



**MICHELLE CONCEIÇÃO VASCONCELOS**

**DIFERENCIAÇÃO DE CULTIVARES DE  
GIRASSOL POR ESPECTROSCOPIA NO  
INFRAVERMELHO PRÓXIMO, UTILIZANDO  
SEMENTES E ÓLEO**

**LAVRAS - MG**

**2016**

**MICHELLE CONCEIÇÃO VASCONCELOS**

**DIFERENCIAÇÃO DE CULTIVARES DE GIRASSOL POR  
ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO PRÓXIMO, UTILIZANDO  
SEMENTES E ÓLEO**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fitotecnia, área de concentração em Produção Vegetal, para a obtenção do título de Doutor.

Prof. Dr. Renato Mendes Guimarães  
Orientador

Profa. Dra. Maria Laene Moreira de Carvalho  
Coorientadora

**LAVRAS - MG  
2016**

**Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca  
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).**

Vasconcelos, Michelle Conceição.

Diferenciação de cultivares de girassol por espectroscopia no infravermelho próximo, utilizando sementes e óleo / Michelle Conceição Vasconcelos. – Lavras: UFLA, 2016.

54 p.: il.

Tese(doutorado)–Universidade Federal de Lavras, 2016.

Orientador(a): Renato Mendes Guimarães.

Bibliografia.

1. NIR. 2. PLS-DA. 3. Análise de semente. 4. *Helianthus annuus*. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

**MICHELLE CONCEIÇÃO VASCONCELOS**

**DIFERENCIAÇÃO DE CULTIVARES DE GIRASSOL POR  
ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO PRÓXIMO, UTILIZANDO  
SEMENTES E ÓLEO**

**DIFFERENTIATION OF SUNFLOWER CULTIVARS BY  
SPECTROSCOPY IN INFRARED NEXT USING SEEDS AND OIL**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fitotecnia, área de concentração em Produção Vegetal, para a obtenção do título de Doutor.

APROVADA em 14 setembro de 2016.

Dr. Antônio Rodrigues Vieira	EPAMIG
Dr. Paulo Ricardo Gherardi Hein	UFLA
Dra. Sttela Dellyzete Veiga Franco da Rosa	EMBRAPA
Dr. João Almir Oliveira	UFLA

Prof. Dr. Renato Mendes Guimarães  
Orientador

**LAVRAS – MG  
2016**

*Aos meus pais, Tânia e Jailson, e  
ao Joel que sempre acreditaram em  
mim e no meu sucesso, dando-me  
força, coragem e amor para seguir  
sempre em frente.*

***Dedico!***

## AGRADECIMENTOS

A Deus, antes de tudo, por dar-me a dádiva da vida e as oportunidades de ter conquistado mais uma etapa da minha vida acadêmica.

Aos meus pais, Tânia Cristina Conceição Vasconcelos e Jailson Torres Vasconcelos, por darem-me amor, carinho e oportunidade de ter sempre uma educação de qualidade, o que me fez vencer e chegar ao fim de mais uma etapa da vida acadêmica. Aos meus irmãos, João Vitor Torres Vasconcelos e Vinicius Gabriel Torres Vasconcelos.

Ao Joel Conceição Costa, pelo amor, incentivo e apoio emocional, braçal e técnico. E acima de tudo por acompanhar-me na minha nova jornada, doutorado, longe de seus familiares.

Ao meu orientador Dr. Renato Mendes Guimarães, por ser sua orientada e ter aprendido muito com as pesquisas desenvolvidas.

À banca, Antônio Vieira, Paulo Hein, Sttela Rosa e João Almir, por disporem de seu tempo.

Aos professores, funcionários e técnicos do Setor de Semente, pelo suporte.

À Ariadne, Camila, Dayliane, João, Diego, Luiz Alberto, Gabriel Abreu, pelos diversos momentos compartilhados.

Ao casal de amigos Andréa e Cláudio, pelo carinho e pela atenção, além de me darem uma sobrinha do coração, Luiza.

Aos colegas do setor de semente.

À Universidade Federal de Lavras e ao Programa de Pós-graduação em Agronomia/Fitotecnia. À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, pela concessão de bolsa de estudo.

**Obrigada!**

## RESUMO

A diferenciação de cultivares é feita por meio de descritores morfológicos ou por métodos moleculares, que são metodologias caras, destrutíveis, morosa e poluente. Neste trabalho objetivou-se avaliar a técnica de espectroscopia no infravermelho próximo (NIR) e a análise multivariada para a diferenciação de cultivares de girassol utilizando sementes e óleo. Foram utilizadas três cultivares de girassol: BRS 324, Nusol 2100 e Nusol 2500. As sementes foram submetidas à caracterização do perfil dos lotes: determinação do teor de água, teste de germinação, primeira contagem, envelhecimento acelerado, emergência em bandeja, índice de velocidade de emergência e teor de óleo. As amostras foram submetidas à análise no NIR e os espectros foram gerados por meio do detector FT-IR. Para a construção do modelo de calibração foi utilizado o método de classificação multivariada por mínimos quadrados parciais com análise discriminante (PLS-DA), em que as classes (y) são as variáveis dependentes e os espectros obtidos das amostras as variáveis independentes. As cultivares de girassol foram diferenciadas, tanto por óleo quanto por semente. Por óleo obteve-se 100% de acerto na calibração, 92% no teste de *y-randomization*, 86% na validação cruzada e 92% na validação externa, em que se testa 25% das amostras para validar o modelo. E por sementes 100% de acerto na calibração, 87% no teste de *y-randomization*, 100% na validação cruzada e 100% na validação externa. Portanto, conclui-se que a técnica de espectroscopia no infravermelho próximo, associada à análise multivariada, diferencia cultivares de girassol, tanto por meio do óleo, extraído de semente com pericarpo e extraído de semente sem pericarpo, quanto por semente, com e sem pericarpo.

**Palavras-chave:** NIR. PLS-DA. Análise de semente. *Helianthus annuus*.

## ABSTRACT

Morphological descriptors or molecular methods are commonly used to differentiate cultivars but they are expensive, destructible, time consuming and polluting methodologies. This work aimed to evaluate the near-infrared spectroscopy technique (NIR) and multivariate analysis in the differentiation of sunflower cultivars, using seeds and oil. Three sunflower cultivars were used: BRS 324, Nusol 2100 and Nusol 2500. Seeds were submitted to the following analyzes: determination of water content, germination test, first count, accelerated aging, emergence in tray, speed index emergency and oil content. The samples were subjected to analysis in the NIR and the spectra were generated by the FT-IR detector. To construct the calibration model it was used the multivariate classification method of partial least squares-discriminant analysis (PLS-DA), in which the classes (y) are the dependent variables and the samples' spectra are the independent variables. Sunflower cultivars were differentiated both by oil and by seed. For oil it was obtained 100% accuracy in the calibration, 92% in y-randomization test, 86% in cross-validation and 92% in external validation in which 25% of samples are tested to validate the model. And seeds had 100% accuracy in the calibration, 87% in y-randomization test, 100% in cross-validation and 100% in external validation. Therefore, it is concluded that the near-infrared spectroscopy associated with multivariate analysis differentiates sunflower cultivars, both by oil (extracted from seeds with and without pericarp) and by seed (with and without pericarp).

**Keywords:** NIR. PLS-DA. Seed analysis. *Helianthus annuus*.

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** - Fluxograma da metodologia. ....28
- Figura 2** - Múltiplas plotagens de pontuações da PLS-DA para ensaios das amostras de óleo extraído de sementes com pericarpo (A), de óleo extraído de semente sem pericarpo (B), de sementes com pericarpo (C) e de sementes sem pericarpo (D) das cultivares de girassol. ...33
- Figura 3** - Múltiplas plotagens de pontuações da PLS-DA para ensaios das amostras de óleo de girassol das cultivares Nusol 2100 (A), Nusol 2500 (C) e BRS 324(E) e das amostras de sementes das cultivares Nusol 2100 (B), Nusol 2500 (D) e BRS 324 (F).....36
- Figura 4** - Representação dos espectros no infravermelho próximo obtidos de sementes com pericarpo (A) e sem pericarpo (B) das três cultivares de girassol. ....39
- Figura 5** - Representação dos espectros no infravermelho próximo obtidos de óleo extraído de sementes com pericarpo (A) e sem pericarpo (B) das três cultivares de girassol. ....44

## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1** - Caracterização do perfil da qualidade das cultivares de girassol. Teor de água (%U), porcentagem de germinação (%G), primeira contagem (PC), porcentagem de emergência (%E), índice de velocidade de emergência (IVE) e envelhecimento acelerado (EA), com os respectivos desvios padrão.....29
- Tabela 2** - Teor de óleo de cultivares de girassol extraídas de sementes com pericarpo e extraído de sementes sem pericarpo, com os respectivos desvios padrão. ....30
- Tabela 3** - Parâmetros de desempenho do modelo PLS-DA para diferenciação de cultivares de girassol por óleo, extraído de sementes com pericarpo e extraído de sementes sem pericarpo, e semente, com e sem pericarpo. ....31
- Tabela 4** - Número de amostras, óleo e sementes, classificadas corretamente pela validação cruzada para cada cultivar de girassol pelo modelo PLS-DA. ....32
- Tabela 5** - Parâmetros de desempenho do modelo PLS-DA para diferenciação de óleo extraído de sementes com pericarpo do extraído de sementes sem pericarpo e diferenciação de sementes com pericarpo das sementes sem pericarpo de cada cultivar de girassol.....34
- Tabela 6** - Número de amostras, óleo (extraído de sementes com pericarpo e extraído de sementes sem pericarpo) e sementes (com e sem

pericarpo), classificadas corretamente pela validação cruzada para cada cultivar de girassol pelo modelo PLS-DA. ....	35
<b>Tabela 7</b> - Correlação espectro-estrutura por infravermelho próximo para a semente de girassol com e sem pericarpo.....	40
<b>Tabela 8</b> - Correlação espectro-estrutura por infravermelho próximo para o óleo de girassol tanto extraído de sementes com pericarpo quanto extraído de sementes sem pericarpo. ....	45

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	<b>12</b>
<b>2. REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....	<b>14</b>
2.1. <i>Helianthus annuus</i> L.....	14
2.2. Cultivar .....	17
2.3. Espectroscopia no infravermelho próximo .....	18
2.4. Análise multivariada .....	22
<b>3. MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>24</b>
3.1. Caracterização do perfil de qualidade dos lotes .....	24
3.2. Extração e teor de óleo .....	25
3.3. Espectroscopia no infravermelho próximo .....	26
3.4. Análise multivariada .....	27
<b>4. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>29</b>
4.1. Caracterização do perfil de qualidade dos lotes .....	29
4.2. Diferenciação de cultivar por espectroscopia NIR .....	30
4.3. Correlação espectro-estrutura por infravermelho próximo para a semente .....	38
4.4. Correlação espectro-estrutura por infravermelho próximo para o óleo.. .....	43
<b>5. CONCLUSÃO</b> .....	<b>47</b>
<b>REFERÊNCIA</b> .....	<b>48</b>

## 1. INTRODUÇÃO

As espécies de interesse agrônomo podem possuir diversas cultivares, que contêm características que atende a uma determinada necessidade, como: condições edafoclimáticas ou resistência à doença. Uma nova cultivar quando é lançada deve possuir características distintas das demais existentes e essas características devem permanecer sem nenhuma alteração, por sucessivas gerações. Para saber se realmente a nova cultivar é inédita são empregados descritores morfológico, que consistem na descrição das características agronômicas.

