



Bestämning av antocyaniner, Brix och torrhalt i blåbär med NIR-spektroskopi

Determination of anthocyanins, Brix and dry solids in blueberries with NIR spectroscopy

**Josefina Nyström, Torgny Mossing, Paul Geladi
och Åke Jåfs**

Rapport 1 2015



Bestämning av antocyaniner, Brix och torrhalt i blåbär med NIR-spektroskopi

Determination of anthocyanins, Brix and dry solids in blueberries with NIR spectroscopy

Josefina Nyström, Torgny Mossing, Paul Geladi,
och Åke Jåfs

Keywords: NIR, blåbär, PCA, PLS, antocyaniner.

Rapport 1 2015

Sveriges lantbruksuniversitet
Institutionen för skogens biomaterial och teknologi
Utgivningsort: Umeå
Utgivningsår: 2015
Rapport från Institutionen för skogens biomaterial och teknologi

Innehållsförteckning

Populärvetenskaplig sammanfattning	3
English summary	3
Introduktion	5
Utförande och resultat	5
Bakgrundsstudie	5
Blåbär Umeå 2014	6
Provtagningsaspekter	6
ANOVA analys	7
NIR-spektra på blåbär	8
Multivariat kalibrering	8
Diskussion	10
Litteratur	10
Appendix 1 – Beskrivning av Keteks analysmetod	11
Appendix 2 – Analysdata från Ketek	12

Populärvetenskaplig sammanfattning

Bärindustrin är beroende av insamling av plockade bär. Bären används färska eller processade i t.ex. läskedrycker, kosmetika och i närings supplement. Bären som används varierar i sammansättning under den relativt korta växtsäsongen. Detta betyder att utbytet av slutprodukter varierar stort. Bärens kvalitet kan mätas noggrant med våtkemiska metoder på laboratorium men dessa metoder är långsamma och dyra. En enkel och snabb mätmetod vore därför önskvärd. I projektet jämför vi laboratoriets analysmetoder med nära infraröd spektroskopi (NIR). Denna teknik kan göras bärbar för bruk i fält och ger snabba resultat (ofta inom 2 minuter).

En systematisk studie utfördes under några månader sommaren 2014. Bär samlades in i Sverige och Finland med regelbundna intervall. NIR mättes på bären innan de skickades till ett laboratorium för analys. NIR mättes på färska, hela, homogeniserade bär samt på tinade bär efter infrysning.

Resultaten från studien visade att vissa blåbäregenskaper kan mätas direkt med NIR på färska bär. För homogeniserade färska bär är det möjligt att beräkna laboratoriets resultat från NIR spektra. Mätningar på lagrade frysta bär gav inga användbara resultat.

Detta betyder att det borde gå att bygga en kalibreringsmodell för homogeniserade färska bär som möjliggör NIR mätning och beräkning av viktiga egenskaper i fält väldigt snabbt.

English summary

Berries are used for producing a wide variety of products: fresh berries, beverages based on berry juice and powders used in cosmetics and health supplements. The berry industry depends on the collection of wild-growing berries in the forest during a growing season and there is a variation in concentration of important substances over this growing season. Usually there is an optimal time during the season when the berries are most rich in antioxidants. The traditional quality measurement is done by wet chemical methods that are accurate but slow and expensive and therefore it would be desirable to have a faster and cheaper method. In the project we compared wet chemical methods of analysis with near infrared spectroscopy (NIR). This technique can be used in the field and gives fast results (within 2 minutes).

A systematic study was carried out under a growing season in Finland and Sweden. Bilberries were collected in the field with regular intervals. The berries were measured by NIR spectroscopy and then sent for chemical analysis. The study also included storage and homogenization tests. The important variables for describing bilberries are anthocyanin content, degrees brix and dry solids. As for the treatments of the berries, NIR measurement on homogenized fresh berries worked best and with whole berries the results were slightly worse. The results for frozen berries were less useful.

The NIR data obtained were analyzed in exploratory fashion by PCA analysis. This is fast analysis which often can show preliminary results. A trend with time could be observed. The lab

data results were analyzed by ANOVA. Significant results were obtained for antioxidant concentrations, but not for dry solids. Regression analysis between NIR spectra and lab results showed that NIR can be used to predict certain properties of homogenized fresh berries. The present study was a small scale study carried out during only one growing season. It worked very well as a proof of principle study. For better models relating NIR spectra to lab results, larger studies over more growing seasons will be needed.

