

**APLICAÇÃO DA ESPECTROSCOPIA NIR PARA ANÁLISE
EXPLORATÓRIA DE PLUMAS E TECIDOS DE ALGODÃO COLORIDO**

GERMANA ROSY MEDEIROS DE SOUSA

UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA

CAMPINA GRANDE-PB

MARÇO DE 2013

APLICAÇÃO DA ESPECTROSCOPIA NIR PARA ANÁLISE EXPLORATÓRIA DE PLUMAS E TECIDOS DE ALGODÃO COLORIDO

GERMANA ROSY MEDEIROS DE SOUSA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias da Universidade Estadual da Paraíba / Embrapa Algodão, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Ciências Agrárias / Área de Concentração: Agricultura Familiar e Sustentabilidade.

Orientador: Prof. Dr. Everaldo Paulo de Medeiros

CAMPINA GRANDE-PB

MARÇO DE 2013

É expressamente proibida a comercialização deste documento, tanto na sua forma impressa como eletrônica. Sua reprodução total ou parcial é permitida exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, desde que na reprodução figure a identificação do autor, título, instituição e ano da dissertação

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA CENTRAL-UEPB

A725a

Sousa, Germana Rosy Medeiros de.

Aplicação da espectroscopia NIR para análise exploratória de plumas e tecidos de algodão colorido. [manuscrito] / Germana Rosy Medeiros de Sousa. – 2013.

55 f.: il. color.

Digitado

Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias), Centro de Ciências Humanas e Agrárias, Universidade Estadual da Paraíba, 2013.

“Orientação: Prof. Dr. Everaldo Paulo de Medeiros, Pró-Reitoria de Pós-Graduação e Pesquisa”

1. Algodão colorido. 2. Reflectância difusa. 3. Espectroscopia. I. Título.

21. ed. CDD 633.51

APLICAÇÃO DA ESPECTROSCOPIA NIR PARA ANÁLISE EXPLORATÓRIA DE PLUMAS E TECIDOS DE ALGODÃO COLORIDO

GERMANA ROSY MEDEIROS DE SOUSA

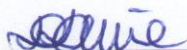
Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias da Universidade Estadual da Paraíba / Embrapa Algodão, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Ciências Agrárias / Área de Concentração: Agricultura Familiar e Sustentabilidade.

Aprovada em 08 de março de 2013

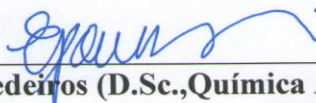
Banca Examinadora:



Maria Betania Hermenegildo dos Santos (D. Sc., Química Analítica) – UFPB



Liziane Maria de Lima (D. Sc., Ciências Biológicas) – Embrapa Algodão



Everaldo Paulo de Medeiros (D.Sc., Química Analítica) – Embrapa Algodão
Orientador

A Deus, por sua infinita bondade e misericórdia, força maior para o meu desenvolvimento como ser humano. Por ter posto em minha vida uma família abençoada.

Dedico!

AGRADECIMENTOS

A **Deus**, o maior educador diante dos homens que me inspirou na sabedoria e incentivou-me a ser autêntica, mostrando o caminho para descobrir os valores da simplicidade, sinceridade e coerência.

À minha filha, **Emanuelle Yohanna Medeiros de Oliveira**, minha maior fonte de inspiração.

Ao meu esposo, **Egli Emanuel** pelo seu amor, companheirismo, por acreditar na minha capacidade, pelo seu incentivo e apoio.

Aos Meus pais, **Maria Dalva** e **Josivaldo de Sousa**, e meus irmãos **Jermeson Carlos**, **Willame Medeiros** e **Wadna Mayanne**, que cuidaram com todo amor de minha filha quando estive ausente, me deram força para lutar e conquistar meus ideais.

A minha sogra **Edilsa** e minhas cunhadas **Edyla**, **Ericarla** e **Eduina** pelos conselhos que me ajudaram a superar momentos difíceis.

Ao Prof. Dr. **Everaldo Paulo de Medeiros**, pela oportunidade de realizar este trabalho, apoio, confiança e ensinamentos para a minha formação profissional.

À **Embrapa Algodão**, por disponibilizar suas dependências e equipamentos na execução do trabalho.

A **Maísa** e **Joenio** do Laboratório de fibras e fios pelo fornecimento das amostras de plumas de algodão colorido.

Ao pesquisador **João Paulo** da Embrapa Algodão por ter conseguido às amostras de tecidos de algodão colorido.

À Coordenação do Curso de Ciências Agrárias, em especial ao Prof. Dr. **Napoleão Esberard de Macêdo Beltrão** pelo apoio e ensinamentos.

À Prof. Dra **Prof. Liziane Maria de Lima** e Prof. Dra **Maria Betania Hermenegildo dos Santos**, por ter aceitado o convite de fazer parte da Banca.

A todos do Laboratório de Química (LATEQ) **Katcilânya, Pollyne, Márcia, Lígia, Welma, Talita, Lidiane, Iranilma** em especial, **Betania, Edijane e Clebia**, pela colaboração, boa convivência e amizade.

As minhas colegas **Patrícia, Emanuelle, Darlene e Monaliza**, pelo companheirismo e amizade, em especial a **Taiza Soares** pela troca de idéias, de conhecimentos, experiências e pelo incentivo a busca de novos conhecimentos.

A **Capes** pelo fornecimento da bolsa.

A todos que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho. Obrigada!

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
1.1 Objetivos.....	3
1.1.1. Objetivo Geral	3
1.1.2. Objetivos Específicos	3
2. REVISÃO DE LITERATURA	4
2.1 Aspectos gerais e importância da cultura	4
2.2. Algodão Colorido	5
2.2.1. BRS 200 Marrom.....	6
2.2.2. BRS Verde	6
2.2.3. BRS Rubi	7
2.2.4. BRS Safira	7
2.2.5. BRS Topázio.....	7
2.3. Flavonóides.....	7
2.4. Espectroscopia	9
2.4.1. Espectroscopia Ultravioleta e Visível.....	9
2.4.2. Espectroscopia no Infravermelho	9
2.5. Quimiometria.....	11
2.5.1. Técnicas de reconhecimento de padrões.....	11
2.6. Calibração.....	13
2.6.1. Regressão por mínimos quadrados parciais (PLS)	13
3. MATERIAL E MÉTODOS	14
3.1 Local dos ensaios.....	14
3.2 Seleção de amostras de plumas e tecidos de algodão naturalmente colorido.....	14
3.3. Preparo das amostras de algodão branco tingido artificialmente	16
3.4. Instrumentação.....	17
3.5. Análises quimiométricas.....	19
3.6. Isolamento e medição de flavonóides.....	19

3.6.1. Instrumentação.....	19
3.6.2. Reagentes e padrão de referência	20
3.6.3. Procedimentos Experimentais	20
3.6.4. Tempo de extração de pigmentos	20
3.6.5. Medição de flavonóides.....	20
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	23
4.1. Seleção da região espectral de trabalho e pré-processamento dos espectros das plumas de algodão colorido e tingidas.....	23
4.1.1. Análise exploratória dos dados.....	25
4.2. Seleção da região espectral de trabalho e pré-processamento dos dados de tecidos de algodão colorido, adulterados e falsificados.....	28
4.2.1. Análise exploratória dos dados.....	30
4.3. Aplicação do modelo SIMCA as plumas e tecidos coloridos, adulterados e falsificados ..	31
4.4. Tempo de extração de pigmentos	32
4.5. Calibração multivariada não destrutiva para flavonóides.....	33
5. CONCLUSÕES.....	35
REFERÊNCIAS	36

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Características gerais das cinco cultivares de algodão colorido.....	5
Tabela 2: Regiões espectrais do infravermelho.....	10
Tabela 3: Lotes de plumas utilizados na análise.....	15
Tabela 4: Amostras de tecidos utilizados na análise.....	16
Tabela 5: Resumo da aplicação dos modelos SIMCA (5% de nível de significância) para plumas.....	31
Tabela 6: Resumo da aplicação dos modelos SIMCA (5% de nível de significância) para tecidos entre 400-2500 nm.....	31
Tabela 7: Resultados obtidos para o modelo de calibração multivariada (PLS).....	33

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Estrutura básica dos flavonóides.....	8
Figura 2: Amostras de plumas de algodão colorido.....	14
Figura 3: Amostras de tecidos de algodão colorido.....	15
Figura 4: Amostras tingidas com corantes naturais e sintético.....	17
Figura 5: Espectrofotômetro XDS <i>near-infraredRapidContentTMAnalyser</i>	18
Figura 6: Célula de quartzo e tampa reflexiva para célula de quartzo.....	18
Figura 7: Padrão de reflectância.....	19
Figura 8: Pluma da BRS Verde, sem adição de reagente (A), com adição de reagente (B).....	21
Figura 9: Sistema de destilação (C), Pluma da BRS Verde após duas horas de destilação (D).....	21
Figura 10: Espectros brutos das 147 amostras de algodão colorido e tingidas na região de 400-2500 nm.....	23
Figura 11: Espectros NIR Pré-Processados (SNV) das plumas de algodão colorido. A área grifada representa a região em que ocorre a melhor identificação das amostras na PCA.....	24
Figura 12: Gráfico dos escores de PC1 <i>versus</i> PC2 das amostras das cinco cultivares de algodão colorido: BRS Topázio (Rosa), BRS Marrom (Azul), BRS Safira (Cinza claro), BRS Rubi (Marrom), BRS Verde (Cinza escuro) e amostras tingidas: Bege sintético (vermelho), Cajueiro roxo (Verde) e Barbatimão (Azul) na região de 629 a 717 nm.....	25
Figura 13: Espectros Brutos NIR da BRS Rubi e BRS Safira na região de 400-2500 nm.....	25
Figura 14: Espectros NIR Pré-Processados (Savitzky- Golay) da BRS Rubi e BRS Safira na região de 400-2500 nm.....	27
Figura 15: Gráfico dos escores de PC1 <i>versus</i> PC2 da cultivar BRS Safira (Cinza) e BRS Rubi (Marrom) na região de 1860-1874 nm.....	28
Figura 16: Espectros brutos dos tecidos de algodão colorido, adulterados e falsificados.....	29
Figura 17: Espectros NIR Pré-Processados (Savitzky- Golay) dos tecidos de algodão colorido.....	29
Figura 18: Gráfico dos escores de PC1 <i>versus</i> PC2 dos tecidos confeccionados com algodão branco, colorido e adulterados: A - algodão branco (círculo amarelo), colorido: B - BRS Verde (círculo verde), C - BRS Marrom (círculo marrom), D - BRS Safira (círculo azul), E- BRS Rubi (círculo roxo) e adulterado: G - Vestido (círculo rosa), F - Blusa (círculo vermelho).....	30
Figura 19: Absorbâncias médias em extrações realizadas em diferentes tempos.....	32

Figura 20: Valores experimentais médios das triplicatas (Y_{medidos}) *versus* valores preditos (Y_{preditos}) do conjunto de calibração do modelo de regressão usando quatro variáveis latentes....34

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

HCA - Análise Hierárquica de Agrupamentos

MLR - Regressão Linear Múltipla

MSC - Correção multiplicativa de sinal

NIR - Infravermelho Próximo

PC's - Componentes Principais

PCA - Análise de Componentes Principais

PCR - Regressão em componentes principais

PLS - Regressão por mínimos quadrados parciais

R^2 – Coeficiente de determinação

RMSECV – Raiz Quadrada dos erros médios de validação cruzada

r – Coeficiente de correlação

SIMCA - Modelagem independente e flexível por analogia de classe

SNV – Transformação Padrão Normal de Variação

UV-VIS - Ultravioleta e visível

VIS/NIR –Vísivel e Infravermelho próximo

VL – Variáveis Latentes

RESUMO

SOUSA, Germana Rosy Medeiros de, Ms., Universidade Estadual da Paraíba/Embrapa Algodão; fevereiro de 2013. **Aplicação da espectroscopia NIR para análise exploratória de plumas e tecidos de algodão colorido.** Orientador: Everaldo Paulo de Medeiros.

