrieux F, Pot D, Charmetant P, Leroy T. 2014. Application of Near infrared spectroscopy for green coffee biochemical phenotyping. *Journal of Near Infrared Spectroscopy* 22(6):411
- Tuominen J. 2014. Lean six sigma green belt -projekti. Saatavilla Paulig Group sisäisessä verkossa
- Wang X, Lim LT. 2017. Investigation of CO<sub>2</sub> precursors in roasted coffee. *Food Chemistry* 2019:185-192
- Wang N. 2012. Physicochemical changes of Coffee Beans During Roasting. *J Agric Food Chem* 60:5446-53
- Wei F, Tanokura M. 2015. Chemical changes in the components of coffee beans during roasting. *Coffee in health and disease prevention*:83-91
- Wentzell P, Montoto L. Comparison of principal components regression and partial least squares regression through generic simulations of complex mixtures. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems* 65 (2003):257–279

Williams P, Norris K. 1987. Near-Infrared technology in the Agricultural and Food Industries. 2. p. St. Paul, Minnesota: American Association of Cereal Chemists. 296 s.

## 6 LIITTEET

Liite 1. Keskippaahoisten näytteiden Post hoc -testi. Kirjaimet A, B, C, D, E edustavat eri tuotteita. Tuotteita on verrattu toisiinsa keskippaahoisten datan sisällä yksitellen. Jos Sig > 0,05 niin tuloksilla ei ole tilastollisesti merkitsevää eroa.

### Multiple Comparisons

Tukey HSD

| Dependent Variable | (I) Tuote | (J) Tuote | Mean             | Std. Error | Sig.  | 95% Confidence Interval |             |
|--------------------|-----------|-----------|------------------|------------|-------|-------------------------|-------------|
|                    |           |           | Difference (I-J) |            |       | Lower Bound             | Upper Bound |
| Tulos NIR          | A         | B         | .64331*          | .046214    | .000  | .51605                  | .77056      |
|                    |           | C         | 1.04733*         | .052573    | .000  | .90257                  | 1.19210     |
|                    |           | D         | .64530*          | .048426    | .000  | .51195                  | .77864      |
|                    |           | E         | 1.74900*         | .072640    | .000  | 1.54898                 | 1.94902     |
|                    | B         | A         | -.64331*         | .046214    | .000  | -.77056                 | -.51605     |
|                    |           | C         | .40403*          | .043411    | .000  | .28449                  | .52356      |
|                    |           | D         | .00199           | .038284    | 1.000 | -.10343                 | .10741      |
|                    |           | E         | 1.10569*         | .066311    | .000  | .92310                  | 1.28829     |
|                    | C         | A         | -1.04733*        | .052573    | .000  | -1.19210                | -.90257     |
|                    |           | B         | -.40403*         | .043411    | .000  | -.52356                 | -.28449     |
|                    |           | D         | -.40204*         | .045759    | .000  | -.52804                 | -.27604     |
|                    |           | E         | .70167*          | .070889    | .000  | .50647                  | .89687      |
|                    | D         | A         | -.64530*         | .048426    | .000  | -.77864                 | -.51195     |
|                    |           | B         | -.00199          | .038284    | 1.000 | -.10741                 | .10343      |
|                    |           | C         | .40204*          | .045759    | .000  | .27604                  | .52804      |
|                    |           | E         | 1.10370*         | .067871    | .000  | .91681                  | 1.29059     |
|                    | E         | A         | -1.74900*        | .072640    | .000  | -1.94902                | -1.54898    |
|                    |           | B         | -1.10569*        | .066311    | .000  | -1.28829                | -.92310     |
|                    |           | C         | -.70167*         | .070889    | .000  | -.89687                 | -.50647     |
|                    |           | D         | -1.10370*        | .067871    | .000  | -1.29059                | -.91681     |
| HUNTERLAB          | A         | B         | .62503*          | .043108    | .000  | .50633                  | .74373      |
|                    |           | C         | 1.01906*         | .049039    | .000  | .88402                  | 1.15409     |
|                    |           | D         | .68581*          | .045171    | .000  | .56143                  | .81020      |
|                    |           | E         | 1.68767*         | .067757    | .000  | 1.50109                 | 1.87424     |
|                    | B         | A         | -.62503*         | .043108    | .000  | -.74373                 | -.50633     |
|                    |           | C         | .39403*          | .040493    | .000  | .28253                  | .50553      |
|                    |           | D         | .06079           | .035711    | .435  | -.03755                 | .15912      |
|                    |           | E         | 1.06264*         | .061854    | .000  | .89232                  | 1.23296     |
|                    | C         | A         | -1.01906*        | .049039    | .000  | -1.15409                | -.88402     |
|                    |           | B         | -.39403*         | .040493    | .000  | -.50553                 | -.28253     |
|                    |           | D         | -.33324*         | .042683    | .000  | -.45077                 | -.21571     |
|                    |           | E         | .66861*          | .066124    | .000  | .48653                  | .85069      |
|                    | D         | A         | -.68581*         | .045171    | .000  | -.81020                 | -.56143     |