Introduktion

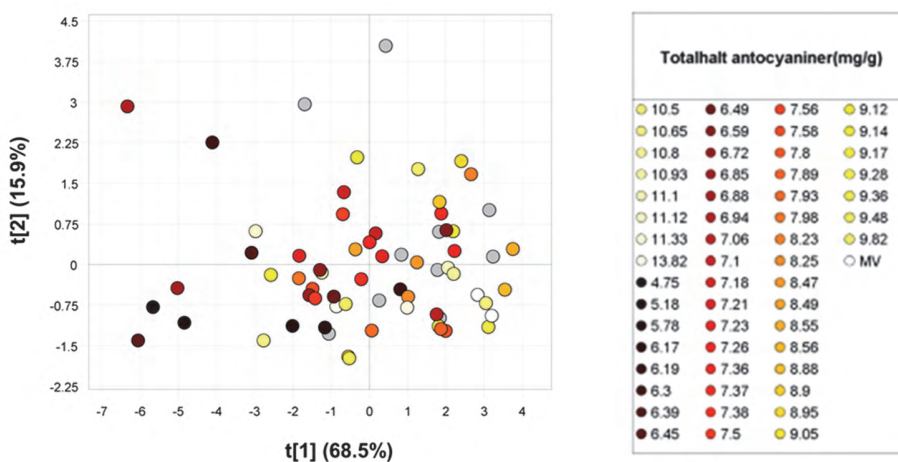
Målet med studien var att undersöka om nära infraröd spektroskopi (NIR) kan användas för att mäta antocyaniner, brix, och vattenhalt i blåbär. Antocyaniner mäts idag spektroskopiskt på lab, men den nuvarande mätmetoden är tidkrävande och förbrukar kemikalier. Om det är möjligt att mäta antocyaniner med NIR skulle det både vara tidsbesparande, bättre för miljön samt ge helt nya möjligheter till snabb klassificering av bärkvalitet. Denna metod skulle spara pengar och tid vilket skulle förenkla skapandet av nya produkter inom functional food och nya möjligheter att kunna välja bär av olika kvalitet till olika produkter. I denna studie har vi mätt på ett äldre material insamlat och analyserat av SIK hösten 2012 [1] samt ett färskt material som vi plockat under sommaren/hösten 2014.

Utförande och resultat

Bakgrundsstudie

Från SIK fick vi tillgång till blåbär med kända halter av antocyanin. Bärens insamling och studien på dessa skedde under hösten 2012 [1]. Blåbären var lagrade i plastburkar i frys och det uppmärksammades att proverna hade klarat infrysningen olika bra. Under 2014 homogeniserades bären och NIR mättes på de prov som för ögat såg ut att ha klarat lagringen någorlunda. Dock hade flertalet av proverna mycket frost på bären.

NIR spektra mättes med en Tec5 handspec utrustad med en reflektansprob mellan 305 och 2200 nm med en upplösning på 10 nm. Våglängderna under 355 nm och över 1850 nm uteslöts pga. brus. För att minska oönskad information om ljusspridning och baslinje förskjutning provades olika förbehandlingsmetoder så som SNV, MSC och Savitzky-Golay på NIR matrisen (67 x 1491). Tyvärr sågs inget tydligt samband mellan de på lab uppmätta parametrarna och NIR-spektrumet. I *fig. 1* ser man en svag trend att prover med låg halt antocyaniner har lägre värden i t_1 och t_2 .



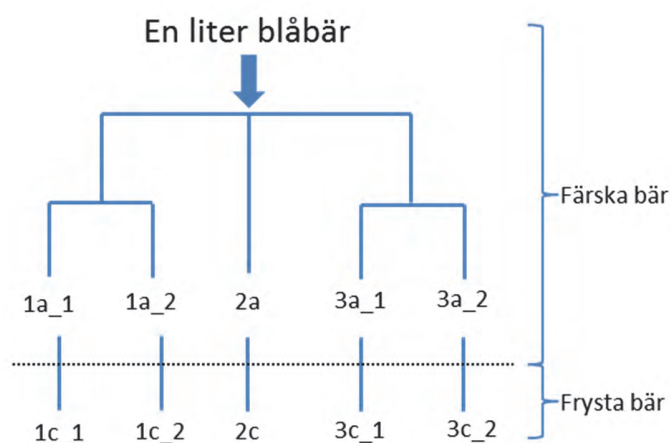
Figur 1: PCA scoreplott som visar mängder antocyaniner i SIK's frysta blåbär