Durante longos períodos os tecidos produzidos a partir de algodão foram confeccionados apenas com a fibra branca, sendo necessário o tingimento para a obtenção de tecidos coloridos. O algodão naturalmente colorido vem destacando-se como produto de maior valor agregado, por apresentar redução dos custos de obtenção do tecido durante o processo de industrialização e menor impacto ambiental ao longo da cadeia de produção. Existe uma carência de técnicas para a determinação rápida e precisa da qualidade e classificação da fibra de algodão, o que pode ser obtido com o uso da espectroscopia de reflectância VIS/NIR e técnicas quimiométricas. Objetivou-se com esse trabalho classificar plumas e tecidos de algodão colorido, usando a espectroscopia VIS/NIR com o método de classificação SIMCA e predição de flavonóides por PLS. Foram utilizadas amostras das cinco cultivares de algodão colorido (BRS 200 Marrom, BRS Topázio, BRS Rubi, BRS Verde e BRS Safira) desenvolvidas pela Embrapa, como também amostras de algodão branco tingidos artificialmente. Para análise dos tecidos foram utilizadas amostras confeccionadas a partir do algodão naturalmente colorido e duas amostras consideradas falsas. As medidas espectrais foram registradas na região de 400 a 2500 nm com três repetições autênticas para cada amostra. Estas foram realizadas invertendo as faces inferior e superior de cada amostra. Os espectros de reflectância das plumas foram pré-processados com a técnica de Variação Normal Padrão (SNV), os dos tecidos com algoritmo Savitzky-Golay usando-se primeira derivada e janela de 11 pontos com ajuste por polinômio de segunda ordem. A Análise de Componentes Principais (PCA) confirmou a tendência de formação de agrupamentos nas PC1 (98%, 76%) vs PC2 (1%, 13%) entre as cultivares de algodão colorido e tecidos industrializados, respectivamente. O método de classificação SIMCA possibilitou o reconhecimento de amostras de algodão colorido com resultados 100% de classificação correta das classes modeladas ao nível de estatístico de 1%, 5% e 10%. A calibração multivariada (PLS) para flavonóides na faixa de 80,3 a 383,5 µg/ 10 mL forneceu os seguintes parâmetros, RMSECV= 32,7 µg/ 10 mL, $r=0,9465$, variáveis latentes = 4. Portanto, a espectroscopia VIS-NIR permite analisar de forma não destrutiva e rápida a autenticidade de amostras de plumas e tecidos de algodão colorido e inferir sobre a concentração de flavonóides totais.

Palavras-chave: Colored cotton, Reflectância difusa, Classificação e Análise multivariada.

ABSTRACT

SOUSA, Germana Rosy Medeiros de, Ms., State University of Paraíba / Embrapa Cotton; February 2013. **Application of NIR spectroscopy for exploratory analysis of the plumes and tissues cotton fabrics.** Supervisor: Everaldo Paulo de Medeiros.

During long periods fabrics made from cotton were made using only the white fiber dyeing is necessary for obtaining colored fabrics. The naturally colored cotton is standing out as a product with higher added value, by having lower costs of obtaining tissue during the process of industrialization and lower environmental impact throughout the supply chain. There is a lack of techniques for the rapid and accurate determination and classification of quality of cotton fiber, which can be obtained with the use of reflectance spectroscopy VIS / NIR and chemometric techniques. The objective of this work sorting feathers and colorful cotton fabrics, using spectroscopy VIS / NIR with the classification method SIMCA and PLS prediction by flavonoids. Samples of five cultivars of colored cotton (Brown BRS 200, BRS Topaz, Ruby BRS, BRS and BRS Safira Verde) developed by Embrapa, as well as samples of artificially dyed white cotton. For analysis of tissue samples were used prepared from naturally colored cotton and two samples considered false. Measurements were recorded in the spectral region 400-2500 nm with three replicates for each authentic sample. These were performed by inverting the upper and lower faces of each sample. The reflectance spectra of feathers were pre-processed with the technique of Standard Normal Variation (SNV), the tissue with Savitzky-Golay algorithm using first derivative and window setting with 11 points for second-order polynomial. The Principal Component Analysis (PCA) confirmed the trend of clustering in PC1 (98%, 76%) vs. PC2 (1%, 13%) among cultivars of colored cotton fabrics and industrial, respectively. The SIMCA classification method allowed the recognition of colored cotton samples with results of 100% correct classification class of statistical modeled at 1%, 5% and 10%. The multivariate calibration (PLS) to flavonoid in the range from 80.3 to 383.5 mg / 10 mL yielded the following parameters, RMSECV = 32.7 g / 10 mL, $r = 0.9465$, = four latent variables. Therefore, the VIS-NIR spectroscopy allows to analyze nondestructively and quickly authenticity of samples of feathers and colorful cotton fabrics and infer the concentration of flavonoids.

Keywords: Colored cotton, diffuse reflectance, Classification and Multivariate Analysis.

1. INTRODUÇÃO

O algodoeiro herbáceo ou anual caracteriza-se por ser uma cultura de grande relevância na agricultura mundial. Sendo as espécies *Gossypium hirsutum* L. e *G. latifolium* Hutch e *G. barbadense* L. as mais cultivadas no mundo. A cultura do algodão é a principal fonte de matéria-prima das indústrias têxteis, oferecendo uma diversidade de produtos com grande importância na economia brasileira e mundial (BELTRÃO et al., 2011).

A maioria das espécies primitivas de algodoeiro possui fibra colorida, dentre as quais destaca-se a de tonalidade marrom, embora já tenham sido descritos algodões nas cores verde, amarela e cinza (FREIRE et al., 1999). Estes algodões, por longos períodos foram descartados pela indústria têxtil mundial e até mesmo proibida sua exploração em alguns países, pois devido aos cruzamentos naturais, poderiam contaminar algodões de tonalidade branca (BARROSO, 2005).

A cor expressa na pluma é caracterizada pela presença de um gene dominante, enquanto, o branco da fibra é fornecido por um gene recessivo. Existem relatos da identificação do algodão colorido pelos povos antigos tais como Astecas e os Incas há mais de 4.500 anos e por outros povos da Ásia e África. Depois de muito tempo sem uso do algodão de fibra colorida, o interesse por este surgiu recentemente em alguns países, dentre eles o Brasil, com o lançamento pioneiro da cultivar BRS 200 Marrom pela Embrapa Algodão em 2000 derivada do algodão mocó (BELTRÃO e CARVALHO, 2004).

Três tipos de pigmentos são distribuídos nos tecidos vegetais, clorofila, carotenóides e flavonóides, este último são os principais pigmentos naturais sintetizados no algodão de fibra colorida (HUA et al., 2007).

Durante longos períodos os tecidos feitos a partir de algodão foram confeccionados apenas com a fibra branca, sendo necessário o tingimento para a obtenção de tecidos coloridos. Este processo exige o uso de várias substâncias tóxicas, incluindo metais pesados, substâncias sintéticas e derivados do petróleo. Muitos destes produtos químicos são cancerígenos e podem causar reações alérgicas, problemas dermatológicos, erupções cutâneas e outros problemas de saúde relacionados aos seres humanos (DUTT et al., 2004). Além do impacto ambiental gerado pelos efluentes não tratados e do alto custo para esse processo, há ainda um apelo social, já que a produção de algodão colorido possui forte apelo na agricultura familiar. Por esta razão, o

aumento do consumo desses produtos tem ocorrido de forma espontânea (BULUT e AKAR, 2012).

Os produtos de fibras coloridas tem maior valor de mercado em comparação aos de fibra branca devido as características e aumento da sustentabilidade ecológica (BARROSO, 2005). Ademais, tem sido uma das opções agrícolas para retomada da atividade econômica em algumas regiões do semiárido brasileiro. Por essas características tem sido um produto passível de falsificação com fibras de algodão branco tingidas artificialmente, em que podem ser usados produtos naturais ou sintéticos.

O algodão colorido, produto desenvolvido pela Embrapa, vem sendo objeto de falsificação segundo relatos de produtores e da mídia paraibana. A falsificação envolve o tingimento do algodão branco com produtos com cor parecida as das cultivares de algodão colorido. Para minimizar essa fraude foi desenvolvido na Embrapa Algodão uma marca para a comercialização do produto com o selo de *Algodão Cor Natural*. Este selo garante a autenticidade e origem do algodão colorido, assegurando desta forma os produtos desenvolvidos pela empresa (BARBOSA, 2011).

Assim, tendo em vista a possibilidade de falsificação do algodão colorido, buscou-se neste trabalho uma metodologia para diferenciar plumas e tecidos de algodão colorido, provenientes das variedades da Embrapa Algodão, de amostras tingidas artificialmente com produtos químicos ou naturais.

Várias técnicas, incluindo métodos físicos e químicos, têm sido desenvolvidos para classificar as fibras de algodão, porém estas são demoradas e às vezes destrutivas (LIU et al., 2010).