Os descritores morfológicos também são utilizados para a diferenciação de cultivares, essa pode ser ainda realizada por meio de marcadores moleculares, que é executada pelo o estudo de DNA. Entre esses marcadores os mais utilizados são: RFLP (*Restriction Fragment Length Polymorphism*), AFLP (*Amplified Fragment Length Polymorphism*), RAPD (*Random Amplification of Polymorphic DNA*) e microssatélites (ISSR - *Inter Simple Sequence Repeats*; SSR - *Simple Sequence Repeats*).

Esses métodos de diferenciação possuem procedimentos demorados para obtenção de resultados. O método de análise molecular possui ainda as desvantagens de ser destrutivo e de necessitar de reagentes caros e que geram resíduos. Todavia, na espectroscopia no infravermelho próximo (NIR) essas desvantagens não são presentes e pode-se ainda utilizar-se de vários traços constitutivos qualitativos e quantitativos ao mesmo tempo, além de obter espectros em amostras sólidas e líquidas, sem necessitar de preparo.

No entanto, para que se possa obter resultados a partir das interações entre os constituintes químicos de absorção dentro de amostras complexas exigem o desenvolvimento de calibração para diferentes culturas e preparações de amostra (HACISALIHOGU; LARBI; SETTLES, 2010).

No desenvolvimento do modelo de calibração para análise de espectro NIR são empregadas as técnicas quimiométricas. Essas técnicas referem-se a métodos matemáticos e entre esses está a estatística multivariada, a qual considera a correlação entre muitas variáveis analisadas simultaneamente, permitindo a extração de uma quantidade muito maior de informação (SENA et al., 2000).

Portanto, a ausência de trabalhos científicos com a utilização da espectroscopia NIR para diferenciar cultivares, reforça a necessidade da realização de estudos para definir a metodologia ideal para escolha da amostra e calibração de modelos quimiométricos. Neste trabalho objetivou-se avaliar a técnica de espectroscopia no infravermelho próximo e a análise multivariada para a diferenciação de cultivares de girassol utilizando sementes e óleo.

## 2. REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1. *Helianthus annuus* L.

O girassol é uma dicotiledônea anual pertencente à família Asteraceae, originário da América do Norte (Sudoeste dos Estados Unidos e Norte do México) e a sua utilização destaca como oleaginosa a partir da Segunda Guerra Mundial (CASTRO; SILVA JÚNIOR, 2013). O termo girassol explica tanto o nome comum como o nome botânico, tendo em vista que o gênero deriva do grego *hélios*, que significa sol e *anthus*, que significa flor do sol (NEUMANN et al., 2009).

A produção do girassol tem como objetivo principal a extração do óleo das sementes que é utilizada para alimentação humana, por possuir alta concentração de ácidos graxos insaturados (ácido linoleico) e na forma de farelo ou silagem para a alimentação animal, cujo teor de proteína é mais elevado que o do milho (BRIGHENTI et al., 2003). O óleo pode ainda ser usado para produção de biocombustível, nas indústrias farmacêuticas, de cosméticos, de tintas e de limpeza (SILVA et al., 2013).

De acordo com sua utilização, há dois tipos de sementes de girassol: as oleosas e as não oleosas. As sementes não oleosas são maiores, pretas, com listras, e apresentam casca grossa (40% a 45% do peso da semente), facilmente removível. Também chamadas de "*confectionery varieties*", as sementes não oleosas têm 25% a 30% de óleo e representam somente 5% dos genótipos de girassol. Para a comercialização, as sementes não oleosas são torradas, embaladas e são consumidas pelo homem como amêndoas, misturas de granolas, bolos e "*snacks*", ou como ração para pássaros. As sementes oleosas são menores e suas cascas são bem aderidas, representando 20% a 30% do peso da semente. As sementes oleosas são economicamente mais importantes e, a partir

delas, são produzidos o farelo de girassol e seus derivados, após a extração do óleo (CARRÃO-PANIZZI; MANDARINO, 1994).

O girassol é também utilizado como fitorremediador de chumbo devido a sua capacidade de acumular elevada quantidade desse elemento nas raízes e possuir mecanismo de desintoxicação na planta. Além disso, o girassol possui a capacidade de combater o estresse oxidativo induzido por outros metais através de síntese significativa de tióis de proteínas, de glutatona e elevada atividade da glutatona redutase, uma vez que a cultura produz essa enzima em quantidade suficiente para a síntese de fitoquelatinas e para sua função antioxidante (SETH et al., 2011).

Em plântulas de girassol foi relatada a presença de um nível elevado de cinarina, composto fenólico que apresenta tanto efeitos antioxidantes quanto antiglicolítico, tornando girassol uma escolha de alimento com benefícios potenciais para os pacientes diabéticos. A uma concentração de  $1,0 \text{ mg mL}^{-1}$ , a velocidade de inibição de produtos finais de glicação avançada (AGEs) foi de 83,29%, o que é mais forte do que a da aminoguanidina ( $1,0 \text{ mM}$ ), um conhecido agente antiglicolítico sintético (com uma taxa de inibição de 80,88%) (SUN et al., 2012).

Além desses aspectos importantes da cultura do girassol, ele apresenta características agronômicas importantes, como maior resistência à seca, ao frio e ao calor do que a maioria das espécies cultivadas no Brasil. Também apresenta ampla adaptabilidade às diferentes condições edafoclimáticas e seu rendimento é pouco influenciado pela latitude, altitude e fotoperíodo (CASTRO et al., 1997).

Quanto aos aspectos morfológicos do girassol o seu caule é ereto, geralmente não ramificado, com altura variando entre 1,0 a 2,5 m e com cerca de 20 a 40 folhas por planta. A inflorescência é composta por flores sésseis, condensadas em receptáculo comum discoide e rodeada por um involúcro de brácteas, formando na parte superior do caule, o capítulo, apresentando diversas

formas que vão desde côncavo, convexo ou plano, e onde se desenvolvem as sementes, denominadas aquênios. O sistema radicular é pivotante e bastante ramificado e, não havendo impedimentos químicos ou físicos, explora grande profundidade de solo, absorvendo água e nutrientes onde outras plantas normalmente não alcançam. Entretanto, é sensível a solos compactados, apresentando baixa capacidade de penetração, o que pode inibir seu crescimento em profundidade (CASTRO et al., 1997; NEUMANN et al., 2009).

O ciclo vegetativo do girassol varia entre 90 a 130 dias, dependendo da cultivar, da época de semeadura e das condições ambientais características de cada região e ano, sendo assim favorável para participar como alternativa no sistema de rotação de culturas, possibilitando a semeadura do milho ou da soja após sua colheita. Em média, 60 dias após a semeadura ocorre o florescimento, possibilitando a fecundação cruzada (alógama), sendo que esta é feita por insetos, particularmente por abelhas (CASTRO et al., 1997; LEITE; BRIGHENTI; CASTRO, 2005; SILVA; FREITAS, 2008).

O cultivo do girassol visando à produção de óleo para biocombustível deve ser realizado em época mais favorável para a semeadura, sendo realizada nos meses de agosto e setembro, pois uma mesma cultivar pode variar o teor de óleo (36 a 42%) a depender da época de semeadura (SILVA; FREITAS, 2008).

Com relação aos aspectos genéticos, houve estreitamento da base genética do girassol devido aos vários anos de seleção e domesticação, o que reduziu sua diversidade, quando comparado aos materiais selvagens (NOORYAZDAN et al., 2011). Além disso, os fenômenos de agrupamento evolutivo entre genótipos foram menos intensos nessa cultura, conforme acreditam muitos pesquisadores (FUSARI et al., 2008).

A complexidade do rendimento de grãos nas culturas varia em função de vários componentes agromorfológicos associados à produtividade e as suas interações com o ambiente (CHIKKADEVAIAH; SUJATHA; NANDINI,

2002). Para aumento na eficiência de seleção, a magnitude da variação fenotípica e correlações entre características, são consideradas essenciais para sucesso e aumento da produtividade, além das variações entre populações sobre influência ambiental na expressão das características (GOMES et al., 2007).

## **2.2. Cultivar**

Cultivar é a variedade de qualquer gênero ou espécie vegetal superior que seja claramente distinguível de outras cultivares conhecidas por margem mínima de descritores, por sua própria denominação, que seja estável e homogênea quanto aos descritores por meio de gerações sucessivas e que possa ser usada pelo complexo agroflorestal, descrita em publicação especializada disponível e acessível ao público, assim como a linhagem componente de híbridos (BRASIL, 1997).

Os descritores, ou características utilizadas para caracterizar cultivares são próprios de cada espécie e leva em conta a sua anatomia, fisiologia, comportamento entre outros aspectos. Além de atributos técnicos, outras informações que norteiam os trabalhos de melhoramento vegetal, como características importantes para o mercado, podem ser incluídas como descritores (AVIANI; SANTOS, 2011).

A identificação de cultivares é de fundamental importância no controle de qualidade de sementes e na crescente necessidade de proteção de cultivares. Com a aprovação da Lei de Proteção de Cultivares, nº 9.456, sancionada no Brasil em 25 de abril de 1997, tornou-se possível proteger as variedades vegetais desenvolvidas nos programas de melhoramento genético (BRASIL, 1997; MENEZES et al., 2008).

### 2.3. Espectroscopia no infravermelho próximo

A espectroscopia na região do infravermelho é uma técnica importante na análise orgânica qualitativa, sendo amplamente utilizada na área de química de produtos naturais, síntese e transformações orgânicas. Entre as regiões de infravermelho existentes, o infravermelho próximo (NIR) é o nome dado à região do espectro eletromagnético imediatamente superior à região do visível em termos de comprimento de onda, ou seja, é a mais próxima da região do visível (LIMA; BAKKER, 2011).

A primeira descrição do espectro de infravermelho próximo, realizada por William Herschel, ocorreu no ano de 1800 (MCCLURE, 2003). Somente em 1965, foi utilizada pela primeira vez em aplicações agrícolas, por Norris para medir o teor de água em grãos (BEN-GERA; NORRIS, 1968).

A espectroscopia no infravermelho próximo é uma espectroscopia vibracional que emprega radiação eletromagnética na faixa de energia de  $2,65 \times 10^{-19}$  a  $7,96 \times 10^{-20}$  J, a qual corresponde à faixa de comprimentos de onda de 750 a 2.500 nm (ou números de onda de  $13.300$  a  $4.000 \text{ cm}^{-1}$ ). A intensidade da absorção da radiação NIR por um sistema é proveniente da variação do momento de dipolo, sendo a frequência da radiação absorvida idêntica à da oscilação do dipolo. Por apresentarem alta anarmonicidade e grande momento de dipolo, as principais bandas de absorção na região do infravermelho próximo são relacionadas a sobretons e bandas de combinação das transições vibracionais fundamentais dos grupos: C-H, N-H, O-H e S-H (SOUZA et al., 2013).