Blåbär Umeå 2014

Provtagningsaspekter

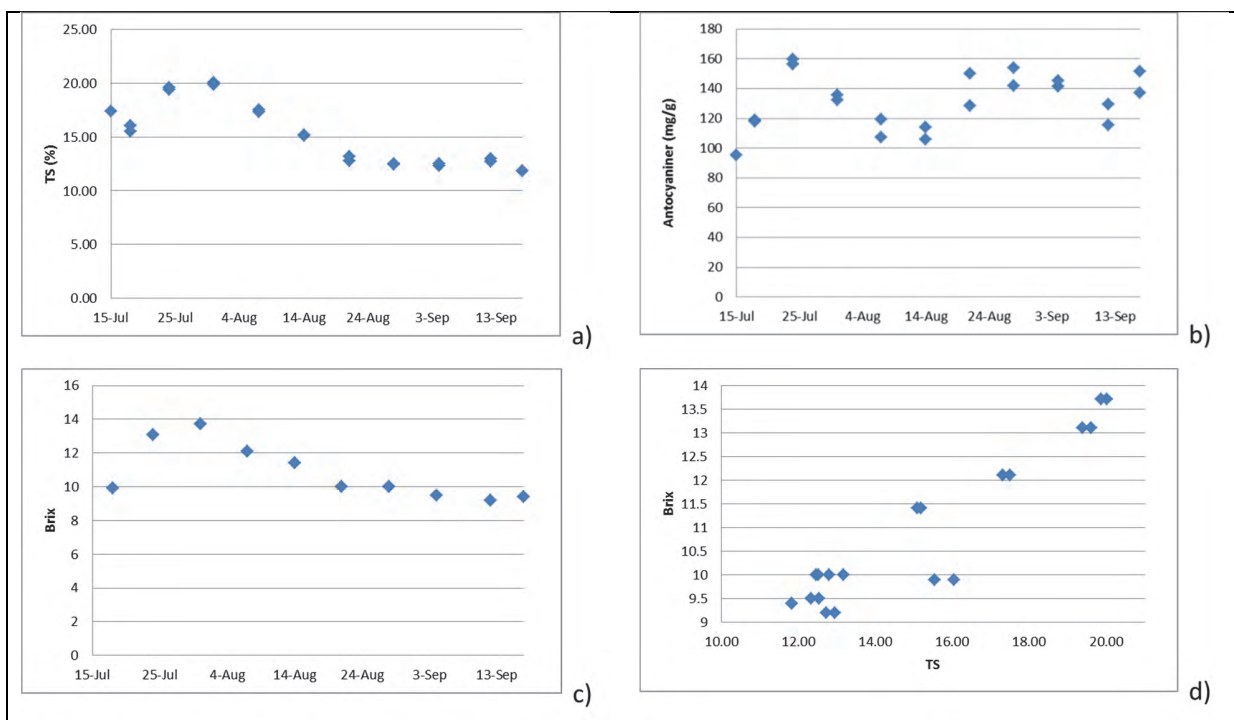
För att se hur kvalitén på blåbär varierar under bärsäsongen valdes ett område rikt på blåbär där en liter blåbär plockades varje vecka från 15 juli till 17 september 2014. För att få ett representativt prov plockades bären slumpvis över hela provtagningsområdet vid varje provtagningsstillfälle. Bären rensades och ”bärpinnarna” plockades bort från bären.

Bär är ett relativt heterogent material.[2] Vid mätning av hela bär måste signalen över ett stort antal bär integreras för att kunna ge ett statistiskt relevant medelvärde. Mätningar utfördes på hela och homogeniserade bär, på de färska bären direkt efter plockning och sedan efter frysning och upptining (se fig. 2).



Figur 2: De plockade bären delades upp i 5 delprov. Hela bär med replikat (prov 1 och 3) samt homogeniserade bär (prov 2).

Ett av proven (prov 2) homogeniserades de övriga behölls som hela bär (prov 1 och 3). Två prov per datum (prov 3_1 och 3_2) skickades till Ketek (Kokkola, Finland) där analyser gjordes för halterna av antocyaniner (Delphinidinklorid, Cyanidinklorid, Petunidinklorid och Pelargonidinklorid) samt TS på bären. I *appendix 1* beskrivs Keteks analysmetod för bestämning av antocyaniner och i *appendix 2* visas resultaten för de analyserade proven. Utöver Keteks mätningar mättes brix på de homogeniserade frysta bären efter upptining med en Brix 53 (prov 2c). I *figur 3a* och *3c* ser man att TS och brix ökar i början av säsongen för att sedan minska och stabiliseras. *Figur 3d* visar hur brix varierar med TS och i *3b* visas hur halten antocyaniner varierar under säsongen



Figur 3: TS (3a) antocyaniner (3b) och brix (3c) variation under försöksperioden (3d) brix vs. TS under försöksperioden.