|   |   |           |         |      |          |          |
|---|---|-----------|---------|------|----------|----------|
|   | B | -.06079   | .035711 | .435 | -.15912  | .03755   |
|   | C | .33324*   | .042683 | .000 | .21571   | .45077   |
|   | E | 1.00185*  | .063309 | .000 | .82752   | 1.17618  |
| E | A | -1.68767* | .067757 | .000 | -1.87424 | -1.50109 |
|   | B | -1.06264* | .061854 | .000 | -1.23296 | -.89232  |
|   | C | -.66861*  | .066124 | .000 | -.85069  | -.48653  |
|   | D | -1.00185* | .063309 | .000 | -1.17618 | -.82752  |

Liite 2. Vaaleiden tuotteiden Post hoc -testi. Kirjaimet A, B, C ja D edustavat eri tuotteita. Tuotteita on verrattu toisiinsa vaaleapahtoisten datan sisällä yksitellen. Jos Sig > 0,05 niin tuloksilla ei ole tilastollisesti merkitsevää eroa.

### Multiple Comparisons

Tukey HSD

| Dependent Variable | (I) Tuote | (J) Tuote | Mean Difference (I-J) |            | Sig. | 95% Confidence Interval |             |
|--------------------|-----------|-----------|-----------------------|------------|------|-------------------------|-------------|
|                    |           |           |                       | Std. Error |      | Lower Bound             | Upper Bound |
| Tulos NIR          | A         | B         | .47959*               | .038499    | .000 | .37972                  | .57947      |
|                    |           | C         | 1.08162*              | .045398    | .000 | .96385                  | 1.19939     |
|                    |           | D         | 2.91089*              | .043269    | .000 | 2.79864                 | 3.02314     |
|                    | B         | A         | -.47959*              | .038499    | .000 | -.57947                 | -.37972     |
|                    |           | C         | .60203*               | .046249    | .000 | .48205                  | .72201      |
|                    |           | D         | 2.43130*              | .044162    | .000 | 2.31673                 | 2.54586     |
|                    | C         | A         | -1.08162*             | .045398    | .000 | -1.19939                | -.96385     |
|                    |           | B         | -.60203*              | .046249    | .000 | -.72201                 | -.48205     |
|                    |           | D         | 1.82927*              | .050290    | .000 | 1.69881                 | 1.95973     |
|                    | D         | A         | -2.91089*             | .043269    | .000 | -3.02314                | -2.79864    |
|                    |           | B         | -2.43130*             | .044162    | .000 | -2.54586                | -2.31673    |
|                    |           | C         | -1.82927*             | .050290    | .000 | -1.95973                | -1.69881    |
| HUNTERLAB          | A         | B         | .48828*               | .042675    | .000 | .37757                  | .59898      |
|                    |           | C         | 1.10598*              | .050322    | .000 | .97544                  | 1.23653     |
|                    |           | D         | 2.89828*              | .047962    | .000 | 2.77385                 | 3.02270     |
|                    | B         | A         | -.48828*              | .042675    | .000 | -.59898                 | -.37757     |
|                    |           | C         | .61771*               | .051265    | .000 | .48471                  | .75070      |
|                    |           | D         | 2.41000*              | .048951    | .000 | 2.28301                 | 2.53699     |
|                    | C         | A         | -1.10598*             | .050322    | .000 | -1.23653                | -.97544     |
|                    |           | B         | -.61771*              | .051265    | .000 | -.75070                 | -.48471     |
|                    |           | D         | 1.79229*              | .055744    | .000 | 1.64768                 | 1.93690     |

|   |   |           |         |      |          |          |
|---|---|-----------|---------|------|----------|----------|
| D | A | -2.89828* | .047962 | .000 | -3.02270 | -2.77385 |
|   | B | -2.41000* | .048951 | .000 | -2.53699 | -2.28301 |
|   | C | -1.79229* | .055744 | .000 | -1.93690 | -1.64768 |

Liite 3. Tummiin tuotteiden Post hoc -testi. Kirjaimet A, B, C, D, E, F ja G edustavat eri tuotteita. Tuotteita on verrattu toisiinsa yksitellen. Jos Sig > 0,05 niin tuloksilla ei ole tilastollisesti merkitsevää eroa.