A quantidade de luz absorvida é proporcional à concentração do composto de acordo com a lei de Beer em dispersão nos meios, tais como compostos agrícolas. Existem dois modos de medição básicos ou tradicionais na tecnologia de NIR para análise agrícola: transmitância e refletância. No modo de transmitância, a radiação incide na amostra e uma fração desta é absorvida pelos

compostos orgânicos, enquanto que a fração restante passa através da amostra e é medida por um sensor. As medidas de refletância são baseadas na detecção da radiação refletida de forma difusa que penetra a uma profundidade de uns poucos milímetros na amostra (AGELET et al., 2012).

Essa técnica, junto aos demais métodos espectroscópicos modernos, como a ressonância magnética nuclear, espectroscopia na região do ultravioleta visível e espectrometria de massas, constituem hoje os principais recursos para a identificação e elucidação estrutural de substâncias orgânicas. Além disso, são de alta relevância na determinação da pureza e quantificação de substâncias orgânicas, bem como no controle e acompanhamento de reações e processos de separação. Essa tecnologia oferece a vantagem de realizar análise não destrutiva de múltiplas características em um tempo relativamente curto. Em geral, o uso dessa tecnologia no setor agrícola tem aumentado nos últimos 20 anos, sendo utilizada para analisar a composição de produtos agrícolas. Esse crescimento ocorreu devido às implementações de melhor *hardware* e de menor custo, junto a necessidade de controle de produtos desse setor e as investigações sobre novos usos, da melhoria e da qualidade desses (AGELET et al., 2012).

Nos últimos anos, o infravermelho próximo (NIR) ganhou ampla aceitação em diferentes campos em virtude de suas vantagens em relação a outras técnicas analíticas. Um diferencial dessa análise é a sua capacidade de gravar espectros para amostras sólidas e líquidas, sem qualquer pré-tratamento. Essa característica faz com que seja atraente para a rápida caracterização, de produtos naturais e sintéticos. As economias de custos de medições NIR relacionadas com a melhoria do controle e qualidade do produto são muitas vezes alcançadas e pode fornecer resultados significativamente mais rápidos em comparação com a análise laboratorial tradicional. Em processos descontínuos, o NIR permite que várias estimativas de qualidade sejam executadas dentro de um ciclo de produção em oposição a um único lote final de análise. Portanto, essa

técnica tem a capacidade de revelar potenciais problemas no início do processo e promover ações corretivas, desse modo possuindo vantagens particulares no caso em que a segurança é um fator. Além disso, por exemplo, os aspectos de segurança podem ser vistos como uma das vantagens devido às intrínsecas sondas de medição segura e fibras ópticas. Portanto, a espectroscopia NIR tem sido cada vez mais adotada como ferramenta analítica em diferentes campos durante os últimos anos, por exemplo, na indústria petroquímica, farmacêutica, setores do meio ambiente, clínica, agrícola, alimentação e biomédica (XIAOBO et al., 2010).

Na literatura são verificados alguns trabalhos relativos ao uso do NIR em culturas agrícolas, como para verificar a composição química individual de sementes de feijão (HACISALIHOGU; LARBI; SETTLES, 2010). Neste estudo foi possível detectar os principais constituintes nutricionais das sementes de acordo com o seu peso individual. Em outro estudo relacionado à detecção de sementes cheias, vazias e infestadas por insetos de três espécies de *Larix*, *Larix decidua* Mill, *Larix gmelinii* Rupr e *Larix sukaczewii* Dyl, pelo NIR, foi observada a utilização dessa técnica com a finalidade de obter lote de sementes dessas espécies com melhor qualidade, diferenciando aquelas bem formadas daquelas que apresentaram defeitos e essas diferenças estavam relacionadas ao conteúdo de lipídios e proteínas presentes nas sementes (TIGABU; ODÉN, 2004).

Foi possível pelo uso do NIR detectar sementes de beterraba açucareira com maior peso, isso auxilia a obtenção de um maior estante inicial dessa variedade (MUKASA; ABE; TAGUCHI, 2005).

Com o intuito de desenvolver uma metodologia analítica não destrutiva para determinação do teor de açúcar total em amostras de café cru a espectroscopia no infravermelho próximo combinada com o método de calibração multivariada (PLS) foi uma técnica fácil e rápida nessa determinação.

Os modelos de regressão construídos apresentam melhor desempenho quando foram empregadas as transformações Kubelka-Munk e a correção multiplicativa de sinal (MSC) nos dados escalados pela variância. As principais vantagens do método proposto quando comparado com o método tradicional gravimétrico são redução do tempo de análise, pouca manipulação das amostras, diminuição de resíduos químicos e redução do custo de análise (MORGANO et al., 2007).

O método de espectroscopia NIR fornece um meio confiável, preciso, rápido e não destrutivo para estimar a concentração de óleo, proteínas e ácidos graxos da composição de sementes de *Jatropha curcas*. Além disso, pode ser aplicado com sucesso para a seleção de sementes de diferentes origens de *J. curcas* para programas de melhoramento genético (VAKNIN et al., 2011).

A espectroscopia NIR já vem sendo utilizada há algum tempo no estudo de sementes de girassol para diversas finalidades, por exemplo: determinar óleo, proteína, água e teor de fibra (KAFFKA et al., 1982); determinação não destrutiva da composição de ácidos graxos (SATO et al., 1995); determinação de tocoferóis e fitoesteróis (GOTOR et al., 2007); determinação de ácido oleico (CANTARELLI et al., 2009); controle da qualidade da semente (GONZÁLEZ-MARTÍN et al., 2013) entre outros.

Outra área em que o método da espectroscopia de infravermelho é muito utilizado é na análise de alimentos. A avaliação realizada pelo NIR tem auxiliado na predição de atributos de vários parâmetros sensoriais, como no caso de sementes e pericarpo de uva pelos aspectos de sabor (acidez), textura (adstringência, intensidade tânico, secura e dureza), visual (cor) e olfativo (intensidade e tipo de aroma) (FERRER-GALLEGO; HERNÁNDEZ-HIERRO; RIVAS-GONZALO, 2013).

## 2.4. Análise multivariada

A análise de dados é uma parte importante em todo experimento, sendo univariada quando somente uma variável é medida sistematicamente para várias amostras. Há muito tempo a estatística univariada vem sendo aplicada a problemas químicos, mas a sua utilização tornou-se limitada. Nas últimas décadas, a análise multivariada foi introduzida no tratamento de dados químicos (SENA et al., 2000).

Os métodos multivariados são escolhidos de acordo com os objetivos da pesquisa, pois se sabe que a multivariada é uma análise exploratória de dados, prestando-se a gerar hipóteses, e não tecer confirmações a respeito dos dados, o que seria uma técnica confirmatória, como nos testes de hipótese, nos quais se tem uma afirmação a respeito da amostra em estudo, embora, às vezes, possa ser utilizada para confirmação dos eventos (HAIR et al., 2009).

O modelo estatístico dos métodos multivariados considera a correlação entre muitas variáveis analisadas simultaneamente, permitindo a extração de uma quantidade muito maior de informação (SENA et al., 2000). Entre esses métodos têm-se a análise de componentes principais (PCA - do inglês “*Principal Component Analysis*”) e regressão por mínimos quadrados parciais (PLS - do inglês “*Partial Least Squares*”).

A regressão PLS é uma técnica recente que generaliza e combina recursos de análise de componentes principais e de regressão múltipla. Seu objetivo é prever ou analisar um conjunto de variáveis dependentes dentro um conjunto de variáveis ou preditores independentes. Essa previsão é obtida por meio da extração dos preditores de um conjunto de fatores ortogonais chamados variáveis latentes que têm o melhor poder de previsão (ABDI, 2007).

A PLS fornece uma solução reduzida, o que é estatisticamente mais robusta do que a regressão linear múltipla e é particularmente útil quando um

grande número de variáveis de previsão intercorrelacionados e/ou ruído estão presentes. A PLS provém de um conjunto de parcelas (pontuações e cargas) que fornecem informações sobre as estruturas de correlação das variáveis e semelhanças estruturais/diferenças entre os compostos. Na sua forma mais geral, PLS cria vetores de pontuação (também chamados de vetores latentes ou componentes), maximizando a covariância entre diferentes conjuntos de variáveis. No caso de variáveis correlacionadas X, há um risco substancial de "overfitting", isto é, a obtenção de um modelo bem justo, com pouca ou nenhuma capacidade de previsão. Assim, um teste rigoroso para o significado de cada um dos componentes PLS é necessário e, em seguida, para quando os componentes são insignificantes. Em um conjunto de dados com um grande número de variáveis X, é essencial selecionar um subconjunto de variáveis que é realmente importante. A PLS recebeu uma grande atenção no campo da quimiometria. O algoritmo tornou-se uma ferramenta padrão para o processamento de uma ampla gama de problemas de dados químicos, particularmente para Estrutura Quantitativa - Relações Atividades (QSAR) (ROY; ROY, 2008).

Para prever amostras desconhecidas, recentemente, passou a ser utilizada a PLS-DA que é um método que trabalha com a construção de um modelo de calibração multivariada PLS, por meio da regressão parcial dos mínimos quadrados. Quando as amostras são conhecidas, é possível obter o grau de ajuste de um modelo e oferece a possibilidade de uma classificação gráfica por meio de uma trama de pontuação PLS. A PLS-DA é uma ferramenta importante multivariada, que foi usada como ferramenta de calibração há alguns anos. Mais recentemente, a PLS teve novas aplicações, por exemplo, como uma ferramenta de classificação, por meio de PLS-DA, a partir do qual um modelo obtido classifica grupos de diferentes categorias (MONFERRERE et al., 2012).

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

Os ensaios foram conduzidos no Laboratório Central de Sementes, do Departamento de Agricultura, e na Usina de Biodiesel, do Departamento de Engenharia, da Universidade Federal de Lavras (UFLA), Minas Gerais, nos anos de 2014 e 2015. Foram utilizadas sementes de girassol, com e sem pericarpo, de três cultivares: BRS 324 (Embrapa soja - Paraná), NUSOL 2100 e NUSOL 2500 (Atlântica Sementes S.A. - Paraná). A cultivar BRS 324 possui alto teor de óleo, 45 a 49%, (CARVALHO et al., 2013), a Nusol 2100 é convencional e a Nusol 2500 é alto oleico, com conteúdo de ácido oleico entre 82 a 87 % (NUSEED, 2016).

Para caracterização do perfil dos lotes, foi determinado o teor de água das sementes e teste de germinação, seguindo as recomendações das Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009) e vigor.

As sementes foram homogeneizadas e divididas em divisor de solo, acondicionadas em sacos de papel e armazenadas em câmara fria ( $\pm 10$  °C e 45% de umidade relativa).

#### 3.1. Caracterização do perfil de qualidade dos lotes

**Determinação do teor de água** – foi realizada pelo método da estufa, a 105 °C por 24 horas, com duas repetições de 4,5 g por cultivar, de acordo com as Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009) e os resultados expressos em porcentagem com base no peso úmido.