ANOVA analys

Den kemiska analysen utförd av Ketek innehåller duplikat och replikat. Med hjälp av dessa kan man göra en ANOVA (ANalysis Of Variance) analys. Detta ger en uppfattning om statistisk signifikans av de mätta resultaten. I tabell 1 ses En ANOVA tabell för tre substanser mätta i studien (cyanidinklorid, antocyanidin och TS). Materialet baseras på 10 provtagningar över tid (systematisk information) och 4 analysreplikater av de båda cyanidinerna och 2 replikat för TS.

Tabell 1. ANOVA tabell för cyanidinklorid, antocyaniner och TC.

Analys	Källa	kvadratsumma	frihetsgrader	varians	F
Cyanidin	TOTAL	8322			
	Systematisk	7571	9	841	33.6
	Replikater	751	30	25	
Antocyaniner total	TOTAL	11054			
	Systematisk	9633	9	1070	22.7
	Replikater	1421	30	47	
TS	TOTAL	171			
	Systematisk	122	9	13.6	2.8
	Replikater	49	10	4.9	

F-värdet för 9 och 30 frihetsgrader blir 2.2 för 5 %, 3.1 för 1 % och 4.39 för 0.1 % signifikans. Detta betyder att resultaten för Cyanidinklorid och antocyaniner total är väldigt signifikanta. För

9 och 10 frihetsgrader blir det 3 för 5 %, 4.9 för 1 % och 8.9 för 0.1 % detta innebär att varianser i TS är inte signifikant bättre än slumpvariationer.

NIR-spektra på blåbär

Liksom i bakgrundsstudien mättes NIR med Tec5 handyspec. Samtliga prover mättes innan frysning (prov a), prov 1c och 2c mättes efter frysning och upptining, *se fig. 2*.