A espectroscopia VIS/NIR e técnicas quimiométricas é uma alternativa a essa demanda, pois é rápida, precisa, não destrutiva e de baixo custo para altas demandas. Além disso, as medidas dispensam o uso de reagentes, atendendo as características de baixo custo de manutenção e geração de resíduos. A combinação de medidas espectrais e análises de reconhecimento de padrão vem sendo relatadas na literatura como sendo uma tecnologia moderna para classificação de produtos, identificação de fraudes e adulteração, aplicável ao controle de qualidade de indústrias petroquímicas e farmacêuticas (DUTT et al., 2004; HUA et al., 2007; PONTES, 2009; VOGEL, 2002). Nesse contexto, as técnicas de análises propostas podem ser vistas como uma alternativa para classificação e identificação de pluma e tecidos de algodão naturalmente colorido com intuito de diferenciá-las de produtos falsificados com o uso do algodão branco tingido.

A espectroscopia de reflectância de infravermelho próximo em combinação com a

quimiometria fornece vantagens por ser rápida e com resultados satisfatórios com diversas aplicações em análises químicas de alimentos e tem sido aplicado com sucesso para classificar a farinha de peixe, farinha de carne e amostras de farelo de soja (COZZOLINO et al., 2009), para determinação do teor de proteína e açúcar total em amostras de café cru (MORGANO et al., 2005; MORGANO et al., 2007), e para predição da cor e índices físicos do algodão colorido, possibilitando a realização de análises não destrutivas (LIU et al., 2010). Nas indústrias agrícolas, farmacêuticas e petroquímicas, como também no setor de polímeros (PASQUINI, 2003).

1.1. Objetivos

1.1.1. Objetivo Geral

- Desenvolver modelos espectrais na região do visível e infravermelho próximo para classificação de plumas e tecidos de algodão colorido.

1.1.2. Objetivos Específicos

- Fazer análises exploratórias usando as técnicas de Análise de Componentes Principais (PCA) da pluma e tecidos de algodão colorido;
- Classificar amostras de algodão colorido utilizando espectroscopia na região do visível e no infravermelho próximo aplicando a técnica de Modelagem independente e flexível por analogia de classe (SIMCA);
- Desenvolver um modelo de calibração por regressão por Mínimos Quadrados Parciais (PLS) para predição não destrutiva do índice de flavonóides em fibras de algodão colorido.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Aspectos gerais e importância da cultura

Dentre 52 espécies de algodão do gênero *Gossypium*, apenas 4 produzem fibra comercial, o *G. herbaceum* L., que já foi muito importante no passado, sendo plantada apenas em algumas regiões áridas da Ásia e África, *G. arboreum* L. que é cultivado na Índia e comercialmente muito importante, *G. barbadense* L. e *Gossypium hirsutum* L.r. *latifolium* Hutch que contribuem com cerca de 8% e 90%, respectivamente da fibra produzida mundialmente, as espécies restantes são silvestres com pouco potencial econômico (CARVALHO, 2008).

Os maiores produtores de algodão em pluma são: China, Índia, Estados Unidos da América, Paquistão, Brasil e Uzbequistão. Já em relação à produção mundial de algodão em caroço o Brasil ocupa o terceiro lugar (FAO, 2011). A área plantada com algodão no Brasil para safra 2012/2013 está estimada em 976,6 mil de hectares (CONAB, 2013).

A cultura do algodão é a principal fonte de matéria-prima da indústria têxtil nacional e mundial, devido as suas características físicas que conferem uma grande diversidade de aplicação (SANTANA et al., 2008).

A região centro-oeste é responsável pela maior parte da produção brasileira de algodão, sendo o estado do Mato Grosso o maior produtor brasileiro (IBGE, 2012).

O cultivo do algodão colorido estava quase abandonado na metade do século XX por causa da baixa produtividade, falta de uniformidade de cores e pobres características, como fibras de menor comprimento, menos fortes e mais baixos índices de finura, isso porque a cor requer uma energia adicional para o pigmento, ou seja, para a síntese de flavonóides que são o tipo de pigmento dominante nas fibras coloridas (DUTT et al., 2004).

Estudos de mercado demonstraram que o consumidor esta cada vez mais exigente quanto à qualidade dos artigos têxteis (VALLE et al., 2004). Os programas de melhoramento do algodoeiro visam à melhoria da produtividade da pluma e da qualidade da fibra, como comprimento, resistência e finura, além de características especiais como a fibra colorida (FREIRE et al., 2011).

Embora as características do algodão colorido sejam inferiores ao de fibra branca, o algodão naturalmente colorido é uma proposta muito boa para aqueles que estão preocupados com saúde, tendo consciência do perigo no uso de produtos químicos utilizados pelas indústrias

têxteis.

2.2. Algodão Colorido

O algodão colorido é tão antigo quanto o de fibra branca. Como comprovam amostras encontradas em escavações realizadas por arqueólogos, onde foram relatados a existência do algodão colorido no Peru e Paquistão, respectivamente há 2.500 e 2.700 a.C. (VALE et al., 2011). Alguns algodões brasileiros de fibra marrom eram usados como plantas ornamentais até serem explorados em plantios comerciais, em particular no estado da Paraíba a partir do ano 2000, mesmo ano em que já tinham sido identificadas 39 espécies silvestres de algodão colorido (FREIRE, 2000; CARVALHO, 2008).

O mercado do algodão colorido anteriormente era direcionado apenas a um público alvo de pessoas alérgicas, porém, recentemente a sociedade como um todo vem aderindo a esta mentalidade ecológica; por lei a indústria têxtil tem que investir em equipamentos de despoluição e reaproveitamento da água, mas a grande maioria das indústrias não respeita esta lei e jogam a água utilizada no processo de tingimento diretamente nos rios. O que pode ser evitado com o uso da fibra naturalmente colorida, pois essa fase é excluída, desta forma preservando o meio ambiente (QUEIROGA et al., 2008), além de economizar cerca de 150 litros de água por quilo de fibra (BELTRÃO e ARAUJO, 2004; LI et al, 2012b).

Desde 1980, a Embrapa Algodão vem desenvolvendo trabalhos de melhoramento genético com o objetivo de selecionar cultivares de fibra colorida, produtivas e de boas características de fibra. Até agora, foram lançadas comercialmente cinco cultivares: BRS 200 Marrom, BRS Verde, BRS Rubi, BRS Safira e BRS Topázio conforme Tabela 1 (CARVALHO et al., 2011).

Tabela 1: Características gerais das cinco cultivares de algodão colorido.

Cultivares	Cor da Pluma	Ciclo (dias)	Produtividade (Kg)	Comp. (mm)	Resist. (gf/tex)	Uniformidade (%)
BRS 200 Marrom	Marrom Claro	Até 3 anos	1.300	28	24,3	83
BRS Verde	Verde	120 - 140	2.146	29,56	25,86	—
BRS Rubi	Marrom Escuro	120 - 140	1.848	25,4	24,5	81

Tabela 1, Cont.

BRS Safira	Marrom Escuro	120 - 140	1.915	24	24,2	80,1
BRS Topázio	Marrom Claro	120 - 140	2.825	30,4	31,9	85,2

Fonte: Adaptado de VALE et al. (2011).

2.2.1. BRS 200 Marrom

A BRS 200 Marrom foi à primeira cultivar de algodão de fibra colorida, oriunda de algodoeiros arbóreos, obtida no Brasil e sintetizada por meio do melhoramento convencional, utilizando o método de seleção genealógica. É uma cultivar com ciclo perene, podendo ser plantada nas regiões do Seridó e Sertão, preferencialmente nas localidades zoneadas para o cultivo do algodoeiro arbóreo, possui elevada resistência a seca e produtividade superior às cultivares de algodoeiro mocó, como a cultivar CNPA 5M e equivalente à CNPA 7H em regime de sequeiro, possui valor de mercado de 30% a 50% superior as fibras de algodão branco (EMBRAPA ALGODÃO, 2004).

2.2.2. BRS Verde

A BRS Verde é uma cultivar de algodoeiro herbáceo, que surgiu de estudos iniciados em 1996, do cruzamento entre um material de fibra verde, o Arkansas Green, introduzido dos EUA, com a cultivar de fibra branca CNPA 7H, de ampla adaptação à região Nordeste e fibra de boa qualidade (CARVALHO et al., 2009b). É indicada para plantio no Nordeste, podendo ser cultivada em outras regiões, em áreas livres de doenças, pois é susceptível às mesmas. A cor verde da fibra tem uma particularidade que é a redução ou a perda parcial dessa cor no campo, caso o produtor retarde a colheita, deixando os capulhos expostos ao sol por vários dias. Para evitar que isso aconteça, é aconselhado fazer duas colheitas (VALE et al., 2011). Esta cultivar é indicada preferencialmente para fiar fios grossos, como a confecção de jeans e outros artigos artesanais, devido a sua baixa resistência à luz solar já que ocorre um pequeno desbotamento com o tempo (CARVALHO et al., 2009b).

2.2.3. BRS Rubi

Ela é o resultado do cruzamento de material introduzido dos EUA de fibra marrom-escuro com a CNPA 7H. Sua fibra possui uma cor marrom-escuro ou marrom-avermelhada (EMBRAPA ALGODÃO, 2006). A BRS Rubi é uma cultivar de algodoeiro herbáceo ou anual que pode ser explorada na região Nordeste em regime de sequeiro, nos locais zoneados para este tipo de algodão e em regime irrigado (CARVALHO et al., 2009a).

2.2.4. BRS Safira

A BRS Safira é o resultado do cruzamento de material introduzido dos EUA de fibra marrom-escuro e a CNPA 87-33. Sua fibra possui uma cor marrom-escuro ou marrom avermelhada, porém em tonalidade mais clara que a fibra da BRS Rubi, é herbácea ou anual, podendo ser cultivada em regime de sequeiro, nas áreas zoneadas para este tipo de algodão e em regime irrigado (CARVALHO et al., 2009c).

2.2.5. BRS Topázio

A BRS Topázio é uma cultivar de algodão herbáceo, de fibra marrom-clara, derivada do cruzamento entre as cultivares Suregrow 31 e Delta Opal. Principal característica desta cultivar é a coloração da fibra marrom bem clara com grande uniformidade. Destaca-se por possuir alta porcentagem de fibra, alta uniformidade e alta resistência, que lhe conferem excelentes características, comparável às cultivares de fibras brancas e superior às demais cultivares de fibras coloridas (VIDAL NETO et al., 2010).