### Multiple Comparisons

Tukey HSD

| Dependent Variable | (I) Tuote | (J) Tuote | Mean             | Std. Error | Sig.     | 95% Confidence Interval |             |
|--------------------|-----------|-----------|------------------|------------|----------|-------------------------|-------------|
|                    |           |           | Difference (I-J) |            |          | Lower Bound             | Upper Bound |
| Tulos NIR          | A         | B         | 1.29722*         | .031453    | .000     | 1.20345                 | 1.39099     |
|                    |           | C         | 1.77681*         | .035862    | .000     | 1.66989                 | 1.88372     |
|                    |           | D         | -.48028*         | .035862    | .000     | -.58719                 | -.37337     |
|                    |           | E         | 3.56611*         | .039785    | .000     | 3.44750                 | 3.68472     |
|                    |           | F         | .50889*          | .035862    | .000     | .40198                  | .61580      |
|                    |           | G         | 1.24833*         | .039785    | .000     | 1.12972                 | 1.36694     |
|                    |           | B         | A                | -1.29722*  | .031453  | .000                    | -1.39099    |
|                    | C         |           | .47958*          | .038522    | .000     | .36474                  | .59443      |
|                    | D         |           | -1.77750*        | .038522    | .000     | -1.89234                | -1.66266    |
|                    | E         |           | 2.26889*         | .042198    | .000     | 2.14309                 | 2.39469     |
|                    | F         |           | -.78833*         | .038522    | .000     | -.90318                 | -.67349     |
|                    | G         |           | -.04889          | .042198    | .909     | -.17469                 | .07691      |
|                    | C         |           | A                | -1.77681*  | .035862  | .000                    | -1.88372    |
|                    |           | B         | -.47958*         | .038522    | .000     | -.59443                 | -.36474     |
|                    |           | D         | -2.25708*        | .042198    | .000     | -2.38289                | -2.13128    |
|                    |           | E         | 1.78931*         | .045580    | .000     | 1.65342                 | 1.92519     |
|                    |           | F         | -1.26792*        | .042198    | .000     | -1.39372                | -1.14211    |
|                    |           | G         | -.52847*         | .045580    | .000     | -.66436                 | -.39259     |
|                    |           | D         | A                | .48028*    | .035862  | .000                    | .37337      |
|                    | B         |           | 1.77750*         | .038522    | .000     | 1.66266                 | 1.89234     |
|                    | C         |           | 2.25708*         | .042198    | .000     | 2.13128                 | 2.38289     |
|                    | E         |           | 4.04639*         | .045580    | .000     | 3.91051                 | 4.18227     |
|                    | F         |           | .98917*          | .042198    | .000     | .86336                  | 1.11497     |
|                    | G         |           | 1.72861*         | .045580    | .000     | 1.59273                 | 1.86449     |
|                    | E         |           | A                | -3.56611*  | .039785  | .000                    | -3.68472    |
|                    |           | B         | -2.26889*        | .042198    | .000     | -2.39469                | -2.14309    |
|                    |           | C         | -1.78931*        | .045580    | .000     | -1.92519                | -1.65342    |
|                    |           | D         | -4.04639*        | .045580    | .000     | -4.18227                | -3.91051    |
| F                  |           | -3.05722* | .045580          | .000       | -3.19311 | -2.92134                |             |