**Teste de germinação** – foram utilizadas quatro repetições de 50 sementes, semeadas em rolo de papel germitest, umedecido com 2,5 vezes o peso seco dos papéis em água destilada, e foram mantidas em germinador a 25 °C, realizando-

se a **primeira contagem** no quarto dia e a última aos dez dias após a semeadura, computando-se a porcentagem de plântulas normais (BRASIL, 2009).

**Emergência em bandeja** - a semeadura foi realizada em substrato terra e areia na proporção volumétrica de 1:2, em bandejas plásticas. Foram utilizadas quatro repetições de 50 sementes por cultivar e os resultados expressos em porcentagem de plântulas normais ao décimo dia após a semeadura. Concomitante, ao teste de emergência foi realizado o **índice de velocidade de emergência (IVE)**, computando-se diariamente o número de plântulas emergidas, calculado pela fórmula proposta por Maguire (1962).

**Envelhecimento acelerado** – foi utilizada a metodologia proposta pela Association of Official Seed Analysis - AOSA (1983), em que as sementes foram distribuídas sobre tela de alumínio fixada em caixas plásticas tipo gerbox, contendo 40 mL de água destilada e acondicionadas em incubadoras tipo B.O.D. a 42 °C, durante 48 horas. Após esse período, quatro repetições de 50 sementes foram submetidas ao teste de germinação, conforme descrito anteriormente e realizada contagem de plântulas normais aos quatro dias após a semeadura.

### **3.2. Extração e teor de óleo**

Para obtenção e quantificação do óleo foram empregadas quatro repetições por tratamento, sendo esse extraído de sementes com e sem pericarpo, de cada cultivar. Foram utilizadas 100 gramas de sementes de girassol secas e trituradas, as quais foram depositadas em balão de fundo redondo e boca esmerilhada de 500 mL. Foram adicionados 200 mL de hexano até cobrir as sementes e levados para refluxar. Após 24 horas, o material foi filtrado, descartando o sólido e a fase líquida foi evaporada em um evaporador rotatório

Buchi-144, sob pressão reduzida. O óleo obtido de cada tratamento foi colocado em estufa a aproximadamente 35 °C por 24 horas, para a completa evaporação do solvente e em seguida realizou-se pesagem, em gramas de óleo por grama de sementes secas e trituradas.

### **3.3. Espectroscopia no infravermelho próximo**

Para análise de espectroscopia no infravermelho em sementes foram utilizadas 100 sementes com pericarpo e 100 sementes sem pericarpo, totalizando 200 sementes de cada cultivar. As sementes foram colocadas inteiras no equipamento e cada uma representava uma amostra. Para a análise de óleo utilizou-se 35 amostras de óleo extraído de sementes com pericarpo e 35 amostras de óleo extraído de semente sem pericarpo, em que cada amostra continha um mL. O óleo foi colocado em tubo vial, para leitura no equipamento e cada tubo representava uma amostra.

As amostras foram submetidas à análise de espectroscopia de infravermelho próximo e os espectros foram gerados por meio do detector FT-IR (*Fourier-Transform Near-Infrared*), acoplado ao equipamento Tensor 27 da Bruker®. O *software* utilizado no equipamento foi o *OPUS\_Spectroscopy version 6*, do mesmo fabricante. A resolução utilizada foi de 8 cm<sup>-1</sup>, tempo de varredura 256 scan, na amplitude de 2451 a 3231 e posição de 60931 a 61042, de acordo para cada análise, e espectro de absorvância de comprimento de onda entre 10000 e 4000 cm<sup>-1</sup>.

O espectrofotômetro coletou 256 leituras para cada medida de absorvância por amostra, que produziram um espectro médio constituindo o banco de dados de leituras para cada amostra.

### 3.4. Análise multivariada

Para a construção do modelo de calibração foi utilizado o método de classificação multivariada por regressão de mínimos quadrados parciais com análise discriminante (PLS-DA), com o auxílio do programa estatístico Chemoface® versão 1.6 (NUNES et al., 2012), em que as classes ( $y$ ) são as variáveis dependentes e os espectros NIR obtidos dessas amostras as variáveis independentes (ABDI, 2003).

Para a construção do modelo de calibração realizou-se o pré-processamento dos números de onda por correção multiplicativa de sinais e os dados foram ajustados excluindo-se os espectros de número um a trezentos, pois essa região espectral confere apenas ruídos e não produz informações relevantes (DECKER; NIELSEN; MARTENS, 2005).

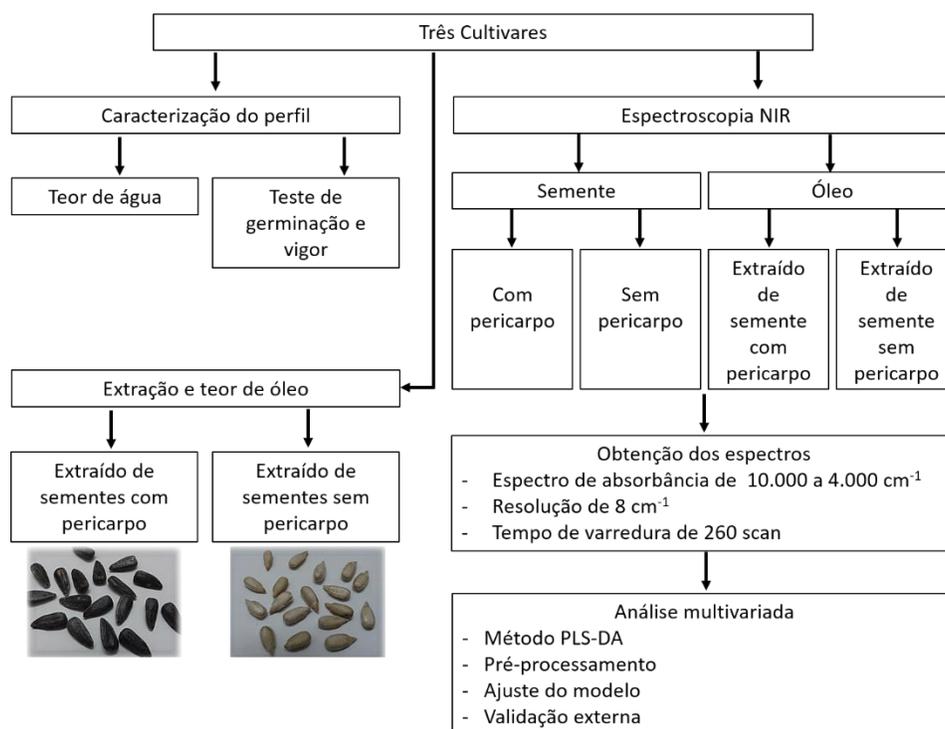
Otimizou-se o modelo pela escolha do número de variáveis latentes com base na porcentagem de classificações corretas, e por validação cruzada, em que se utiliza as mesmas amostras do conjunto de calibração, mas separa-se uma amostra (*leave-one-out*) e constrói-se o modelo com as restantes e calcula-se o erro de previsão para a amostra que ficou de fora, assim esse processo é repetido até que todas as amostras tenham ficado de fora uma vez.

A porcentagem de acerto na diferenciação das cultivares foi o parâmetro utilizado para avaliação do modelo de classificação. O teste de randomização de  $y$  (*y-randomization*) também foi utilizado para avaliação da qualidade dos ajustes aplicados aos modelos, em que se utiliza as mesmas amostras do conjunto de calibração, selecionando ao acaso as classes  $y$  para construir o modelo. Se realmente  $x$  descreve  $y$ , o erro de previsão desse modelo deve ser ruim, ou seja, quanto maior o percentual de acerto do teste de *y-randomization*, mais robusto é o modelo criado.

Para validação externa do modelo foram utilizadas amostras de um grupo teste, que são representadas por 25% do número de amostras originais que foram selecionadas pelo método *kennard-stone selection*, as quais não estavam incluídas no grupo de amostras de calibração (correspondentes aos 75% das amostras restantes). O desempenho do modelo também foi avaliado por meio da porcentagem de classificações corretas para as amostras de teste.

Na Figura 1 está representado o fluxograma da metodologia utilizada.

**Figura 1 - Fluxograma da metodologia.**



## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1. Caracterização do perfil de qualidade dos lotes

A caracterização do perfil das cultivares de girassol está representada na Tabela 1, onde se pode notar que todas as cultivares apresentam-se com diferentes níveis de qualidade, sendo a cultivar Nusol 2100 a que obteve maiores valores para os testes de germinação e vigor.

**Tabela 1** - Caracterização do perfil da qualidade das cultivares de girassol. Teor de água (%U), porcentagem de germinação (%G), primeira contagem (PC), porcentagem de emergência (%E), índice de velocidade de emergência (IVE) e envelhecimento acelerado (EA), com os respectivos desvios padrão.

Cultivar	%U	%G	PC(%)	%E	IVE	EA(%)
BRS 324	5,73	37 (7,02)	26 (4,62)	31 (5,77)	2,77 (0,53)	25 (2,52)
Nusol 2100	6,61	83 (5,03)	75 (4,16)	67 (11,49)	9,29 (1,49)	90 (4,43)
Nusol 2500	7,04	57 (8,23)	53 (9,71)	32 (6,93)	1,31 (0,34)	38 (8,70)

Os valores médios do teor de óleo das sementes de girassol para cada cultivar estão representados na Tabela 2. São observados menores teores de óleo extraído de sementes com pericarpo quando comparado ao extraído de sementes sem pericarpo. Isso se deve ao fato que quando se utiliza sementes com pericarpo tem-se mais matéria seca presente na massa de extração do óleo.

**Tabela 2** - Teor de óleo de cultivares de girassol extraídas de sementes com pericarpo e extraído de sementes sem pericarpo, com os respectivos desvios padrão.

Cultivar	Com Pericarpo	Sem Pericarpo
BRS 324	49,02% (0,54%)	58,73% (0,86 %)
Nusol 2100	37,20% (0,51%)	43,08% (1,92%)
Nusol 2500	36,00% (1,04%)	43,13% (3,09%)

#### 4.2. Diferenciação de cultivar por espectroscopia NIR

As principais bandas de absorção na região do infravermelho próximo são relacionadas aos sobretons e bandas de combinação das transições vibracionais fundamentais dos grupos: C-H, N-H, O-H e S-H (SOUZA et al., 2013), portanto não seletivo (a sua intensidade é 10-50 vezes menos do que as correspondentes bandas do infravermelho médio) e pouco utilizado para a interpretação e elucidção espectral. Contudo, a análise multivariada pode ser aplicada e modelos de quantificação podem ser obtidos a partir da espectroscopia NIR (WESTAD; SCHMIDT; KERMIT, 2008).

As cultivares de girassol foram diferenciadas por meio da técnica de espectroscopia no infravermelho próximo e da análise multivariada (PLS-DA) por meio do óleo, extraído de sementes com pericarpo e sem pericarpo, e da semente, com e sem pericarpo. O modelo utilizado para discriminação das cultivares de girassol apresentou um bom desempenho, pois obteve alto porcentual de sucesso para calibração, validação cruzada, teste de *y-randomization*, e teste de validação externa. O número de variáveis latentes necessárias para o modelo foi de 10 para o óleo extraído de semente com pericarpo, 7 para o óleo extraído de sementes sem pericarpo e 21 para as sementes com e sem pericarpo. Os resultados do sucesso da calibração e da validação do modelo estão representados na Tabela 3.