2.3. Flavonóides

Os flavonóides consistem em um grande grupo de substâncias polifenólicas de baixo peso molecular, de ocorrência natural em vegetais, frutas, nozes, sementes, caules, flores, chá, vinho, e são uma parte integrante da dieta humana. Mais de 6000 flavonóides foram caracterizados na natureza, mas a sua variedade e quantidade pode variar devido às diferenças no ambiente, maturidade e condições de crescimento (KIM et al., 2007; WANG et al., 2010; SANDHAR et al., 2011).

Estruturalmente, os flavonóides constituem substâncias aromáticas, com uma estrutura básica que contém 15 carbonos organizados em dois anéis aromáticos, ligados por uma cadeia de

três carbonos, os flavonóides são classificados de acordo com sua estrutura química (COOK e SAMMAN, 1996; TAIZ e ZEIGER, 2004). A Figura 1 mostra a estrutura genérica de flavonóides e o sistema de numeração utilizada para distinguir as posições de carbono em torno da molécula.

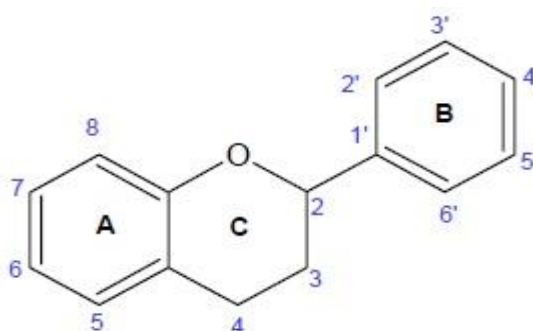


Figura 1: Estrutura básica dos flavonóides (COOK e SAMMAN, 1996).

A grande diversidade estrutural dos flavonóides é explicada pelas modificações que estes compostos podem sofrer, tais como: hidroxilação, metilação, acilação e glicosilação dentre outras (LOPES et al., 2000).

Neste grupo estão inclusos as antocianinas, as flavonas, os flavonóis e as isoflavonas (TAIZ e ZEIGER, 2004). As antocianinas são flavonóides glicosilados pigmentados, responsáveis pela maioria das cores vermelha, rosa, púrpura e azul das plantas, dão cor às frutas, verduras e como também conferem benefícios a saúde humana, elas podem agir como antioxidantes, fitoalexinas ou como agentes anti-bacterianos (KONG et al, 2003; SANDHAR et al., 2011; XIE, 2011). As flavonas e os flavonóis são um grupo de protetores, absorventes de luz ultravioleta, que podem também atrair para as flores insetos polinizadores e quando secretados por raízes de leguminosas são intermediadores no solo de interações com simbioses fixadores de nitrogênio, já as isoflavonas são o grupo de flavonóides com atividade antimicrobiana (TAIZ e ZEIGER, 2004; HASSAN e MATHESIUS, 2012).

Os pigmentos responsáveis pela cor do algodão colorido podem pertencer à classe dos flavonóides. Estes têm sido objeto de estudos, quanto as suas propriedades biológicas, farmacológicas e químicas (KIM et al., 2007; HUA et al., 2007). Em experimentos desenvolvidos por análise de expressão observou-se que a acumulação do pigmento em algodão de fibra marrom pode ser causada pela oxidação de proantocianidinas (LI et al., 2012a; XIAO et

al., 2007). Uma análise proteômica comparativa de fibra de algodão de cor marrom demonstrou o papel crucial de flavonóides na síntese de pigmento em algodão colorido (LI et al., 2012b).

A qualidade da fibra depende de vários fatores fisiológicos e parâmetros bioquímicos. O algodão colorido possui uma alta concentração de flavonóides o que reduz a quantidade total de hidratos de carbono que de outra forma poderia ser utilizado para a síntese de celulose, já que a maior qualidade do algodão de fibra branca esta relacionado ao alto teor de celulose, quando comparado ao de fibra colorida (DUTT et al., 2004; HUA et al., 2007; YUAN et al., 2012).

2.4. Espectroscopia

É a interação de qualquer tipo de radiação eletromagnética com a matéria, por meio da análise do espectro observado podemos obter informações relevantes sobre a estrutura molecular e modo de interação entre moléculas. De acordo com o valor de energia da radiação eletromagnética, as transições entre os estados podem ser de vários tipos, dos quais as principais são as transições eletrônicas, vibracionais e rotacionais (OLIVEIRA, 2001).

2.4.1. Espectroscopia Ultravioleta e Visível

Neste tipo de espectroscopia utiliza-se a radiação eletromagnética na faixa espectral de 200 e 780 nm. Quando exposta a essa radiação, a molécula de um composto pode sofrer transições eletrônicas por ocasião da absorção de energia quantizada. Isto requer que a molécula contenha pelo menos um grupo funcional insaturado (NUNES, 2008).

Os espectros eletrônicos de absorção apresentam sobreposição de bandas associadas a duas ou mais substâncias presentes em uma amostra. Essas características decorrem da natureza alargada das bandas e da modesta correlação entre o espectro e a estrutura molecular. Onde, substâncias com estruturas moleculares muito diferentes, mas contendo os mesmos grupos que absorvem radiações (cromóforos), podem apresentar espectros UV-Vis com perfis semelhantes e bandas localizadas nas mesmas regiões de comprimentos de onda (SKOOG et al., 2009).

A dificuldade da interpretação das matrizes complexas geradas torna necessário a utilização de métodos quimiométricos para auxiliar na elucidação dos perfis espectrais (VERAS et al., 2011).

2.4.2. Espectroscopia no Infravermelho

A faixa da região do infravermelho compreende aproximadamente de 780 nm a 100000 nm. A Tabela 1 ilustra a porção desta faixa no espectro eletromagnético e a sua divisão em três partes (SKOOG et al., 2009).

Tabela 2: Regiões espectrais do infravermelho.

Região	Comprimento de onda (λ), nm	Números de onda ($\bar{\nu}$), cm^{-1}	Frequência (ν), Hz
Próximo	780 a 2500	12800 a 4000	$3,8 \times 10^{14}$ a $1,2 \times 10^{14}$
Médio	2500 a 5000	4000 a 200	$1,2 \times 10^{14}$ a $6,0 \times 10^{12}$
Distante	5000 a 100000	200 a 10	$6,0 \times 10^{12}$ a $2,0 \times 10^{13}$

Fonte: Adaptado de SKOOG et al. (2009).

A condição para que haja absorção da radiação infravermelha é que uma molécula apresente uma variação no momento de dipolo durante seu movimento vibracional ou rotacional. Moléculas diatômicas heteronucleares, como por exemplo, o cloreto de hidrogênio (HCl) possuem um momento de dipolo significativo, ou seja, possuem modos vibracionais de absorção ativos no infravermelho. O contrário ocorre em espécies homonucleares, como O_2 , N_2 ou Cl_2 , na qual a vibração de dois átomos idênticos, não altera a simetria elétrica ou o momento de dipolo, tendo como consequência a não absorção da radiação infravermelha (PEREIRA, 2007; VOGEL, 2002).

2.4.2.1. Espectroscopia no Infravermelho próximo (NIR)

O Infravermelho próximo trata-se da região posterior a do visível, a espectroscopia no NIR apresenta uma ampla diversidade de aplicação, tem sido utilizada em diversas áreas como agrícola, médica, ambiental, petroquímica e farmacêutica. Quando comparada a outros métodos químicos, a espectroscopia NIR tem mais vantagens, pois, em geral, não precisa de preparação de amostras, não gera resíduo, é rápida e não destrutiva (GONZAGA, 2006).

O uso da espectroscopia NIR tem como objetivo principal obter informações qualitativas ou quantitativas de uma amostra, por meio da interação das ondas eletromagnéticas do infravermelho com os constituintes da amostra, compreende as bandas de absorção correspondentes a qualquer molécula contendo as ligações C-H, O-H, N-H e S-H, sem qualquer pré-tratamento da amostra (PASQUINI, 2003).

Esta técnica permite a análise não destrutiva das amostras. Sendo muito relevante, pois

quanto mais tratamento a amostra sofrer, antes de obter uma resposta final, maior será a possibilidade de erros na análise, além da habilidade de extrair informações quantitativas, quimicamente significativas, via uso de técnicas estatísticas multivariadas (CAMOLESI, 2009).

O infravermelho próximo (NIR) é uma técnica potencialmente útil, tem sido usado para obter informações estruturais sobre celulose de algodão, para fazer a previsão de avaliações quantitativas da qualidade do algodão, como também nos processos de controle de qualidade de produtos têxteis (CLEVE et al, 2000; LIU et al., 2010).

A espectrometria NIR apresenta-se como uma ferramenta eficaz para determinações analíticas. Entretanto, as bandas espectrais de baixa intensidade e muito sobrepostas, geradas por matrizes complexas, dificultam a obtenção de uma boa correlação entre grupos de átomos presentes numa molécula e a sua composição nas amostras. Para tratamento das informações dos espectros gerados, é necessária a utilização de ferramentas quimiométricas, a qual utiliza métodos ou técnicas estatísticas para interpretar melhor os dados obtidos (NUNES, 2008; PEREIRA, 2007).

2.5. Quimiometria

Quimiometria é um ramo da química analítica que utiliza técnicas matemáticas e estatísticas para extração de informações relevantes a partir de dados analíticos, como os dados espectrais NIR, facilitando assim a interpretação dos mesmos (PASQUINI, 2003; NASCIMENTO et al., 2010). A quimiometria abrange planejamento e otimização de experimento, calibração univariada e multivariada, reconhecimento de padrões, entre outros (NUNES, 2008).

Na utilização do NIR para aplicações qualitativas, deve-se utilizar as técnicas de reconhecimento de padrão, cuja finalidade é identificar as semelhanças e diferenças em diferentes tipos de amostras, comparando-as entre si. As técnicas de reconhecimento de padrão podem ser feitas por meio de duas abordagens: métodos supervisionados ou não supervisionados (PASQUINI, 2003).

2.5.1. Técnicas de reconhecimento de padrões

2.5.1.1. Não – supervisionadas

Têm a finalidade de verificar a formação de uma classe de amostras com características semelhantes, sem utilizar o conhecimento prévio dos membros das classes. Dentre essas técnicas destaca-se a análise de componentes principais (PCA - *Principal Components Analysis*) e análise de agrupamentos hierárquicos (HCA - *Hierarchical Clusters Analysis*) (PONTES, 2009).

A PCA é uma manipulação matemática dos dados originais, com objetivo de se obter o máximo de informações relevantes, por meio da combinação linear das variáveis originais, se constitui um novo conjunto de variáveis que apresentam ortogonalidade entre si, denominadas de componentes principais (PCs), organizadas em ordem decrescente de importância, a primeira PC (PC1) descreve a máxima variância dos dados originais, a segunda PC (PC2) descreve a máxima variância que não foi considerada pela PC1, e as próximas PCs descrevem a máxima variância restante (CORREIA e FERREIRA, 2007). Cada amostra é representada por um ponto no espaço multidimensional, formando agrupamentos que apresentem características semelhantes (NASCIMENTO et al., 2010).