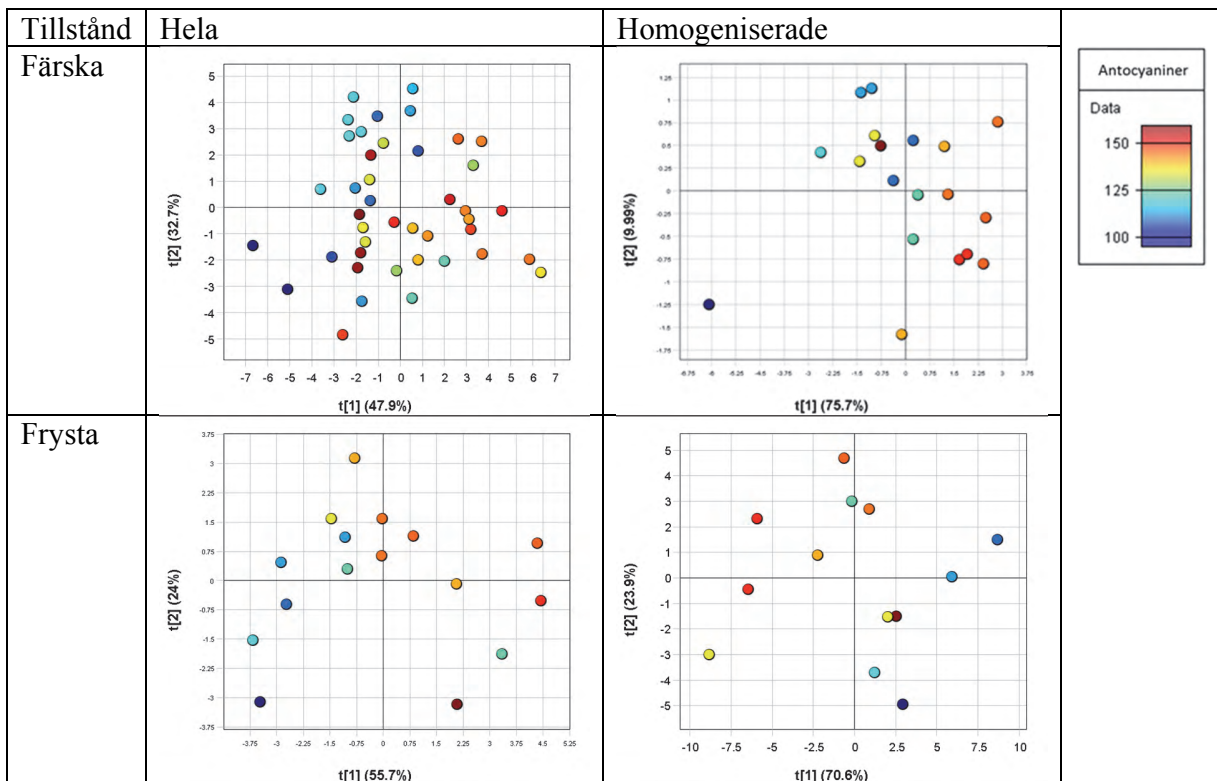
Multivariat kalibrering

Spektrumen sattes samman i fyra matriser (hela färska bär, homogeniserade färska bär, frysta hela bär och homogeniserade frysta bär). Det spektrala området över 1870 nm var brusigt och uteslöts därför. Principal Component Analys (PCA) beräknades på matriserna och ”outliers” utslöts innan replikaten medelvärddades. *Tabell 2* visar matrisernas storlek efter att replikaten medelvärddats.

Tabell 2: Storlek på de analyserade medelvärdes matriser

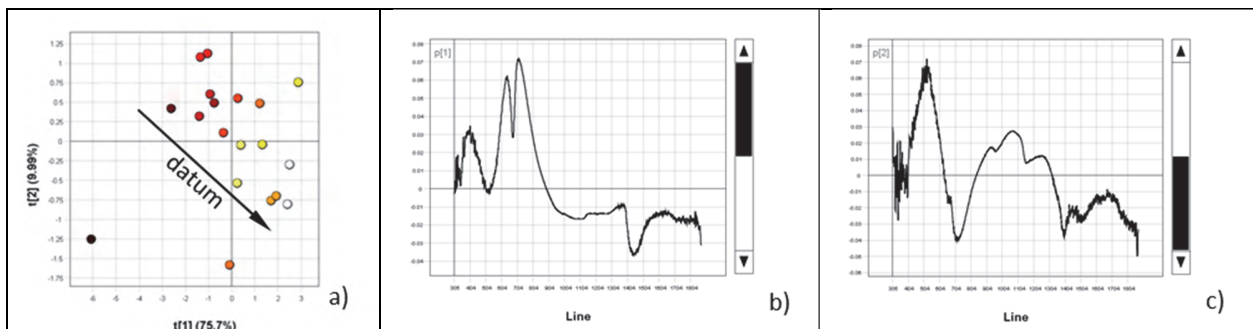
	Tillstånd	Provbeteckning	Matris storlek
Färska	hela bär	1a 1, 1a 2, 3a 1, 3a 2	42x1566
	homogeniserade bär	2a	19x1566
Frysta	hela bär	1c 1, 1c 2	16x1566
	homogeniserade bär	2c	13x1566

Datat centerades och PCA beräknades för de fyra matriserna. I scoreplottarna (fig. 4) kunde man skönja att för de hela och homogeniserade färska bären hade proven med högre antocyaninhalt högre värden i t1, för de frysta hela bären högre värden i t1/t2 och de frysta homogeniserade hade lägre värden i t1/t2.



Figur 4: PCA scoreplottar för färsk/frysta/hela/homogeniserade bär

En tydligare trend för när bären var plockade ses i PCA scoreplott för t1/t2 (se fig. 5a). Loadingplottar visar vilka delar av spektrumen som är viktiga för separationen i t1 (fig. 5b) och i t2 (fig. 5c). I fig. 5c ses en tydlig topp för antocyanin vid 520 nm.



Figur 5: a) PCA scoreplott för t1/t2 som visar hur bären förändras under plockperioden b-c) loadingplottar visar vilka våglängder som är viktiga för separationen som ses i scoreplotten.

Partial least squares regression (PLS) beräknades för samtliga modeller mot de uppmätta antocyanin halterna, TS, och brix. För en prediktionsmodell bör antalet komponenter vara max $A = \sqrt{n} + 2$ och för att en modell ska vara bra ska $R^2Y > 0.9$ och $Q^2Y > 0.5$. Med dessa

kriterier visade sig att det endast var möjligt att prediktera färska homogeniserade bär, det är möjligt att det även skulle ha varit möjligt för frysta homogeniserade bär om fler mätningar hade gjorts. Med fem komponenter erhöles tillfredställande Q2Y- och R2Y-värden för Cyanidinklorid, antocyaniner och TS, men efter som datasetet var så litet kan fem komponenter vara i överkant. Med max fyra komponenter hade samtliga fortfarande godkända Q2Y-värden men R2Y värdena blev för små för alla utom antocyaniner, *se tabell 3*.