**Tabela 3** - Parâmetros de desempenho do modelo PLS-DA para diferenciação de cultivares de girassol por óleo, extraído de sementes com pericarpo e extraído de sementes sem pericarpo, e semente, com e sem pericarpo.

ÓLEO		
	Acerto (%)	
	Com Pericarpo	Sem Pericarpo
Calibração	100	100
Calibração ( <i>y-randomization</i> )	100	92
Validação cruzada	95	86
Teste (validação externa)	88	92
SEMENTE		
	Acerto (%)	
	Com Pericarpo	Sem Pericarpo
Calibração	100	100
Calibração ( <i>y-randomization</i> )	89	87
Validação cruzada	99	100
Teste (validação externa)	100	100

A porcentagem de acerto na calibração refere-se as 105 amostras totais para óleo e 300 amostras totais para sementes menos os 25% que foram retirados para teste de validação externa. A porcentagem de acerto da validação cruzada refere-se ao teste em que se retira uma amostra e testa o modelo inúmeras vezes, e a calibração do *y-randomization* é o teste em que se embaralham as classes e testam-se as amostras. Além dessa análise, ainda se testa os 25% das amostras restantes para validar o modelo.

O acerto da diferenciação das cultivares por óleo e sementes pode ser representado também pelo número de amostras classificadas corretamente pela validação cruzada, as quais podem ser observadas na Tabela 4. Observa-se ainda a alocação de cada amostra classificada incorretamente. Como a validação cruzada é um dos testes que comprova o ajuste da calibração do modelo, por

esses dados há uma confirmação que as cultivares foram diferenciadas com suas amostras classificadas dentro de cada classe (cultivar).

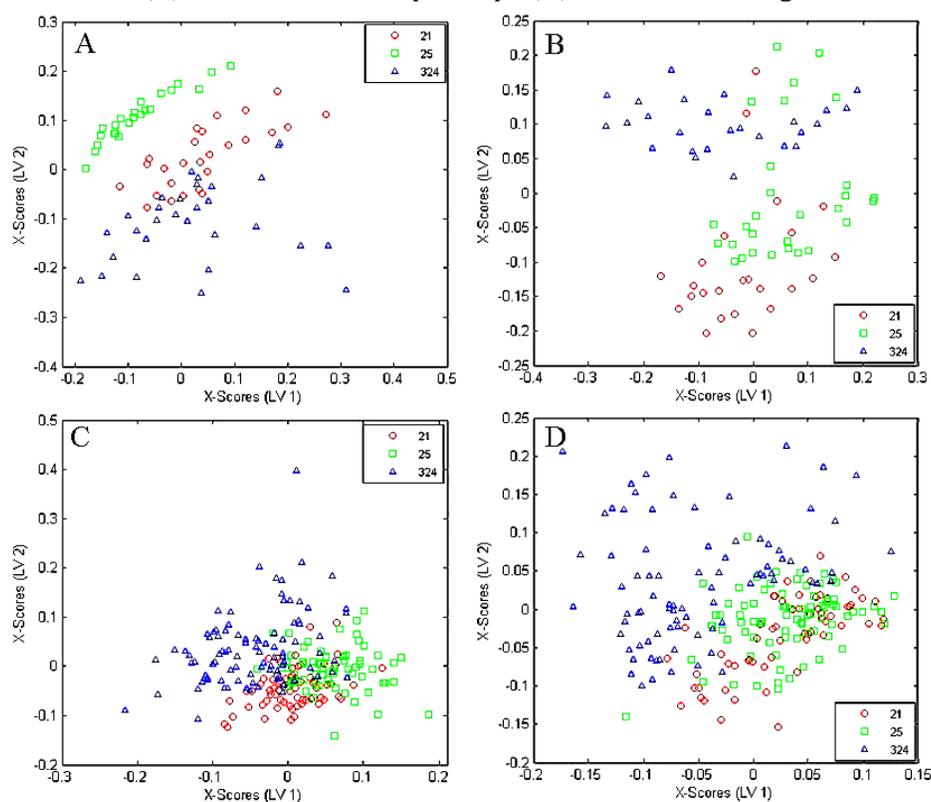
**Tabela 4** - Número de amostras, óleo e sementes, classificadas corretamente pela validação cruzada para cada cultivar de girassol pelo modelo PLS-DA.

ÓLEO - COM PERICARPO					
	BRS 324	NUSOL 2100	NUSOL 2500	Total	Classificadas corretas (%)
BRS 324	29	1		30	97
NUSOL 2100		24	2	26	92
NUSOL 2500		1	22	23	96
ÓLEO - SEM PERICARPO					
	BRS 324	NUSOL 2100	NUSOL 2500	Total	Classificadas corretas (%)
BRS 324	26			26	100
NUSOL 2100		20	4	24	83
NUSOL 2500		7	22	29	76
SEMENTE - COM PERICARPO					
	BRS 324	NUSOL 2100	NUSOL 2500	Total	Classificadas corretas (%)
BRS 324	92	1		93	99
NUSOL 2100		68		68	100
NUSOL 2500			64	64	100
SEMENTE - SEM PERICARPO					
	BRS 324	NUSOL 2100	NUSOL 2500	Total	Classificadas corretas (%)
BRS 324	84			84	100
NUSOL 2100		61		61	100
NUSOL 2500			80	80	100

Na Figura 2 pode-se observar a representação gráfica da discriminação das cultivares de girassol por óleo, extraído de sementes com pericarpo e extraído de sementes sem pericarpo, e sementes, com e sem pericarpo. Observa-

se que em cada gráfico, as amostras de cada cultivar apresentam-se em grupos distintos, representadas por cores diferentes.

**Figura 2** - Múltiplas plotagens de pontuações da PLS-DA para ensaios das amostras de óleo extraído de sementes com pericarpo (A), de óleo extraído de semente sem pericarpo (B), de sementes com pericarpo (C) e de sementes sem pericarpo (D) das cultivares de girassol.



Por meio da espectroscopia NIR e da PLS-DA também foi possível diferenciar dentro de cada cultivar óleo extraído a partir de sementes com pericarpo do óleo extraído de sementes sem pericarpo, e as sementes com pericarpo das sementes sem pericarpo, obtendo altos percentuais de acerto para os parâmetros de desempenho do modelo PLS-DA. O número de variáveis

latentes necessários para o modelo foi de 5 para o óleo, para as três cultivares, 19 para as sementes da cultivar Nusol 2100 e Nusol 2500 e 21 para as sementes da cultivar BRS 324 (Tabela 5).

**Tabela 5** - Parâmetros de desempenho do modelo PLS-DA para diferenciação de óleo extraído de sementes com pericarpo do extraído de sementes sem pericarpo e diferenciação de sementes com pericarpo das sementes sem pericarpo de cada cultivar de girassol.

ÓLEO			
	Acerto (%)		
	BRS 324	Nusol 2100	Nusol 2500
Calibração	100	100	100
Calibração ( <i>y-randomization</i> )	97	98	99
Validação cruzada	100	98	98
Teste (validação externa)	100	100	100
SEMENTE			
	Acerto (%)		
	BRS 324	Nusol 2100	Nusol 2500
Calibração	100	100	100
Calibração ( <i>y-randomization</i> )	88	95	94
Validação cruzada	98	100	100
Teste (validação externa)	100	100	100

A porcentagem de acerto na calibração refere-se as 75 amostras totais para o óleo e 200 amostras totais para sementes menos os 25% que foram retirados para teste de validação externa.

O acerto da diferenciação de óleo extraído de sementes com pericarpo do óleo extraído das sementes sem pericarpo e de sementes com pericarpo das sementes sem pericarpo pode ser representado também pelo número de amostras classificadas corretamente para cada tratamento pela validação cruzada, as quais podem ser observadas na Tabela 6. Observa-se ainda a alocação de cada amostra classificada incorretamente.

**Tabela 6** - Número de amostras, óleo (extraído de sementes com pericarpo e extraído de sementes sem pericarpo) e sementes (com e sem pericarpo), classificadas corretamente pela validação cruzada para cada cultivar de girassol pelo modelo PLS-DA.

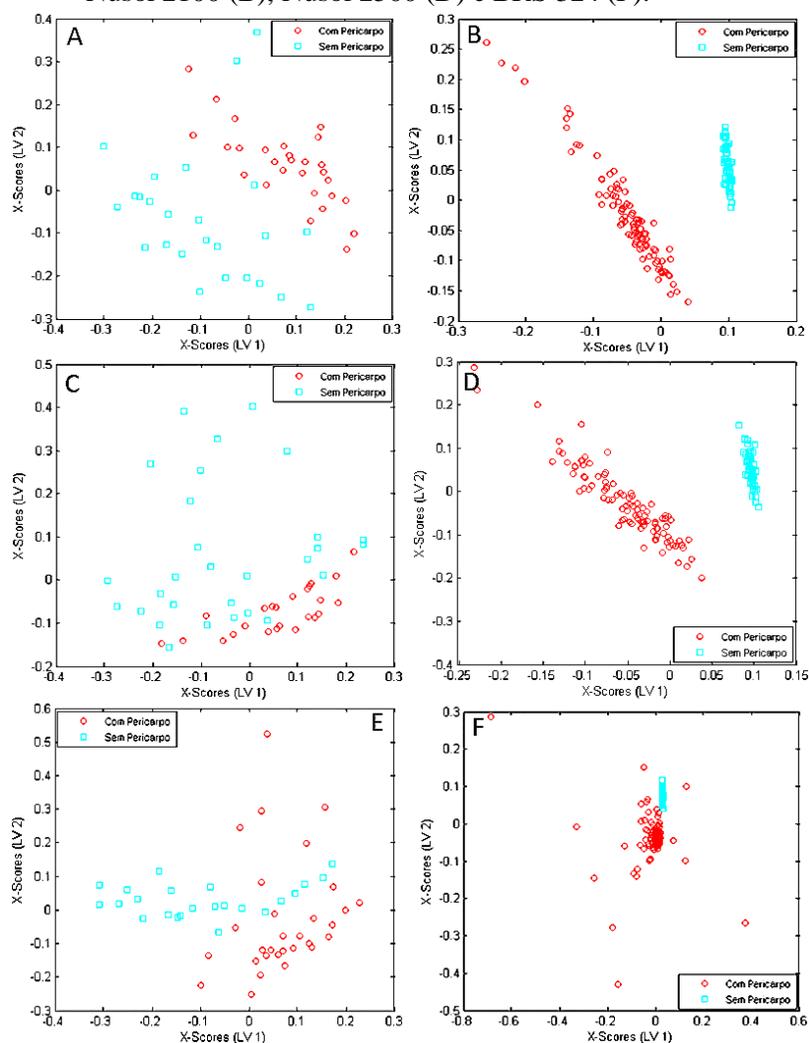
ÓLEO – BRS 324				
	CP	SP	Total	Classificadas corretas (%)
CP	30		30	100
SP		23	23	100
ÓLEO - NUSOL 2100				
	CP	SP	Total	Classificadas corretas (%)
CP	28		28	100
SP	1	24	25	96
ÓLEO - NUSOL 2500				
	CP	SP	Total	Classificadas corretas (%)
CP	24		24	100
SP	1	28	29	96
SEMENTE – BRS 324				
	CP	SP	Total	Classificadas corretas (%)
CP	97	3	100	97
SP		50	50	100
SEMENTE - NUSOL 2100				
	CP	SP	Total	Classificadas corretas (%)
CP	100		100	100
SP		50	50	100
SEMENTE - NUSOL 2500				
	CP	SP	Total	Classificadas corretas (%)
CP	97		97	100
SP		53	53	100

CP = Com Pericarpo; SP = Sem Pericarpo

Na Figura 3 pode-se observar a representação gráfica da discriminação das amostras de óleo extraído de sementes com pericarpo das extraídas de sementes sem pericarpo e das amostras de semente com pericarpo das sem pericarpo de cada cultivar. Observa-se que nas sementes é possível verificar uma melhor discriminação, pois a composição química do pericarpo é diferente do

embrião. Observa-se que em cada gráfico, as amostras de óleo extraído de sementes com pericarpo e sem pericarpo apresentam-se agrupadas separadamente, representadas cada por uma cor. O mesmo é observado para as amostras de sementes.