As coordenadas das amostras no novo sistema de eixos dos PC's são chamadas de escores, que mostra a similaridade e diferenças entre as amostras e a contribuição que cada variável original exerce sobre uma determinada PC é denominada peso (*loading*), este que indica quais variáveis são importantes para descrever a variância dos dados. Os pesos podem ser definidos como o cosseno do ângulo entre o eixo da variável e o eixo da PC (DANTAS, 2010; FERREIRA et al., 1999).

2.5.1.2. Supervisionadas

São modelos em que são utilizados uma base de dados obtidas a partir de informações preliminares sobre um conjunto de amostras, são usadas para prever se uma amostra desconhecida pertence a uma classe conhecida, a técnica mais utilizada é a modelagem independente e flexível por analogia de classes (SIMCA - *Soft Independent Modeling of Class Analogies*), que usa PCA para cada classe definida e testa se as amostras analisadas se enquadram em uma, a várias ou nenhuma das classes (DANTAS, 2010; VERAS et al., 2011).

Os resultados da classificação SIMCA podem ser expressos por meio de tabelas de classificação em que a presença de amostra na classe analisada é sinalizada por um asterisco e sua ausência sinaliza que a amostra não foi classificada para aquela classe ou gráfico bidimensional $S_i \times H_i$, em que S_i é a raiz quadrada da variância residual que representa a distância da amostra ao modelo da classe selecionado, e H_i , que é a distância da amostra

projetada ao centro do modelo, também conhecida como influência ou medida de Lverage (BEEBE et al., 1998).

2.6. Calibração

A relação entre o resultado da resposta instrumental com a propriedade de interesse da amostra é denominada calibração. Quando se tem uma relação matemática entre uma variável dependente e uma única variável independente a calibração é dita univariada. Já quando a relação é entre mais de uma variável denomina-se multivariada. A equação matemática que descreve a relação é o modelo de calibração e a representação gráfica é chamada de curva analítica ou curva de calibração. Os métodos de calibração multivariada podem ser: Regressão em componentes principais (PCR), Regressão por mínimos quadrados parciais (PLS) e Regressão Linear Múltipla (MLR) (NUNES, 2008).

O processo de calibração consiste geralmente em duas etapas: a descritiva, que usa concentrações conhecidas para construir um modelo que relaciona a grandeza medida, com a concentração da espécie de interesse e a preditiva a qual usa esse modelo para pressupor concentrações de novas amostras, a partir dos sinais analíticos medidos por elas (PIMENTEL e NETO, 1996).

2.6.1. Regressão por mínimos quadrados parciais (PLS)

A modelagem PLS utiliza tanto a informação da matriz de dados \mathbf{X} (variáveis independentes - dados espectrais) como da matriz \mathbf{Y} (variáveis dependentes - propriedade a serem analisada, concentração), obtendo-se novas variáveis denominadas variáveis latentes, fatores ou componentes (equivalentes as PCs na PCA). Para construir desta forma o modelo de calibração, este é usado para fazer à estimativa parâmetro em novas amostras (NUNES, 2008).

O método PLS foi escolhido para este trabalho devido ser o mais utilizado, tendo sido empregado com sucesso na determinação de flavonóides em folhas de Ginkgo biloba (YONG et al., 2012).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Local dos ensaios

Este trabalho foi realizado no Laboratório Avançado de Tecnologia Química (LATECQ) da Embrapa Algodão, em Campina Grande, PB.

3.2 Seleção de amostras de plumas e tecidos de algodão naturalmente colorido

Foram utilizadas para análise exploratória da pluma, amostras de cinco cultivares de algodão colorido BRS 200 Marrom, BRS Topázio, BRS Rubi, BRS Verde e BRS Safira todas desenvolvidas pela Embrapa Algodão (Figura 2) e amostras tingidas com corantes naturais e sintético.



Figura 2: Amostras de plumas de algodão colorido. Foto: Germana Rosy M. de Sousa, Campina Grande, 2012.

As amostras utilizadas foram oriundas de lotes independentes (Tabela 3). De cada lote foram retidas três amostras de pontos diferentes, totalizando 147 amostras, as leituras foram realizadas com duas repetições para cada amostra, invertendo-se as faces inferior e superior das amostras de plumas.

Tabela 3: Lotes de plumas utilizados na análise.

Amostras	Número de lotes
BRS 200 Marrom	6
BRS Topázio	7
BRS Rubi	9
BRS Verde	10
BRS Safira	8
Barbatimão	3
Cajueiro roxo	3
Bege sintético	3
Total	49

As amostras de tecidos foram oriundas de peças comerciais de algodão naturalmente colorido com selo de “*Algodão Cor Natural*”, o qual assegura os produtos desenvolvidos pela Embrapa, garantindo dessa forma sua autenticidade e origem (Figura 3) e duas amostras com suspeitas de serem adulteradas.



Figura 3: Amostras de tecidos de algodão colorido. Foto: Germana Rosy M. de Sousa, Campina Grande, 2012.

Foram analisadas 283 amostras de tecidos independentes de lotes distintos e do mesmo lote em que caracterizem heterogeneidade do tecido (Tabela 4), as leituras foram realizadas com duas repetições para cada amostra, invertendo-se as faces inferior e superior das amostras de tecidos.

Tabela 4: Amostras de tecidos utilizados na análise.

Tecidos	Número de amostras
Ribana Verde	14
Ribana Safira	16
Ribana Marrom	18
Ribana Verde (Sem lavar)	17
Ribana Crua	13
Brim Colono	16
Algodãozinho P	16
Algodãozinho D	15
Linhão Marrom	14
Linhão Verde	14
½ MR Marrom	15
½ MR Rubi	12
½ MR Crua	12
Piquiti Marrom	16
Piquiti Crua	12
Malha Verde	13
Malha Crua	12
Moletinho Crua	15
Moletinho Rubi	16
Blusa	3
Vestido	46
Total	283

3.3. Preparo das amostras de algodão branco tingido artificialmente

Amostras de algodão branco oriunda da cultivar BRS 8H foram tingidas com tintura sintética (bege sintético) e com pigmentos naturais (barbatimão e cajueiro roxo), como observa-se na Figura 4. Todas as amostras foram tingidas em triplicata (VELOSO, 2012).

O tingimento foi realizado conforme procedimento descrito por Manhita et al. (2011). O primeiro passo consiste em tratar uma amostra de 4,0 g de pluma de algodão com uma solução

fixadora (mordente) contendo 1,0 g de cloreto de sódio e 200 mL de água em ebulição durante 30 min. Logo após, a pluma foi removida da solução, lavada com água destilada e seca ao abrigo da luz ambiente.

Em seguida, às amostras de pluma de algodão foram coradas da seguinte maneira: cada banho corante foi preparado com 0,5 g de material seco triturado imerso em 50 mL de água destilada durante 2 horas a 90 °C e depois filtrada a vácuo. Após isto, a pluma tratada com a solução fixadora foi adicionada à solução do corante e mantida a 90 °C durante 30 min. Após o procedimento de tingimento, todas as amostras de algodão foram removidas, lavadas com água destilada e secas em placas de petri sobre papel toalha ao abrigo da luz.

Já para as amostras tingidas com corante artificial foi utilizada a metodologia recomendada pelo fabricante, na qual a amostra ficou submersa na solução corante por 30 minutos em ebulição.



Figura 4: Amostras tingidas com corantes naturais e sintético. Foto: Germana Rosy M. de Sousa, Campina Grande, 2012.

3.4. Instrumentação

As medidas espectrais de reflectância difusa na região do visível e infravermelho próximo foram adquiridas por meio do espectrômetro VIS/NIR modelo XDS Analyser (Foss Analytical, Hogans, Sweden) como ilustrado na Figura 5.

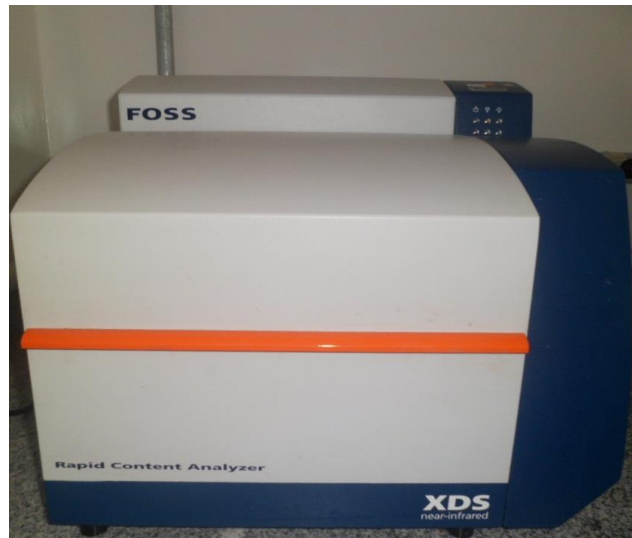


Figura 5: Espectrofotômetro XDS *near-infraredRapidContent*TMAnalyser da FOSSAnalytical. Foto: Germana Rosy M. de Sousa, Campina Grande, 2012.

Na **Figura 6** observa-se a célula de quartzo usada para leitura da amostra a ser analisada e a tampa reflexiva usada para bloquear a radiação espúria do ambiente.



Figura 6: Célula de quartzo e tampa reflexiva para célula de quartzo. Foto: Germana Rosy M. de Sousa, Campina Grande, 2012.

Para o registro do sinal do branco, utilizou-se um padrão de reflectância conforme observado na **Figura 7**.



Figura 7: Padrão de reflectância. Foto: Germana Rosy M. de Sousa, Campina Grande, 2012.

3.5. Análises quimiométricas

A partir dos espectros de reflectância gerados em cada comprimento de onda foram empregadas as técnicas de pré-processamento dos espectros e a análise multivariada.