Tabell 3: Prediktionstabell för homogeniserade färska bär (19 x1566)

Analys	A = 5			A ≥ 4		
	A	R2X_Cum	Q2Y_Cum	A	R2Y_Cum	Q2Y_Cum
Cyanidinlorid (mg/g)	5	0.97	0.82	4	0.88	0.52
Antocyaniner totalt (mg/g)		0.97	0.80	4	0.90	0.54
TS (%)		0.96	0.69	2	0.75	0.56

Diskussion

I denna studie visades det vara möjligt att prediktera halten antocyaniner i färska homogeniserade bär med NIR. Det var svårare att bestämma halten antocyaniner och TS i hela bär eftersom att man får oönskad information om ljusspridning som beror på bärens form. Det var inte heller möjligt att bestämma antocyaniner i frysta blåbär. Att mäta på frysta hela bär bedöms inte vara möjligt eftersom frysta bär alltid har fryst vatten på ytan vilket stör mätningen för mycket. Troligtvis skulle det vara möjligt att mäta på homogeniserade frysta bär men underlaget var allt för litet i denna studie. Det bedöms inte heller vara möjligt att mäta på upptinade hela bär eftersom bärens cellväggar förstörs vid infrysning vilket medför att bärsaft rinner från bären vid upptining. Resultaten från studien visar att bestämning av antocyaniner och TS m.h.a. NIR och multivariata metoder var lovande för homogeniserade färska bär. Ett större material behövs dock för att fastställa om NIR är en lämplig metod. Även om det skulle vara nödvändigt att homogenisera bären före analys skulle denna mätmetod ändå vara en stor vinning för företagen då det skulle snabba på analyserna och minska kemikalieförbrukningen vilket skulle innebära minskade analyskostnader.

Tack

Vi vill tacka Botnia-Atlantica, Region Västerbotten och Österbottens förbund för finansiering som möjliggjort projektet. Vi vill också tacka SIK för att de tillhandahållit blåbär till vår bakgrundsstudie. Vidare vill vi tacka Tom Lillhonga på Novia för ett gott samarbete vid planeringen av studien samt givande diskussioner under data utvärderingen.

Litteratur

- [1] Stolt, J. The effects of harvest time and place on the concentrations of active substance of Swedish forest berries, Examensarbete, Högskolan i Borås (4) 2013
 [2] Bai, W. Yoshimura, N. Takayanagi, M. Quantitative analysis of ingredients of blueberryfruits by near infrared spectroscopy. J. Near Infrared Spectrosc. 22, 357–365 (2014)

Appendix 1 – Beskrivning av Keteks analysmetod

De frysta bären tinades och vägdes innan frystorkning och malning.

De torkade bären vägdes (TS)

Extraktionslösning som består av metanol, vatten och saltsyra tillsattes och extraktionen utfördes i ultraljudsbad