|           |   |   |           |         |      |          |          |
|-----------|---|---|-----------|---------|------|----------|----------|
|           |   | G | -2.31778* | .048727 | .000 | -2.46304 | -2.17251 |
|           | F | A | -.50889*  | .035862 | .000 | -.61580  | -.40198  |
|           |   | B | .78833*   | .038522 | .000 | .67349   | .90318   |
|           |   | C | 1.26792*  | .042198 | .000 | 1.14211  | 1.39372  |
|           |   | D | -.98917*  | .042198 | .000 | -1.11497 | -.86336  |
|           |   | E | 3.05722*  | .045580 | .000 | 2.92134  | 3.19311  |
|           |   | G | .73944*   | .045580 | .000 | .60356   | .87533   |
|           | G | A | -1.24833* | .039785 | .000 | -1.36694 | -1.12972 |
|           |   | B | .04889    | .042198 | .909 | -.07691  | .17469   |
|           |   | C | .52847*   | .045580 | .000 | .39259   | .66436   |
|           |   | D | -1.72861* | .045580 | .000 | -1.86449 | -1.59273 |
|           |   | E | 2.31778*  | .048727 | .000 | 2.17251  | 2.46304  |
|           |   | F | -.73944*  | .045580 | .000 | -.87533  | -.60356  |
| HUNTERLAB | A | B | 1.26185*  | .040089 | .000 | 1.14234  | 1.38137  |
|           |   | C | 1.64310*  | .045708 | .000 | 1.50683  | 1.77937  |
|           |   | D | -.45023*  | .045708 | .000 | -.58650  | -.31396  |
|           |   | E | 3.51130*  | .050709 | .000 | 3.36012  | 3.66247  |
|           |   | F | .39935*   | .045708 | .000 | .26308   | .53562   |
|           |   | G | 1.06796*  | .050709 | .000 | .91679   | 1.21914  |
|           | B | A | -1.26185* | .040089 | .000 | -1.38137 | -1.14234 |
|           |   | C | .38125*   | .049098 | .000 | .23488   | .52762   |
|           |   | D | -1.71208* | .049098 | .000 | -1.85846 | -1.56571 |
|           |   | E | 2.24944*  | .053785 | .000 | 2.08910  | 2.40979  |
|           |   | F | -.86250*  | .049098 | .000 | -1.00887 | -.71613  |
|           |   | G | -.19389*  | .053785 | .007 | -.35423  | -.03354  |
|           | C | A | -1.64310* | .045708 | .000 | -1.77937 | -1.50683 |
|           |   | B | -.38125*  | .049098 | .000 | -.52762  | -.23488  |
|           |   | D | -2.09333* | .053785 | .000 | -2.25368 | -1.93299 |
|           |   | E | 1.86819*  | .058094 | .000 | 1.69500  | 2.04139  |
|           |   | F | -1.24375* | .053785 | .000 | -1.40410 | -1.08340 |
|           |   | G | -.57514*  | .058094 | .000 | -.74833  | -.40195  |
|           | D | A | .45023*   | .045708 | .000 | .31396   | .58650   |
|           |   | B | 1.71208*  | .049098 | .000 | 1.56571  | 1.85846  |
|           |   | C | 2.09333*  | .053785 | .000 | 1.93299  | 2.25368  |
|           |   | E | 3.96153*  | .058094 | .000 | 3.78833  | 4.13472  |
|           |   | F | .84958*   | .053785 | .000 | .68924   | 1.00993  |
|           |   | G | 1.51819*  | .058094 | .000 | 1.34500  | 1.69139  |
|           | E | A | -3.51130* | .050709 | .000 | -3.66247 | -3.36012 |
|           |   | B | -2.24944* | .053785 | .000 | -2.40979 | -2.08910 |
|           |   | C | -1.86819* | .058094 | .000 | -2.04139 | -1.69500 |
|           |   | D | -3.96153* | .058094 | .000 | -4.13472 | -3.78833 |
|           |   | F | -3.11194* | .058094 | .000 | -3.28514 | -2.93875 |

|   |   |           |           |         |          |          |
|---|---|-----------|-----------|---------|----------|----------|
|   | G | -2.44333* | .062105   | .000    | -2.62848 | -2.25818 |
| F | A | -.39935*  | .045708   | .000    | -.53562  | -.26308  |
|   | B | .86250*   | .049098   | .000    | .71613   | 1.00887  |
|   | C | 1.24375*  | .053785   | .000    | 1.08340  | 1.40410  |
|   | D | -.84958*  | .053785   | .000    | -1.00993 | -.68924  |
|   | E | 3.11194*  | .058094   | .000    | 2.93875  | 3.28514  |
|   | G | .66861*   | .058094   | .000    | .49542   | .84180   |
|   | G | A         | -1.06796* | .050709 | .000     | -1.21914 |
| B |   | .19389*   | .053785   | .007    | .03354   | .35423   |
| C |   | .57514*   | .058094   | .000    | .40195   | .74833   |
| D |   | -1.51819* | .058094   | .000    | -1.69139 | -1.34500 |
| E |   | 2.44333*  | .062105   | .000    | 2.25818  | 2.62848  |
| F |   | -.66861*  | .058094   | .000    | -.84180  | -.49542  |