**Figura 3** - Múltiplas plotagens de pontuações da PLS-DA para ensaios das amostras de óleo de girassol das cultivares Nusol 2100 (A), Nusol 2500 (C) e BRS 324(E) e das amostras de sementes das cultivares Nusol 2100 (B), Nusol 2500 (D) e BRS 324 (F).



Do mesmo modo como este trabalho, Monferrere et al. (2012) obtiveram diferença entre as sementes de girassol pelos níveis de conteúdo oleico: baixo oleico ( $\leq 25\%$  w/w ácido oleico), médio oleico (entre 26% e 76% w/w) e alta oleico ( $\geq 77\%$  w/w ácido oleico) utilizando a espectroscopia infravermelho próximo de refletância difusa (NIRDRS) e análise multivariada de dados por PCA, CA, LDA, e PLS-DA. A PLS-DA foi o método que obteve a melhor capacidade de análise gráfica e discriminante, devido à sua capacidade de reconhecer os três grupos separados. O método NIRDRS-PLS tem a vantagem de não requerer análise cromatográfica para gerar a matriz de concentrações, obtendo assim o espectro de infravermelho que pode resultar na classificação rápida e econômica de variedades de sementes de girassol (MONFERRERE et al., 2012).

Na avaliação da aplicação da tecnologia de espectroscopia de infravermelho próximo para o controle de qualidade de sementes de girassol direto do agricultor e de silo de armazenagem, González-Martín et al. (2013) alcançaram resultados que comprovam que o método analítico empregando espectroscopia no infravermelho próximo pode ser utilizado como uma ferramenta rápida e não destrutiva para a determinação de umidade, gordura e conteúdo alto ou baixo de ácido oleico em amostras de sementes de girassol. O modelo discriminante permitiu a classificação de sementes de girassol com alto ou baixo teor de ácido oleico, com uma taxa de previsão de 90,5% para validação interna e de 89,4% para validação cruzada, taxas semelhantes às encontradas para diferenciação de cultivares deste trabalho.

Precisão semelhante para validação do modelo também foram registrados por Wang et al. (2003), em que as sementes de soja saudáveis e com dano fúngico foram facilmente classificadas usando o modelo PLS com a espectroscopia NIR, a precisão da classificação foi mais de 99% quando a região de comprimento de onda foi de 490-1690 nm. Para a discriminação entre os

vários tipos de danos fúngico obteve precisões de 100, 99, 84, 94, e 96% para a validação, correspondendo a sementes sadias, *Phomopsis*, *C. kikuchii*, mosaico do vírus de soja, e sementes danificadas e com míldio, respectivamente.

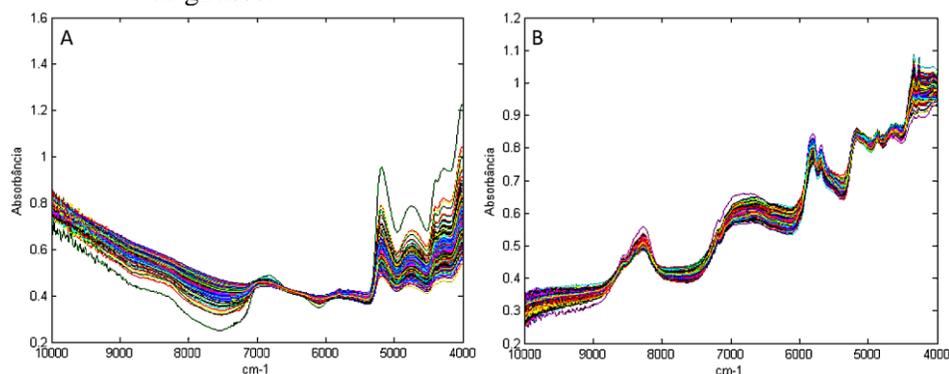
Pande e Mishra (2015) por meio da técnica de espectroscopia FT-NIR associada à análise multivariada de PLS desenvolveu um modelo, utilizando a região espectral 4000-12000  $\text{cm}^{-1}$ , para determinar o nível de ácido fítico em sementes de *Vigna radiata*, obtendo valores de  $R^2$  de 97% para validação e 96% para validação cruzada.

Seo et al. (2016) concluíram que a técnica FT-NIR associada a análise multivariada de PLS-DA são valiosas para a classificação de sementes viáveis e inviáveis de *Capsicum annuum* (pimenta) com precisão de 90,5%.

#### **4.3. Correlação espectro-estrutura por infravermelho próximo para a semente**

Os espectros obtidos das sementes de girassol com pericarpo e sem pericarpo apresentaram um padrão espectral semelhante em relação aos picos de absorbância, o que era esperado, pois se trata da mesma espécie (Figura 4). A maioria das absorções foram observadas entre a faixa de 7000 a 4000  $\text{cm}^{-1}$ , que foram atribuídas para as bandas de combinação dos grupos funcionais -C=O, -NH, -CH, e C-C (MECOZZI; PIETROLETTI; TORNAMBÈ, 2011).

**Figura 4** - Representação dos espectros no infravermelho próximo obtidos de sementes com pericarpo (A) e sem pericarpo (B) das três cultivares de girassol.



Porém, os espectros obtidos de sementes com pericarpo são diferentes dos espectros das sem pericarpo, isso é explicado pelo fato do infravermelho próximo possuir comprimento de onda longo, que caracteriza a frequência e energia como relativamente baixas (LEITE; PRADO, 2012), o que não facilita a penetração da radiação no objeto em estudo. Portanto, nas sementes com pericarpo, que na verdade é um fruto seco tipo aquênio, a radiação infravermelha é absorvida apenas no pericarpo, sendo necessária a retirada desse para a aquisição dos espectros da semente propriamente dita.

A radiação no infravermelho, quando absorvida pelas ligações entre os átomos de determinada molécula, provoca movimentos de distensão, de rotação e vibratórios, que são específicos para cada tipo de ligação covalente presente. Os espectros resultantes dessa absorção podem ser utilizados para identificar compostos puros ou compostos complexos, pois as curvas espectrais do composto no infravermelho próximo podem ser comparadas a uma “impressão digital” do composto (VOGEL, 1992).

A moderna análise NIR envolve a aquisição rápida de grande número de valores de absorção para uma faixa espectral selecionada. A informação contida

na curva espectral é então utilizada para prever a composição química da amostra extraindo-se as variáveis apropriadas de interesse (XIAOBO et al., 2010).

Por meio da representação gráfica dos espectros e suas faixas espectrais é possível determinar os prováveis grupos funcionais químicos presentes na semente de girassol (Tabela 7). Essa correlação é realizada com o auxílio do livro *Practical Guide and Spectral Atlas for Interpretive Near-Infrared Spectroscopy* (WORKMAN JÚNIOR; WEYER, 2012) que contém uma tabela que correlaciona o comprimento de ondas ( $\text{cm}^{-1}$ ) com os grupos funcionais e tipos de matérias.

**Tabela 7** - Correlação espectro-estrutura por infravermelho próximo para a semente de girassol com e sem pericarpo.

COM PERICARPO		
Faixa espectral ( $\text{cm}^{-1}$ )	Grupo funcional	Tipo de material
4281	CHO clássico instrumento de filtro	Celulose
4400	O-H/C-O a partir de glicose	Glicose
4505	N-H combinação de bandas a partir de ureia ( $\text{NH}_2\text{-C=O - NH}_2$ )	N-H a partir de ureia
4762	CHO clássico instrumento de filtro	Glicose
4960	O-H alongamento e flexão combinação a partir de metanol	Metanol O-H
5181	O-H (.O-H & HOH)	Polissacarídeo
6944	C-H de metileno (.CH <sub>2</sub> )	Hidrocarbonetos alifáticos

(continua)

SEM PERICARPO		
Faixa espectral (cm <sup>-1</sup> )	Grupo funcional	Tipo de material
4261	C-H, C-H de metileno, associados com alifático linear (CH <sub>2</sub> ) <sub>N</sub> R	Hidrocarbonetos alifáticos
4329	C-H (.C-H flexão)	Lípido
4521	C=O/C-N/N-H combinação a partir da poliamida 11	Poliamida 11
4625	C-H Aromático C-H (Aril)	C-H Aril
4785	O-H Polimérico (.O-H)	Polimérico .OH
4865	CONH <sub>2</sub> especificamente devido a grupos = O peptídeo N-H e C em ângulo reto para a linha do esqueleto do peptídeo referido como a estrutura β-folha	Proteínas como a segunda derivada normalizada, espectros de proteínas em solução aquosa
4960	O-H alongamento e flexão, combinação a partir de metanol	Metanol O-H
5160	O-H da água, próximo 0 °C	Água
5376	C-Cl orgânicos clorados (.C-Cl grupo)	Hidrocarbonetos clorados
5675	C-H de metileno (.CH <sub>2</sub> ) (simétrica)	Hidrocarbonetos alifáticos
5735	C-H metilo C-H, aromático associado (ArCH <sub>3</sub> )	Aromático (ArCH <sub>3</sub> )
5787	C-H de metileno (.CH <sub>2</sub> ) (Assimétrico)	Hidrocarbonetos de alifáticos
7194	C-H metilo C-H, associado com alifático linear CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>N</sub> CH <sub>3</sub>	Hidrocarbonetos alifáticos
8258	C-H de metileno (.CH <sub>2</sub> )	Hidrocarbonetos alifáticos

Fonte: Practical Guide and Spectral Atlas for Interpretive Near-Infrared Spectroscopy (WORKMAN JÚNIOR; WEYER, 2012).

A celulose é um polímero de glicose, constituinte da parede celular, formando o conjunto de fibra bruta. As maiores quantidades de fibra são encontradas no tegumento, quando comparadas às presentes no endosperma e

embrião. A glicose é um açúcar monossacarídeo, carboidrato simples que não sofre hidrólise, que representa uma pequena porcentagem dos carboidratos presentes na semente (CARVALHO; NAKAGAWA, 2012).