Proverna hydrolyserades i 100°C, 60 min

Därefter filtrerades proverna genom filter med 0,45 µm maskvidd

Mätning med HPLC och antocyaninstandarder

-Beräkning av resultat

Appendix 2 – Analysdata från Ketek

LASKENTA									
Näyte	Tuoreiden mustikoiden kokonaismassa (g)	Kuivattujen mustikoiden kokonaismassa (g)	Kuiva-ainepitoisuus (m%)	Analyysi	Antosyanidin massa uttötillavudessa (mg)				
					Uuttoon punnittu mustikkajauheen määrä (g)	Delphinidin chloride	Cyanidin chloride	Petunidin chloride	Pelargonidin chloride
1 18/7 K 16-18, K 3a	67.68	10.86	16.05	Mittaus 1 Mittaus 2	0.50965 0.51780	0.03787 0.03994	2.74862 2.75627	0.96837 0.95281	0.05430 0.05436
2 31/7 K 64-66, NIR 3a 140731	54.27	10.78	19.86	Mittaus 1 Mittaus 2	0.50409 0.49735	0.03679 0.03697	2.19168 2.20927	1.04074 1.04955	0.05545 0.05596
3 31/7 K 61-63, NIR 3 140731	67.20	13.45	20.01	Mittaus 1 Mittaus 2	0.49790 0.50215	0.03695 0.03736	2.15558 2.28539	1.05816 1.09959	0.04612 0.05160
4 14/8 K 100-102m, NIR 3	64.14	9.74	15.19	Mittaus 1 Mittaus 2	0.50318 0.51374	0.03743 0.03752	2.05840 2.03538	1.41594 1.41737	0.04884 0.04798
5 K 340-342 NIR 3a 140828	66.55	8.29	12.46	Mittaus 1 Mittaus 2	0.50811 0.54446	0.03419 0.00000	4.20262 4.57058	1.93582 2.14316	0.06194 0.05213
6 K 289-291 NIR 3a 140821	61.51	8.10	13.17	Mittaus 1 Mittaus 2	0.49774 0.49863	0.04694 0.04110	3.23104 3.33563	1.45149 1.50606	0.06446 0.05734
7 K 286-288 NIR 3a 140821	57.90	7.41	12.80	Mittaus 1 Mittaus 2	0.50390 0.51853	0.04580 0.04579	4.08310 4.10639	1.74366 1.83265	0.06911 0.05268
8 K 343-345 NIR 3a 140828	77.37	9.68	12.51	Mittaus 1 Mittaus 2	0.49779 0.52088	0.00000 0.03404	3.68900 3.88974	1.94866 2.00974	0.00000 0.00000
9 24/7 K2, NIR 3A, 2K 34-36	63.99	12.54	19.60	Mittaus 1 Mittaus 2	0.47916 0.47025	0.00000 0.00000	2.51552 2.80442	1.07734 1.17568	0.00000 0.00000
10 4/9 K 388-390, NIR 3a 140904	67.60	8.33	12.32	Mittaus 1 Mittaus 2	0.52851 0.53045	0.03359 0.03375	4.17598 4.16314	1.95782 1.97938	0.06008 0.06061
11 K 15.7 28,08 g	59.96	10.40	17.34	Mittaus 1 Mittaus 2	0.50673 0.49652	0.00000 0.00000	1.83262 1.85454	0.91100 0.90774	0.00000 0.00000
12 4/9 K385-387, NIR 3a 140904	68.53	8.58	12.52	Mittaus 1 Mittaus 2	0.49282 0.49552	0.04624 0.04628	3.78758 3.73959	1.70390 1.76205	0.05067 0.06818
13 18/7 3a K 19-21	69.50	10.79	15.53	Mittaus 1 Mittaus 2	0.51586 0.51694	0.03922 0.03778	2.78569 2.92367	0.95199 1.01008	0.05592 0.04679
14 I 140807 K, NIR 3a	64.56	11.29	17.49	Mittaus 1 Mittaus 2	0.48199 0.51451	0.00000 0.03235	2.01052 2.15022	1.22428 1.35288	0.00000 0.03880
15 NIR 3 14/8 K 97-99	69.96	10.55	15.08	Mittaus 1 Mittaus 2	0.50739 0.50762	0.03769 0.03936	2.36097 2.27647	1.45189 1.41412	0.04947 0.04922
16 24/7 K1, 1 NIR 3 K31-33, vikt 82,62	62.27	12.07	19.38	Mittaus 1 Mittaus 2	0.54327 0.51691	0.00000 0.00000	3.06620 3.13598	1.20682 1.22082	0.04443 0.04433
17 2 140807 K, NIR 3a 2	61.27	10.60	17.30	Mittaus 1 Mittaus 2	0.50678 0.50436	0.00000 0.00000	2.02186 1.86824	1.22930 1.15288	0.00000 0.00000
18 DP7 UANPARKEN 15.7. KETEK	31.63	4.79	15.14	Mittaus 1 Mittaus 2	0.51839 0.52441	0.03995 0.03902	2.60934 2.67156	1.13983 1.20258	0.04742 0.04810
19 DP7 Ketek 1.9 GERBY	56.91	6.05	10.63	Mittaus 1 Mittaus 2	0.51887 0.52270	0.03442 0.03470	4.82514 4.67816	2.27566 2.21734	0.05307 0.06546
20 DP7 16.8 GERBY KETEK	72.49	9.09	12.54	Mittaus 1 Mittaus 2	0.50439 0.53207	0.00000 0.03298	4.07818 3.42316	1.85938 1.61742	0.04989 0.00000