Foram testados alguns tipos de pré-processamento (correção multiplicativa de sinal – MSC, para minimizar os efeitos de espalhamento da luz, o método de suavização de Savitzky-Golay com derivada de primeira ou segunda ordem em janela com no mínimo 11 e máximo de 25 pontos com ajuste por polinômio de segunda ordem e o método de Variação Normal Padrão – SNV). A técnica multivariada de reconhecimento padrão não supervisionadas (PCA – Análise de Componentes Principais) foi aplicada para a análise exploratória das amostras de algodão colorido e tingidas, a técnica supervisionada SIMCA (Modelagem Flexível por Analogia de Classes) foi usada para classificação de amostras de origem natural e artificialmente tingidas. A PCA foi executada no modo de validação cruzada completa observando a faixa de 400 a 2500 nm. Essa mesma faixa espectral foi empregada na etapa de calibração multivariada de flavonóides em que usou-se a técnica de regressão por PLS (PLS - Mínimos Quadrados Parciais) com validação cruzada completa.

As análises quimiométricas foram executadas no software The Unscrambler® X.2 com a finalidade de modelar e prever as variáveis físicas e químicas a partir de seus espectros de reflectância.

3.6. Isolamento e medição de flavonóides

3.6.1. Instrumentação

Empregaram-se espectrofotômetro modelo Genesys 10 (Analítica), cubeta de quartzo de 10 mm de caminho óptico (Sorblin). Nas medidas de massas foi utilizada balança analítica com precisão de 0,1 mg.

3.6.2. Reagentes e padrão de referência

Os solventes usados para quantificar flavonóides de algodão colorido foram todos de grau analítico: HNO₃ (Vetec), etanol P.A. (FMaia), NaNO₂ (Vetec), Al(NO₃)₃ (Vetec), NaOH (Vetec). A rutina (Sigma-Aldrich, Shanghai, China, No. R5143) foi utilizada como padrão para determinação de flavonóides.

3.6.3. Procedimentos Experimentais

Para construção das curvas de calibração foi preparada uma solução etanólica de rutina a 0,2 mg/ mL, sendo retiradas 5 alíquotas 200, 900, 1600, 2300 e 3000 µL da solução estoque. Esses volumes corresponderam as concentrações de 40, 180, 320, 460, e 600 µg para diluição em balão volumétrico de 10 mL. Antes da aferição total foram acrescentados 4 mL de etanol (30% v/v), 300 µL NaNO₂ (2,9 mol/L). Homogeinizou-se a mistura e esperou-se um tempo de equilíbrio de 5 min antes de adicionar 300 µL Al (NO₃)₃ (0,47 mol/L). Seis minutos depois adicionou-se etanol (30%, v/v) para tornar o volume final de 10 mL. Após 10 min em temperatura de 25°C, as leituras foram realizadas em espectrofotômetro a 510 nm. Para ajuste da linha de base utilizou-se todos os reagentes anteriores (exceto a rutina).

3.6.4. Tempo de extração de pigmentos

As amostras de plumas de algodão colorido foram trituradas, para aumentar a superfície de contato, em seguida foram submetidas a temperaturas entre 60 e 70°C conforme recomendado por Almeida et al. (2005). Os tempos empregados foram de 1, 2, 3, 4, 5 e 6 horas e a absorbância medida em 510 nm.

3.6.5. Medição de flavonóides

O índice de flavonóides foi determinado usando como referência o método descrito por Dutt et al. (2004). Na extração dos pigmentos de algodão colorido, uma amostra de 0,2 g de fibra de algodão colorido triturada foi colocada em um balão de destilação (Figura 8A) com adição de

uma solução de 10 mL de HNO₃ em etanol (1:3 v/v) (Figura 8B). A extração dos pigmentos da fibra foi realizado por duas horas (Figura 9).

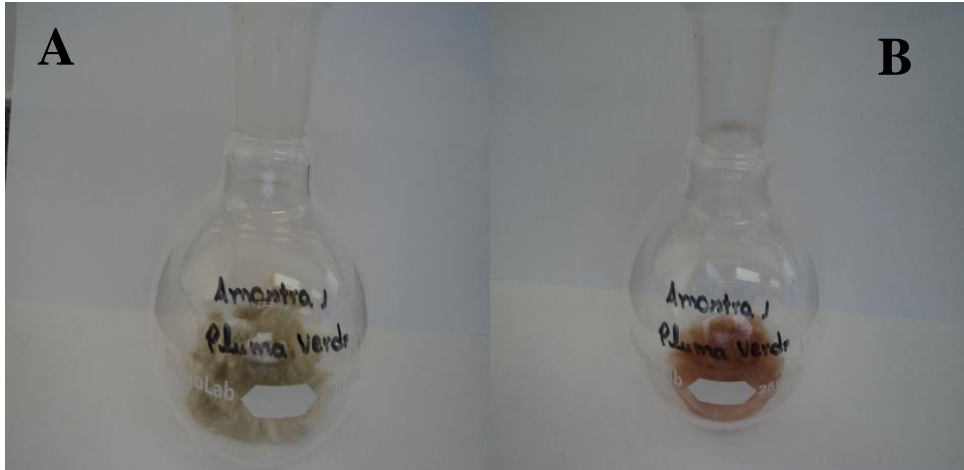


Figura 8: Pluma da BRS Verde, sem adição de reagente (A), com adição de reagente (B). Foto: Germana Rosy M. de Sousa, Campina Grande, 2012.



Figura 9: Sistema de destilação (C), Pluma da BRS Verde após duas horas de destilação (D). Foto: Germana Rosy M. de Sousa, Campina Grande, 2012.

O extrato com a pluma resultante foi filtrado usando papel de filtro faixa preta. O filtrado resultante foi transferido para balão volumétrico de 10 mL e a solução de HNO₃ em etanol (1:3, v/v) adicionada para aferição do volume final. A concentração de flavonóides foi quantificada usando rutina (Sigma-Aldrich, Shanghai, China, No. R5143) como o padrão de controle de acordo com a descrição de Hua et al. (2007). Em seguida, 1,0 mL do filtrado diluído foi colocado em um balão de 10 mL e adicionou-se 4 mL de etanol (30%, v/v) à amostra. Logo após, 300 µL

NaNO_2 (2,9 mol/L) foi acrescentado. Misturou-se a solução e esperou-se um tempo de equilíbrio de cinco minutos antes da adição de 300 μL $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$ (0,47 mol/L). Seis minutos depois, 2 mL de NaOH (1 mol/L) foi adicionado, e em seguida adicionou-se etanol (30%, v/v) para tornar o volume final de 10 mL. A absorbância da amostra foi medida no comprimento de onda 510 nm e a concentração de flavonóides foi expressa referindo-se a equação de calibração com 40, 180, 320, 460, e 600 $\mu\text{g}/10$ mL de rutina.

Os ensaios foram realizados com três repetições autênticas e utilizando sempre reagentes de grau analítico.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Seleção da região espectral de trabalho e pré-processamento dos espectros das plumas de algodão colorido e tingidas.

Os espectros das plumas de cinco cultivares de algodão colorido: BRS 200 Marrom, BRS Topázio, BRS Rubi, BRS Verde e BRS Safira juntamente com as amostras tingidas foram obtidos entre 400 a 2500 nm como podem ser observados na Figura 10.

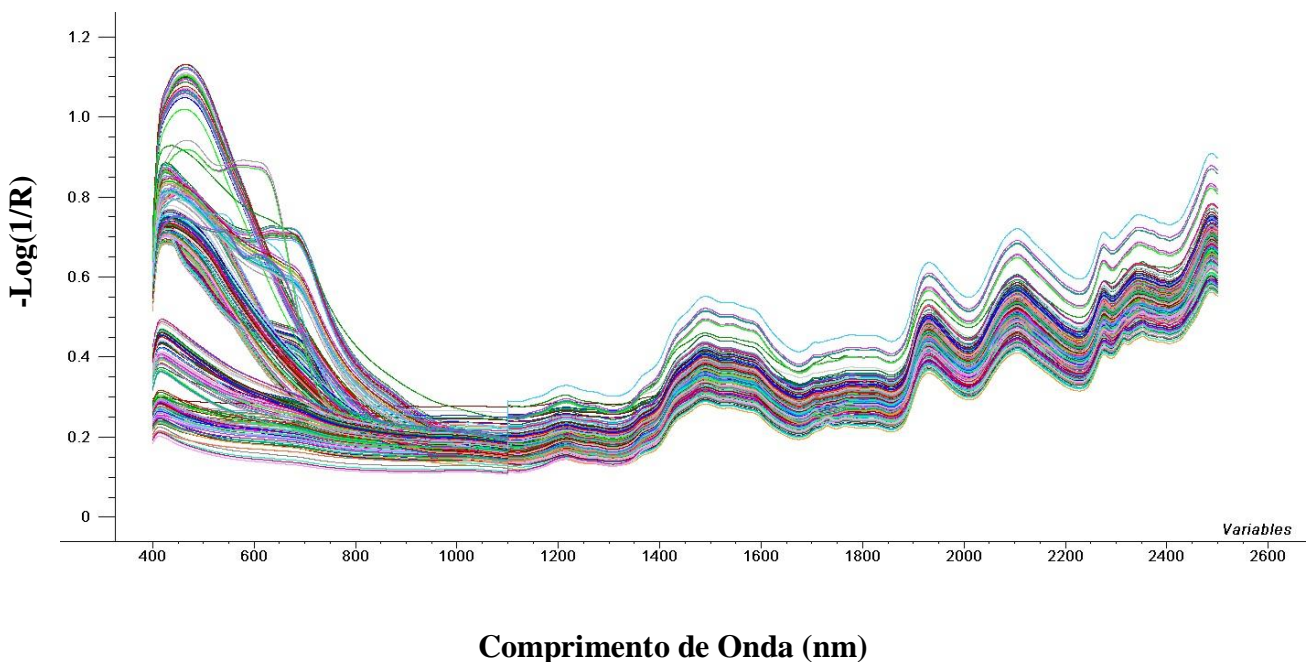


Figura 10: Espectros brutos das 147 amostras de algodão colorido e tingidas na região de 400-2500 nm.

Na Figura 10 nota-se variações sistemáticas nos espectros de reflectância que podem mascarar uma propriedade de interesse e, assim, uma técnica de pré-processamento para os espectros foi empregada, antes da construção dos modelos quimiométricos.

O SNV foi o pré-processamento que melhor forneceu resultados para discriminar as amostras na PCA. Os espectros pré-processados pelo SNV das 147 amostras de plumas de algodão colorido naturais e tingidas podem ser visualizados na Figura 11. Observa-se que em geral todas as amostras analisadas possuem perfis espectrais semelhantes e sobrepostos, isto

pode ser atribuído a complexidade do sinal obtido e semelhança existente na composição química das plumas analisadas.