A ureia é o principal substrato da enzima urease que, em meio aquoso, catalisa a hidrólise da ureia em amônia e dióxido de carbono e ocorre em algumas sementes, tais como soja, melão, melancia, entre outras (ALMEIDA et al., 2008). Apesar da abundância de urease em alguns tecidos e principalmente em sementes, pouco se sabe sobre sua função no vegetal. Acredita-se que a urease não desempenhe uma função vital, pois não é um metabólito importante em plantas. A ureia é uma forma de excreção de nitrogênio em animais e não em plantas (POLACCO; HOLLAND, 1993). Ainda assim, postula-se que a principal função das ureases de plantas esteja relacionada à reciclagem de nitrogênio a partir da ureia. Durante a germinação, a ureia endógena é, na sua maioria, produto da degradação de arginina, que é ativamente degradada em ureia e ornitina (GOLDRAIJ; POLACCO, 1999).

O metanol é conhecido por se acumular em sementes em processo de amadurecimento, provavelmente como produto da desmetilação da pectina, por meio da enzima pectinametilsterase (PAULA PEREIRA; ANDRADE, 1998).

Os hidrocarbonetos alifáticos estão presentes na semente de girassol na constituição do lipídeo. Os lipídeos são constituintes encontrados em todas as partes da semente, sendo sua maior proporção no embrião (cotilédones) ou no endosperma (CARVALHO; NAKAGAWA, 2012). Nessas últimas estruturas corresponde ao tecido de reserva (CARVALHO; NAKAGAWA, 2012), que geralmente é representado na forma de triglicerídeos que são, primariamente, constituídos por ácidos graxos (cadeias retas de hidrocarbonetos terminando num grupo carboxila e na outra extremidade um grupo metila) (MARZZOCO; TORRES, 2007).

A poliamida 11, conhecida comercialmente como nylon 11, é um polímero preparado a partir de óleo de triglicerídeos (GÜNER; YAGCIB; ERCIYES, 2006). Esse polímero é extraído principalmente do óleo de mamona (*Ricinus communis*) (WANG et al., 2006).

As sementes de girassol contêm entre os seus metabólicos secundários os compostos fenólicos, que são estruturas químicas que apresentam hidroxilas ligadas a anéis aromáticos de hidrocarbonetos (DEWICK, 2002). O aril deriva-se de anel aromático pela retirada de um átomo de hidrogênio de um átomo de carbono do anel (MOSS; SMITH; TAVERNIER, 1995). O principal composto fenólico da semente de girassol é o ácido clorogênico, que entre esses compostos ele é o mais amplamente distribuído nos vegetais (MANDARINO, 1992).

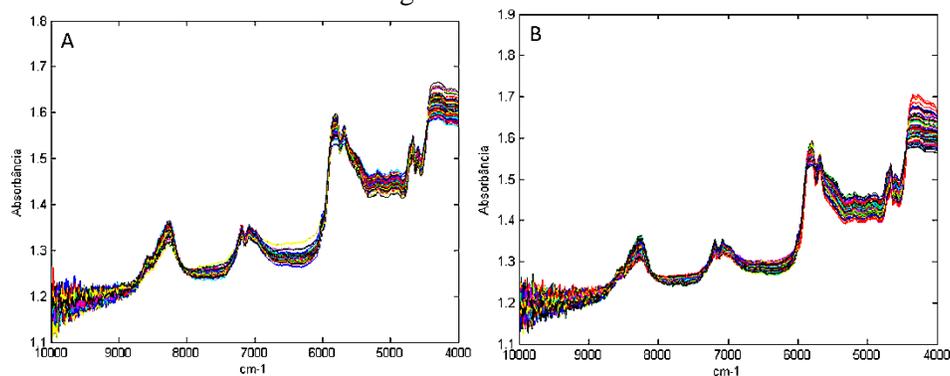
Os hidrocarbonetos clorados, também conhecidos como organoclorados, são mais comumente conhecidos como pesticidas. O DDT (diclorodifenilcloreto) é a substância química mais conhecida, utilizada e estudada durante o século XX (PACÍFICO-DA-SILVA; MELO; BLANCO, 2016). Em 1985, a comercialização, o uso e a distribuição de DDT e de outros organoclorados para uso agropecuário foram proibidos em todo território brasileiro (D'AMATO; TORRES; MALM, 2002). Esses tipos de pesticidas são classificados como poluentes orgânicos persistentes (POPs) por permanecem no ambiente por muito tempo e serem transportados no ambiente ao longo de grandes distâncias para lugares distantes dos pontos de lançamento (MÖRNER; BOS; FREDRIX, 2002).

#### **4.4. Correlação espectro-estrutura por infravermelho próximo para o óleo**

Para os espectros obtidos do óleo de girassol, extraído de sementes com e sem pericarpo, observou-se a mesma situação da semente, em que

demonstraram um padrão espectral semelhante em relação aos picos de absorbância (Figura 5). O mesmo comportamento da absorção das sementes foi observado para o óleo, em que a maioria das absorções foram observadas entre cerca de 7000 a 4000  $\text{cm}^{-1}$ .

**Figura 5** - Representação dos espectros no infravermelho próximo obtidos de óleo extraído de sementes com pericarpo (A) e sem pericarpo (B) das três cultivares de girassol.



Por meio da representação gráfica dos espectros e suas faixas espectrais também foi possível determinar os prováveis grupos funcionais químicos presentes no óleo de girassol (Tabela 8), assim foi observado nas sementes (Tabela 7).

**Tabela 8** - Correlação espectro-estrutura por infravermelho próximo para o óleo de girassol tanto extraído de sementes com pericarpo quanto extraído de sementes sem pericarpo.

Faixa espectral (cm <sup>-1</sup> )	Grupo funcional	Tipo de material
4545	CHO Carboidrato (.CHO)	Carboidratos
4587	N-H proteína: N-H	Proteínas/aminoácidos
4625	C-H aromático C-H (Aril)	C-H Aril
4673	C-H/C=O lipídeo associado (.RC=CH & RC=O)	Lipídeo
4975	N-H/C-N banda combinação de amidas primárias (R-C=O – NH <sub>2</sub> )	N-H banda combinação de amidas primárias
5181	O-H (.O-H & HOH)	Polissacarídeos
5675	C-H de metileno (.CH <sub>2</sub> ) (simétrica)	Hidrocarbonetos alifáticos
5735	C-H metilo C-H, aromático associado (ArCH <sub>3</sub> )	Aromático (ArCH <sub>3</sub> )
5787	C-H de metileno (.CH <sub>2</sub> ) (Assimétrico)	Hidrocarbonetos alifático
7085	C-H de metileno C-H, associados com alifático ramificado RC(CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> ou RCH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	Hidrocarbonetos alifáticos
7163	C-H de metileno C-H, associados com alifático ramificado RC(CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> ou RCH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	Hidrocarbonetos alifáticos
7194	C-H metilo C-H, associado com alifático linear CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>N</sub> CH <sub>3</sub>	Hidrocarbonetos alifáticos
8258	C-H de metileno (.CH <sub>2</sub> )	Hidrocarbonetos alifáticos

Fonte: Practical Guide and Spectral Atlas for Interpretive Near-Infrared Spectroscopy (WORKMAN JÚNIOR; WEYER, 2012).

As faixas espectrais 4625, 5675, 5735, 5787, 7194 e 8258 cm<sup>-1</sup> são as mesmas que aparecem para os espectros das sementes sem pericarpo. O lipídeo tanto está presente nas sementes sem pericarpo quanto no óleo, mas em faixas espectrais diferentes, 4329 cm<sup>-1</sup> na semente e 4673 cm<sup>-1</sup> no óleo. Os demais

compostos diferentes das sementes são carboidrato, proteínas/aminoácidos e N-H banda combinação de amidas primárias.

## **5. CONCLUSÃO**

A técnica de espectroscopia no infravermelho próximo associada à análise multivariada diferencia cultivares de girassol, tanto por meio do óleo, extraído de semente com pericarpo e extraído de semente sem pericarpo, quanto por semente, com e sem pericarpo.

A técnica de espectroscopia NIR e a análise multivariada também diferenciam dentro da mesma cultivar o óleo extraído de sementes com pericarpo do óleo extraído de sementes sem pericarpo, e diferenciam sementes com pericarpo das sementes sem pericarpo da mesma cultivar.

## REFERÊNCIA

- ABDI, H. Partial Least Squares (PLS) regression. In: LEWIS-BECK, M.; BRYMAN, A.; FUTING, T. **Encyclopedia of social sciences research methods**. Thousand Oaks: [s. n.], 2003.
- ABDI, H. Partial Least Squares (PLS) regression. In: SALKIND, N. (Ed.). **Encyclopedia of measurement and statistics**. Thousand Oaks: [s. n.], 2007.
- AGELET, L. E. et al. Measurement of single soybean seed attributes by near-infrared technologies. A comparative study. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 60, p. 8314–8322, 2012.
- ALMEIDA, V. V. et al. Catalisando a hidrólise da ureia em urina. **Química Nova na Escola**, São Paulo, v. 28, p. 42-46, 2008.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL SEED ANALYSTS. **Seed vigor testing handbook**. Springfield, 1983. 88 p.
- AVIANI, D. M.; SANTOS, F. S. Uso de marcadores moleculares em proteção de cultivares. In: AVIANI, D. M.; HIDALGO, J. A. F. (Ed.). **Proteção de cultivares no Brasil**. Brasília: MAPA/ACS, 2011. p. 155-158.
- BEN-GERA, I.; NORRIS, K. H. Direct spectrophotometric determination of fat and moisture in meat products. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 33, n. 1, p. 64-67, 1968.
- BRASIL. **Lei nº 9.456, de 25 de abril de 1997**. Institui a lei de proteção de cultivares. Brasília, 1997. Disponível em: <[http://www.planalto.gov.br/ccivil\\_03/leis/L9456.htm](http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/leis/L9456.htm)>. Acesso em: 10 maio 2016.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Brasília: SND/CLAV, 2009. 399 p.
- BRIGHENTI, A. M. et al. Cadastramento fitossociológico de plantas daninhas na cultura de girassol. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 38, n. 5, p. 651-657, 2003.
- CANTARELLI, M. A. et al. Determination of oleic acid in sunflower seeds by infrared spectroscopy and multivariate calibration method. **Talanta**, London, v. 80, n. 2, p. 489-492, 2009.