21 DP8 23.8 GERBY	84.32	9.33	11.06	Mittaus 1 Mittaus 2	0.52054 0.51311	0.03401 0.03382	4.22548 4.20768	1.91720 1.92490	0.00000 0.00000
22 DP8 16.8 GERBY KETEK	65.56	8.15	12.43	Mittaus 1 Mittaus 2	0.50174 0.51643	0.03294 0.00000	4.24264 4.48410	2.01470 2.09634	0.05006 0.05086
23 DP8 23.7 GERBY	43.80	6.60	15.07	Mittaus 1 Mittaus 2	0.53514 0.53781	0.00000 0.03347	3.49820 3.37752	1.45464 1.43806	0.04096 0.00000
24 DP8 0907 GERBY	80.31	8.15	10.15	Mittaus 1 Mittaus 2	0.48968 0.49764	0.03520 0.03535	5.26852 5.29914	2.38080 2.39792	0.00000 0.05173
25 DP7 0907 GERBY KETEK	63.13	6.24	9.88	Mittaus 1 Mittaus 2	0.49617 0.50521	0.03636 0.00000	4.80376 5.22114	2.13678 2.23474	0.00000 0.00000
26 DP8 1.9 GERBY	63.98	6.87	10.74	Mittaus 1 Mittaus 2	0.51236 0.50353	0.03311 0.03273	4.83280 4.77368	2.10096 2.06822	0.04832 0.04837
27 DP8 1.8 GERBY	55.97	7.51	13.42	Mittaus 1 Mittaus 2	0.49526 0.49199	0.03048 0.03069	4.06228 4.06156	1.59810 1.59798	0.04423 0.04417
28 DP7 1.8 GERBY	61.84	8.45	13.66	Mittaus 1 Mittaus 2	0.50387 0.49679	0.00000 0.03040	3.80120 3.83126	1.56720 1.55310	0.04357 0.04394
29 DP7 23.7 GERBY	42.98	6.35	14.77	Mittaus 1 Mittaus 2	0.52719 0.51497	0.03018 0.00000	3.48622 3.44262	1.45234 1.44146	0.05219 0.04315
30 DP7 9.8 GERBY	74.98	9.29	12.39	Mittaus 1 Mittaus 2	0.50938 0.50586	0.00000 0.00000	3.46612 3.49062	1.60512 1.57940	0.04417 0.04394
31 DP8 9.8 GERBY	66.71	8.43	12.64	Mittaus 1 Mittaus 2	0.50465 0.50988	0.00000 0.00000	3.48018 3.48818	1.63080 1.63900	0.04433 0.04432
32 DP7 23.8 GERBY	74.15	8.21	11.07	Mittaus 1 Mittaus 2	0.51572 0.50278	0.03063 0.03084	4.04126 4.13406	1.95444 1.93014	0.00000 0.00000
33 DB 8 DERBY 0914 KETEK	70.63	6.88	9.74	Mittaus 1 Mittaus 2	0.49466 0.50872	0.04758 0.04457	5.43410 5.26493	2.08779 2.05777	0.06811 0.06939
34 DB 7 DERBY 0922	55.08	5.10	9.26	Mittaus 1 Mittaus 2	0.51558 0.51163	0.04727 0.04610	6.45607 6.29541	2.81731 2.71248	0.07447 0.06070
35 DB 7 DERBY 0914 KETEK	66.42	6.55	9.86	Mittaus 1 Mittaus 2	0.50764 0.52008	0.04547 0.03729	5.42114 5.08853	2.24180 2.13164	0.05924 0.05811
36 DB 8 DERBY 0922	63.94	6.12	9.57	Mittaus 1 Mittaus 2	0.51220 0.50972	0.04648 0.04553	6.41198 6.27906	2.30120 2.20982	0.05872 0.05779
37 NIR 3a 140917 487-489 K	67.42	7.97	11.82	Mittaus 1 Mittaus 2	0.52309 0.52175	0.04155 0.04132	4.38053 4.15846	1.74070 1.63656	0.06140 0.05146
38 NIR 3a 140912 430-432 K	69.63	8.86	12.72	Mittaus 1 Mittaus 2	0.58623 0.50482	0.03734 0.03625	3.41334 3.18687	1.60247 1.50297	0.05866 0.04815
39 NIR 3a 140917 484-486 K	77.28	9.13	11.81	Mittaus 1 Mittaus 2	0.50936 0.51842	0.04177 0.04178	4.64272 4.64627	1.82259 1.84072	0.06145 0.06215
40 NIR 3a 140912 433-435 K	80.02	10.36	12.95	Mittaus 1 Mittaus 2	0.49952 0.52292	0.03858 0.03242	3.35447 3.34327	1.66264 1.67967	0.04945 0.04910
		Keskiarvo	13.55						
		Keskiahajonta	2.96						
		Keskiahajonta %	21.86						

Partners:



Finansiärer:



Gränsöverskridande samarbete över fjäll och hav
Meret, vuoret ja rajat ylittävä yhteistyö
Grenseoverskridende samarbeid over fjell og hav
Cross-border cooperation over mountain and sea

EUROPEISKA UNIONEN
Europeiska regionala
utvecklingsfonden

www.botnia-atlantica.eu



REGION
VÄSTERBOTTEN



EUROPEISKA UNIONEN
Europeiska regionala utvecklingsfonden



Österbottens förbund
Pohjanmaan liitto