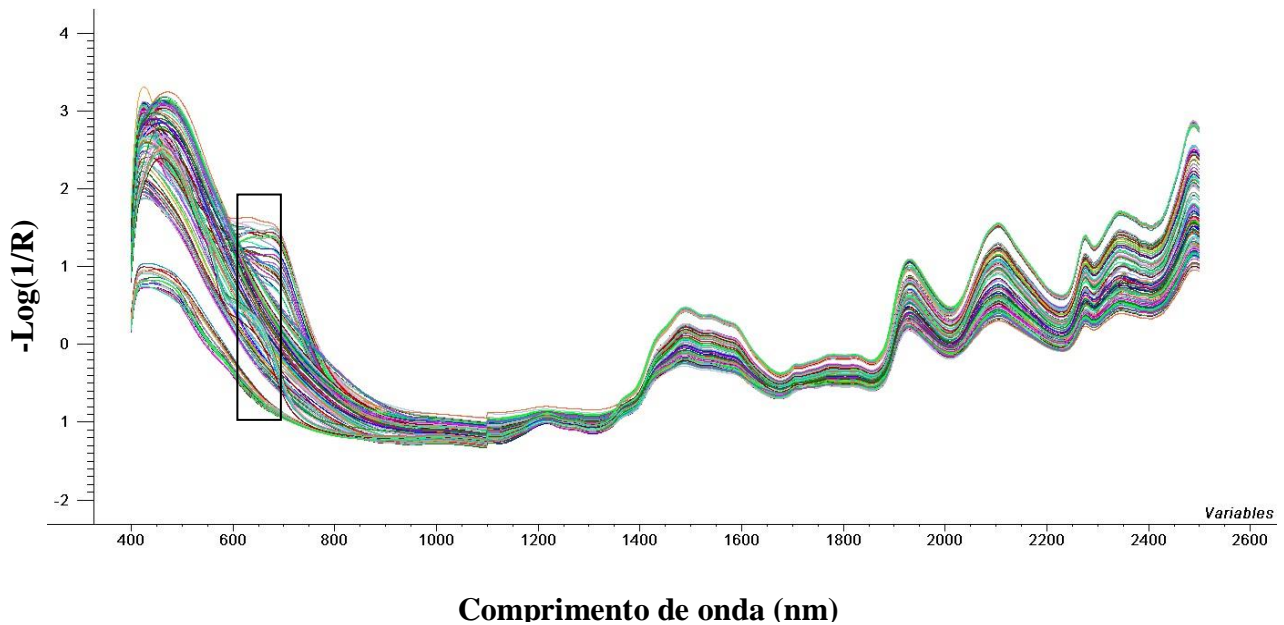


Figura 11: Espectros NIR Pré-Processados (SNV) das plumas de algodão colorido. A área grifada representa a região em que ocorre a melhor identificação das amostras na PCA.

A técnica de SNV é uma técnica usualmente aplicada a dados espectrais para corrigir efeitos de espalhamento da radiação centrando e escalonando cada espectro individualmente. A aplicação prática dessa técnica é muito recorrente em espectros de reflectância difusa em que o tamanho de partícula e efeitos multiplicativos de sinais estão presentes (CHEN et al., 2012; JAMSHIDI et al., 2012; LI et al., 2004).

Os espectros pré-processados ainda não permitem uma distinção entre as plumas das cultivares de algodão colorido apenas por meio de uma inspeção visual dos espectros. Assim torna-se necessário o uso de ferramentas de análise multivariada para identificar a distribuição das amostras. Em geral, as técnicas de análise exploratória são usadas para investigar a distinção ou semelhanças entre amostras de um determinado conjunto (BEEB et al., 1998).

4.1.1. Análise exploratória dos dados

A técnica de reconhecimento de padrão não supervisionado PCA foi usada para investigar a ocorrência de agrupamentos e/ou diferenças entre as amostras de algodão colorido e tingidos, a partir dos espectros pré-processados.

Ao observar os perfis espectrais das 120 amostras de algodão colorido e 27 tingidas constatou-se que seleção *a priori* na região entre 629 a 717 nm forneceu os melhores resultados para identificação das plumas das cinco cultivares de algodão colorido.

Pode-se notar no gráfico dos escores obtidos pela PC1 (98% da variância explicada) *versus* PC2 (1% da variância explicada) a formação de grupos de amostras que correspondem as cinco cultivares de algodão colorido e as amostras tingidas (Figura 12).

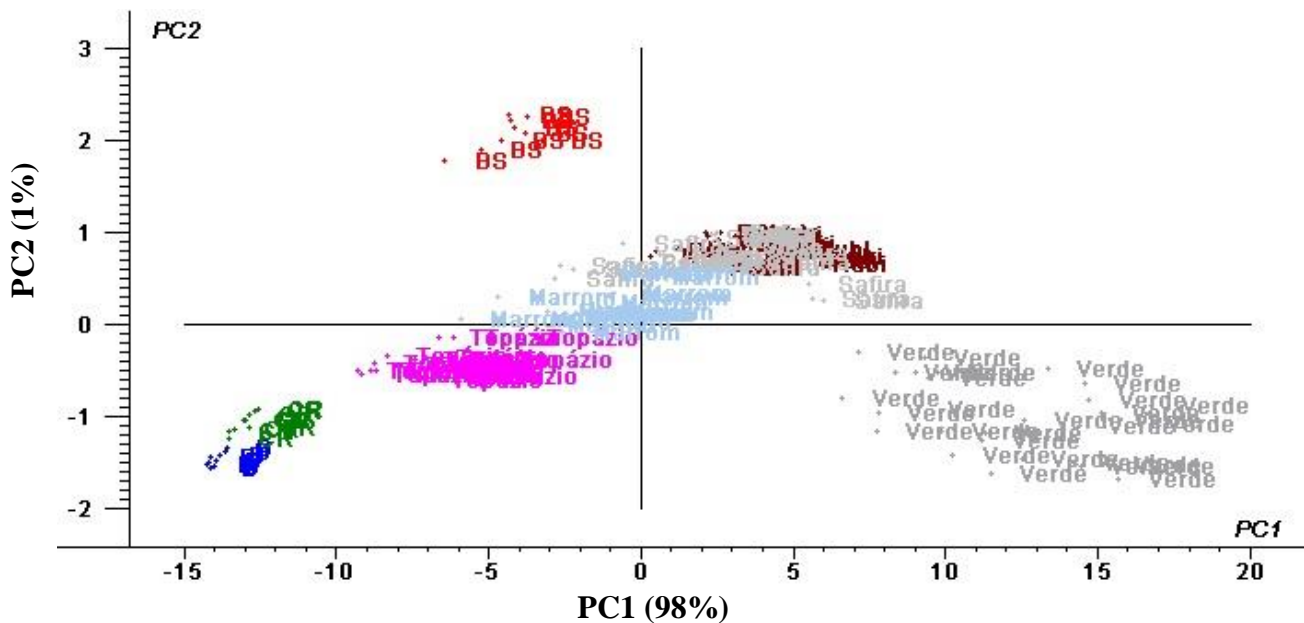


Figura 12: Gráfico dos escores de PC1 *versus* PC2 das amostras das cinco cultivares de algodão colorido: BRS Topázio (Rosa), BRS Marrom (Azul), BRS Safira (Cinza claro), BRS Rubi (Marrom), BRS Verde (Cinza escuro) e amostras tingidas: Bege sintético (vermelho), Cajueiro roxo (Verde) e Barbatimão (Azul) na região de 629 a 717 nm.

Ao analisar estes dados, observa-se que as informações necessárias para a formação dos agrupamentos foram expressas por apenas duas PC's. Porém, a sobreposição entre duas classes das cultivares BRS Safira (cinza claro) e BRS Rubi (Marrom) requer uma análise mais detalhada.

A partir dos perfis espectrais da BRS Safira e BRS Rubi, observa-se que os espectros dessas classes são semelhantes entre si. A sobreposição entre as classes das cultivares fica mais evidente como ilustrado na Figura 13. Uma possível explicação para esta sobreposição pode ser devido à semelhança entre as cores decorrentes dos flavonóides das classes das duas cultivares.

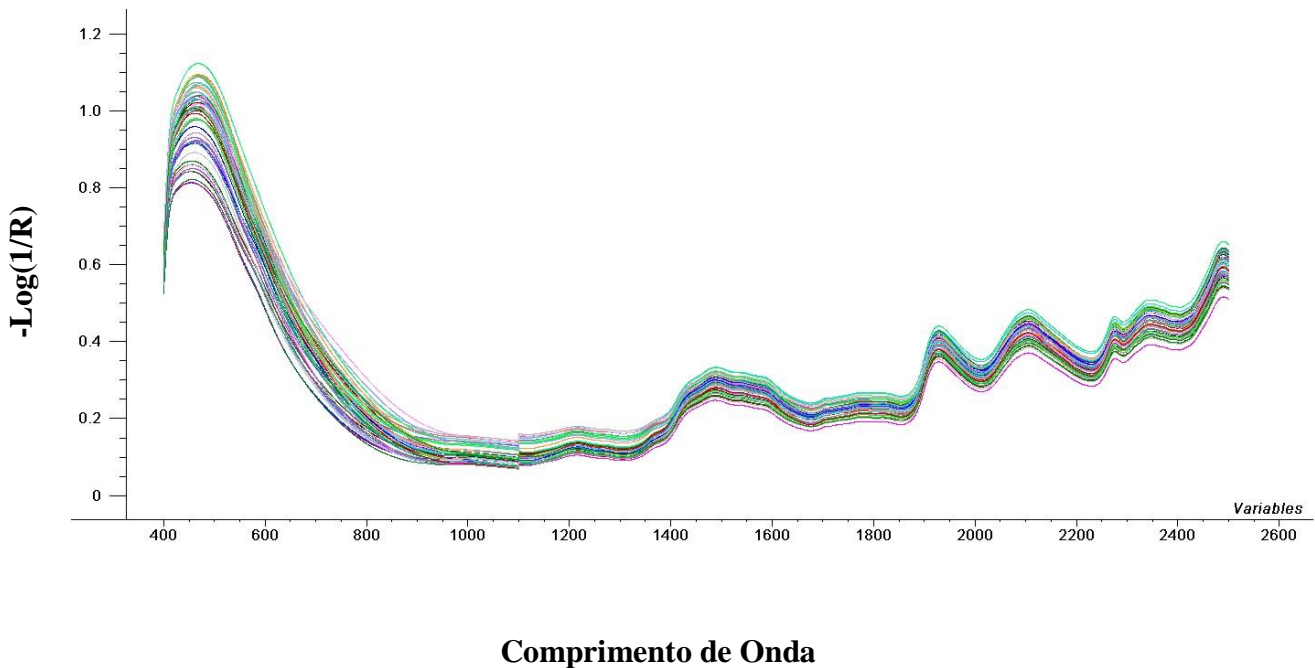


Figura 13: Espectros Brutos NIR da BRS Rubi e BRS Safira na região de 400-2500 nm.