- CARRÃO-PANIZZI, M. C.; MANDARINO, J. M. G. **Girassol**: derivados protéicos. Londrina: Embrapa-CNPSO, 1994. 27 p.
- CARVALHO, C. G. P. et al. **Cultivar de girassol BRS 324**: variedade com alto teor de óleo e precocidade. Londrina: Embrapa Soja, 2013. 1 folder.
- CARVALHO, N. M.; NAKAGAWA, J. **Sementes**: ciência, tecnologia e produção. Jaboticabal: Funep, 2012. 590 p.
- CASTRO, C. et al. **A cultura do girassol**. Londrina: EMBRAPA-CNPSO, 1997. 36 p.
- CASTRO, L. S.; SILVA JÚNIOR, A. G. Análise da volatilidade de preços do óleo de girassol no Brasil de 1960 a 2011. **Revista de Política Agrícola**, Brasília, v. 22, n. 2, p. 76-84, 2013.
- CHIKKADEVIAIAH, H.; SUJATHA, H. L.; NANDINI, C. Correlation and path analysis in sunflower. **Helia**, Novi Sad, v. 25, n. 37, p. 109-118, 2002.
- D'AMATO, C.; TORRES, J. P. M.; MALM, O. DDT (dichlorodiphenyltrichloroethane): toxicity and environmental contamination-a review. **Química Nova**, São Paulo, v. 25, n. 6A, p. 995-1002, 2002.
- DECKER, M.; NIELSEN, P. V.; MARTENS, H. Near-infrared spectra of *Penicillium camembarti* strains separated by extend multiplicative signal correction improved prediction of physical and chemical variations. **Applied Spectroscopy**, Baltimore, v. 59, n. 1, p. 56-68, 2005.
- DEWICK, P. M. **Medicamentos naturais**: uma abordagem biossintética. New York: J. Wiley, 2002. 515 p.
- FERRER-GALLEGO, R.; HERNÁNDEZ-HIERRO, J. M.; RIVAS-GONZALO, J. C. Evaluation of sensory parameters of grapes using near infrared spectroscopy. **Journal of Food Engineering**, Essex, v. 118, p. 333-339, 2013.
- FUSARI, C. M. et al. Identification of single nucleotide polymorphisms and analysis of linkage disequilibrium in sunflower elite inbred lines using the candidate gene approach. **BMC Plant Biology**, London, v. 8, n. 7, p. 1-14, 2008.
- GOLDRAIJ, A.; POLACCO, J. C. Arginase is inoperative in developing soybean embryos. **Plant Physiology**, Lancaster, v. 119, n. 1, p. 297-304, 1999.

GOMES, C. N. et al. Caracterização morfoagronômica e coeficientes de trilha de caracteres da produção em mandioca. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 42, p. 1121-1130, 2007.

GONZÁLEZ-MARTÍN, I. et al. Control of quality and silo storage of sunflower seeds using near infrared technology. **Grasas y Aceites**, Sevilla, v. 64, n. 1, p. 30-35, 2013.

GOTOR, A. A. et al. Determination of tocopherols and phytosterols in sunflower seeds by NIR spectrometry. **European Journal of Lipid Science and Technology**, Weinheim, v. 109, n. 5, p. 525-530, 2007.

GÜNER, F. S.; YAĞCI, Y.; ERCIYES, A. T. Polymers from triglyceride oils. **Progress in Polymer Science**, Elmsford, v. 31, n. 7, p. 633-670, 2006.

HACISALIHOGU, G.; LARBI, B.; SETTLES, A. M. Near-infrared reflectance spectroscopy predicts protein, starch, and seed weight in intact seeds of common bean (*Phaseolus vulgaris*L.). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Munique, v. 58, n. 2, p. 702-706, 2010.

HAIR, J. F. et al. **Análise multivariada de dados**. 6. ed. Porto Alegre: Bookman, 2009. 688 p.

KAFFKA, K. J. et al. Attempts to determine oil, protein, water and fiber content in sunflower seeds by the NIR technique [near infrared]. **Acta Alimentaria**, Budapest, v. 11, p. 253-269, 1982.

LEITE, D. O.; PRADO, R. J. Espectroscopia no infravermelho: uma apresentação para o Ensino Médio. **Revista Brasileira de Ensino de Física**, Cuiabá, v. 34, n. 2, p. 2504-2509, 2012.

LEITE, R. M. V. B. C.; BRIGHENTI, A. M.; CASTRO, C. **Girassol no Brasil**. Londrina: Embrapa Soja, 2005. 641 p.

LIMA, A.; BAKKER, J. Espectroscopia no infravermelho próximo para a monitorização da perfusão tecidual. **Revista Brasileira Terapia Intensiva**, São Paulo, v. 23, n. 3, p. 341-351, 2011.

MAGUIRE, J. D. Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, Madison, v. 2, n. 1, p. 176-177, 1962.

MANDARINO, J. M. G. **Características bioquímicas e nutricionais do óleo e do farelo de girassol**. Londrina: EMBRAPA-CNPSO, 1992.

- MARZZOCO, A.; TORRES, B. B. **Bioquímica básica**. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2007. 404 p.
- MCCLURE, W. F. 204 years of near infrared technology: 1800- 2003. **Journal Near Infrared Spectroscopy**, Sussex, v. 11, n. 6, p. 487-518, 2003.
- MECOZZI, M.; PIETROLETTI, M.; TORNAMBÈ, A. Molecular and structural characteristics in toxic algae cultures of *Ostreopsis ovata* and *Ostreopsis* spp. evidenced by FTIR and FTNIR spectroscopy. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, Amsterdam, v. 78, n. 5, p. 1572-1580, 2011.
- MENEZES, M. et al. Identificação de cultivares de milho, feijão, algodão e soja por meio de enzimas e proteínas resistentes ao calor. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 30, n. 2, p. 111-122, 2008.
- MONFERRERE, G. L. et al. Chemometric characterization of sunflower seeds. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 77, n. 9, p. C1018-C1022, 2012.
- MORGANO, M. A. et al. Determinação de açúcar total em café cru por espectroscopia no infravermelho próximo e regressão por mínimos quadrados parciais. **Química Nova**, São Paulo, v. 30, n. 2, p. 346-350, 2007.
- MÖRNER, J.; BOS, R.; FREDRIX, M. **Reducing and eliminating the use of persistent organic pesticides: guidance on alternative strategies for sustainable pest and vector management**. Gêneva: UNEP, 2002. 91p.
- MOSS, G. P.; SMITH, P. A. S.; TAVERNIER, D. Glossary of class names of organic compounds and reactivity intermediates based on structure (IUPAC Recommendations 1995). **Pure and Applied Chemistry**, Oxford, v. 67, n. 8/9, p. 1307-1375, 1995.
- MUKASA, Y.; ABE, H.; TAGUCHI, K. Application of near-infrared diffuse reflectance spectroscopic analysis for estimating the ratio of true seed weight to fruit weight in sugar beet seed. **Plant Production Science**, Tokyo, v. 8, n. 1, p. 3-7, 2005.
- NEUMANN, M. et al. Girassol (*Helianthus annuus* L.) para produção de silagem de planta inteira. **Pesquisa Aplicada & Agrotecnologia**, Guarapuava, v. 2, n. 3, p. 181-190, 2009.
- NOORYAZDAN, H. et al. Construction of a crop - wild hybrid population for broadening genetic diversity in cultivated sunflower and first evaluation of its

combining ability: the concept of neo domestication. **Euphytica**, Wageningen, v. 178, n. 3, p. 159-175, 2011.

NUNES, C. A. et al. Chemoface: a novel free user-friendly interface for chemometrics. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, São Paulo, v. 23, n. 11, p. 2003-2010, 2012.

NUSSED. **Catálogo de productos**. Disponível em: <<http://nuseed.com/ar/wp-content/uploads/sites/8/2016/03/Catalogo-Nuseed-Productos-2016.pdf>>. Acesso em: 16 maio 2016.

PACÍFICO-DA-SILVA, I.; MELO, M. M.; BLANCO, B. S. Efeitos tóxicos dos praguicidas para abelhas. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**, Fortaleza, v. 10, n. 1, p. 142-157, 2016.

PANDE, R.; MISHRA, H. N. Fourier transform near-infrared spectroscopy for rapid and simple determination of phytic acid content in green gram seeds (*Vigna radiata*). **Food Chemistry**, London, v. 172, p. 880-884, 2015.

PAULA PEREIRA, P. A.; ANDRADE, J. B. Fontes, reatividade e quantificação de metanol e etanol na atmosfera. **Química Nova**, São Paulo, v. 21, n. 6, p. 745, 1998.

POLACCO, J. C.; HOLLAND, M. A. Roles of urease in plant cells. In: JEON, K.W.; JARVIK, J. (Ed.). **International review of cytology**. San Diego: Academic, 1993. p. 65-103.

ROY, P. P.; ROY, K. On some aspects of variable selection for partial least squares regression models. **QSAR & Combinatorial Science**, Weinheim, v. 27, n. 3, p. 302-313, 2008.

SATO, T. et al. Nondestructive determination of fatty acid composition of husked sunflower (*Helianthus annua* L.) seeds by near-infrared spectroscopy. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, Chicago, v. 72, n. 10, p. 1177-1183, 1995.

SENA, M. M. et al. Avaliação do uso de métodos quimiométricos em análise de solos. **Química Nova**, São Paulo, v. 23, n. 4, p. 547-555, 2000.

SEO, Y. W. et al. Non-Destructive sorting techniques for viable pepper (*Capsicum annuum* L.) seeds using fourier transform near-infrared and raman spectroscopy. **Journal of Biosystems Engineering**, London, v. 41, n. 1, p. 51-59, 2016.

- SETH, C. S. et al. EDTA-enhanced lead phytoremediation in sunflower (*Helianthus annuus* L.) hydroponic culture. **Plant Soil**, The Hague, v. 347, p. 231–242, 2011.
- SILVA, J. I. C. et al. Períodos de interferência de plantas daninhas na cultura do girassol. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 29, n. 5, p. 1255-1266, 2013.
- SILVA, P. R. R.; FREITAS, T. F. S. Biodiesel: o ônus e o bônus de produzir combustível. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 38, n. 3, p. 843-851, 2008.
- SOUZA, A. M. et al. Experimento didático de quimiometria para calibração multivariada na determinação de paracetamol em comprimidos comerciais utilizando espectroscopia no infravermelho próximo: um tutorial, parte II. **Química Nova**, São Paulo, v. 36, n. 7, p. 1057-1065, 2013.
- SUN, Z. et al. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 60, p. 3260–3265, 2012.
- TIGABU, M.; ODÉN, P. C. Simultaneous detection of filled, empty and insectinfested seeds of three *Larix* species with single seed near-infrared transmittance spectroscopy. **New Forests**, Dordrecht, v. 27, p. 39–53, 2004.
- VAKNIN, Y. et al. Predicting *Jatropha curcas* seed-oil content, oil composition and protein content using near-infrared spectroscopy—a quick and non-destructive method. **Industrial Crops and Products**, St Martin d'Herès, v. 34, n. 1, p. 1029-1034, 2011.
- VOGEL, A. I. **Análise química quantitativa**. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1992. 712 p.
- WANG, B. B. et al. Preparação e caracterização de nylon 6 11 copolímero. **Materials Letters**, Amsterdam, v. 60, n. 21, p. 2715-2717, 2006.
- WANG, D. et al. Classification of fungal-damaged soybean seeds using near-infrared spectroscopy. **International Journal of Food Properties**, New York, v. 7, n. 1, p. 75-82, 2003.
- WESTAD, F.; SCHMIDT, A.; KERMIT, M. Incorporating chemical band-assignment in near infrared spectroscopy regression models. **Journal of Near Infrared Spectroscopy**, Sussex, v. 16, n. 3, p. 265-273, 2008.
- WORKMAN JÚNIOR, J.; WEYER, L. **Practical guide and spectral atlas for interpretive near-infrared spectroscopy**. 2<sup>nd</sup> ed. Boca Raton: CRC, 2012.

XIAOBO, Z. et al. Métodos de seleção de variáveis em espectroscopia no infravermelho próximo. **Acta Analytica Chimica**, Louisville, v. 667, n. 1, p. 14-32, 2010.