O pré-processamento SNV não foi eficiente para observar a separação das duas classes de algodão colorido. Assim, O melhor pré-processamento dos espectros evidenciado foi empregando primeira derivada, com o algoritmo de Savitzky-Golay ajuste com polinômio de segunda ordem em uma janela de 11 pontos (Figura 14).

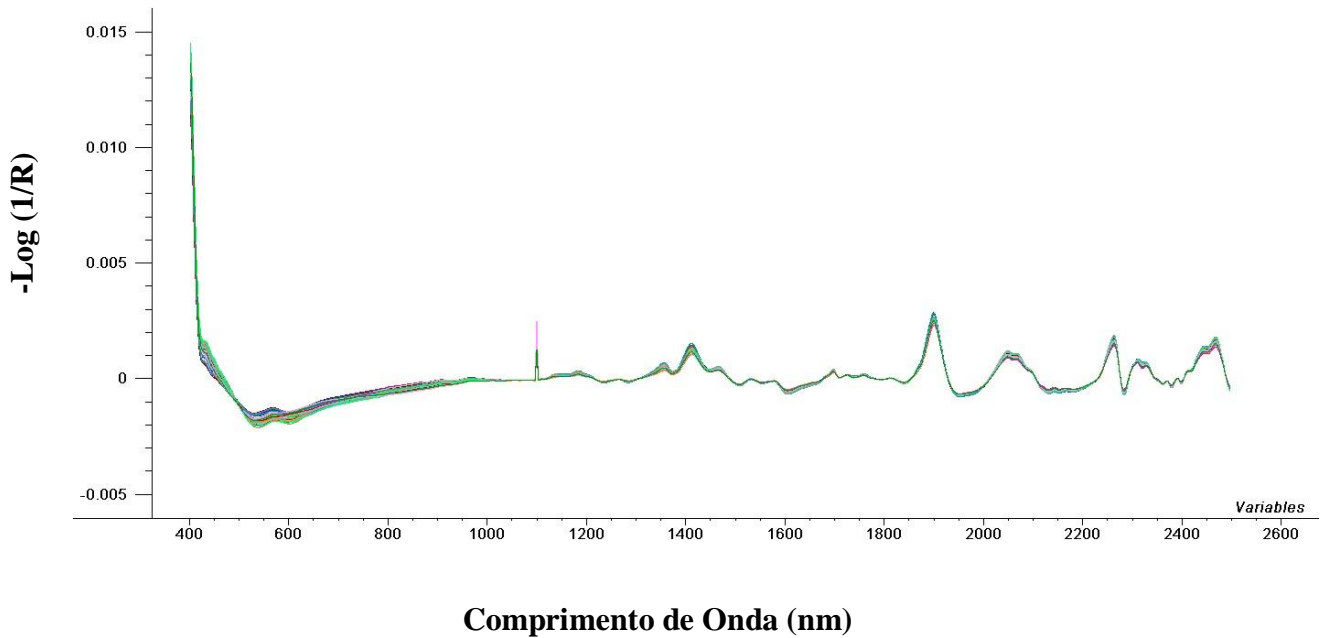


Figura 14: Espectros NIR Pré-Processados (Savitzky- Golay) da BRS Rubi e BRS Safira na região de 400-2500 nm.

A justificativa da derivação ter proporcionado melhor resultado deve-se a característica de inclinação da linha de base dos espectros que com a técnica de SNV ela não é removida. Entretanto, com a derivada esse efeito é minimizado e o espectro resultante possui um perfil resultante diferente do espectro bruto original.

A aplicação da PCA à matriz dos espectros pré-processados resultou nos escores apresentado na Figura 15. A PC1 (85% de variância explicada) *versus* PC2 (15% de variância explicada). Observa-se que ocorreu separação das duas classes de cultivares com seleção *a priori* na região de 1860-1874 nm.

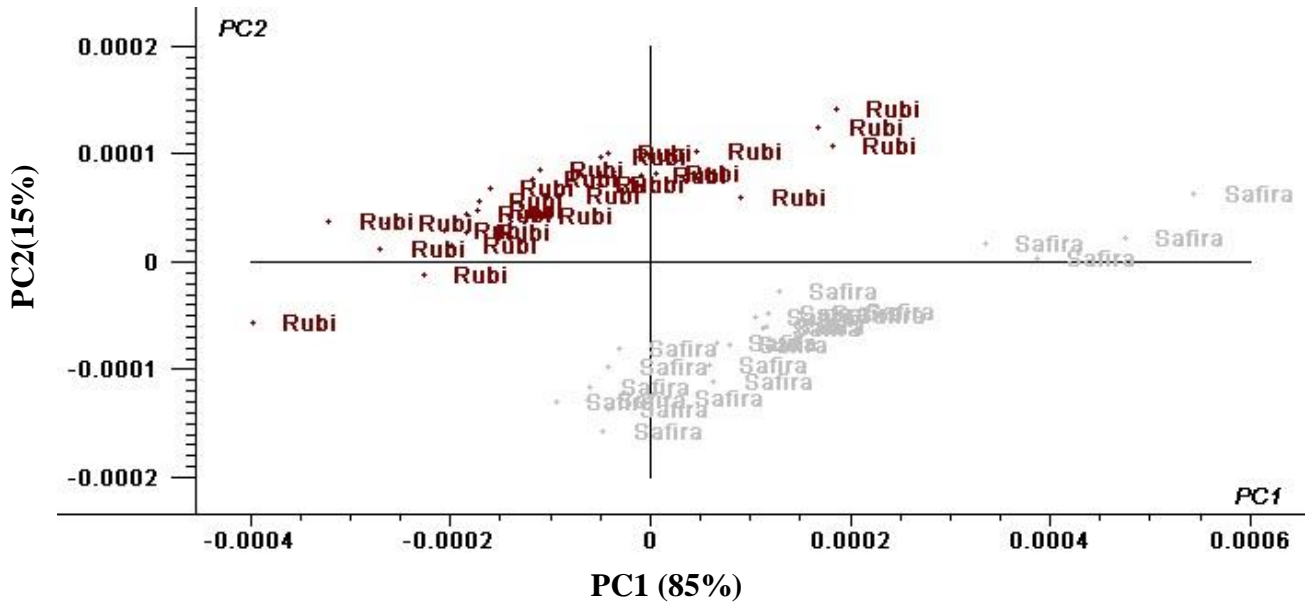


Figura 15: Gráfico dos escores de PC1 versus PC2 da cultivar BRS Safira (cinza) e BRS Rubi (marrom) na região de 1860-1874 nm.

4.2. Seleção da região espectral de trabalho e pré-processamento dos dados de tecidos de algodão colorido, adulterados e falsificados

Na Figura 16, podem ser observados os espectros das 276 amostras de tecidos coloridos e das 7 amostras de duas peças comerciais com suspeita de serem falsas, sem tratamento matemático na região entre 400 a 2500 nm. Os espectros obtidos ao longo de todo o perfil não permitem uma fácil distinção entre as amostras de tecidos naturalmente coloridos, adulterados e peças falsificadas. A região do visível permite uma identificação de algumas classes, porém entre algumas classes há sobreposição que dificulta sua distinção inequívoca. Para superar esse desafio foi realizado um pré-processamento dos espectros brutos.

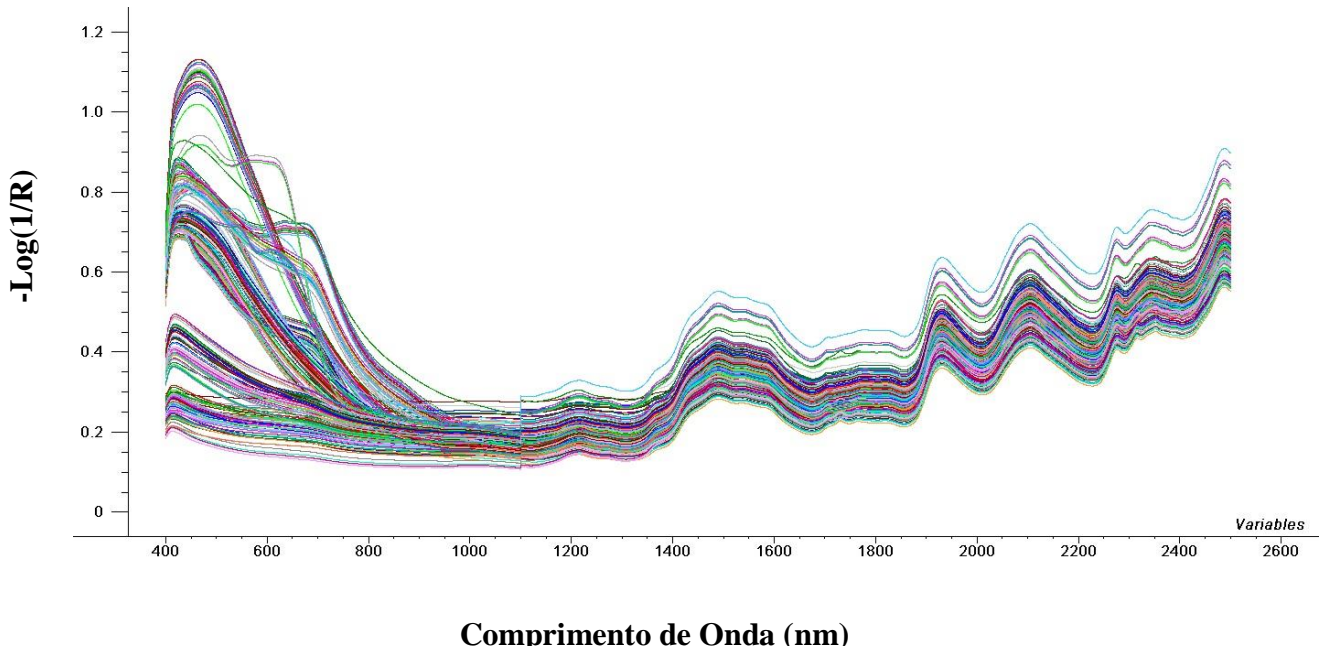


Figura 16: Espectros brutos dos tecidos de algodão colorido, adulterados e falsificados.

O pré-processamento empregado foi realizado com o algoritmo de Savitzky-Golay com janela de 11 pontos, primeira derivada e ajuste com polinômio de segunda ordem (Figura 18).

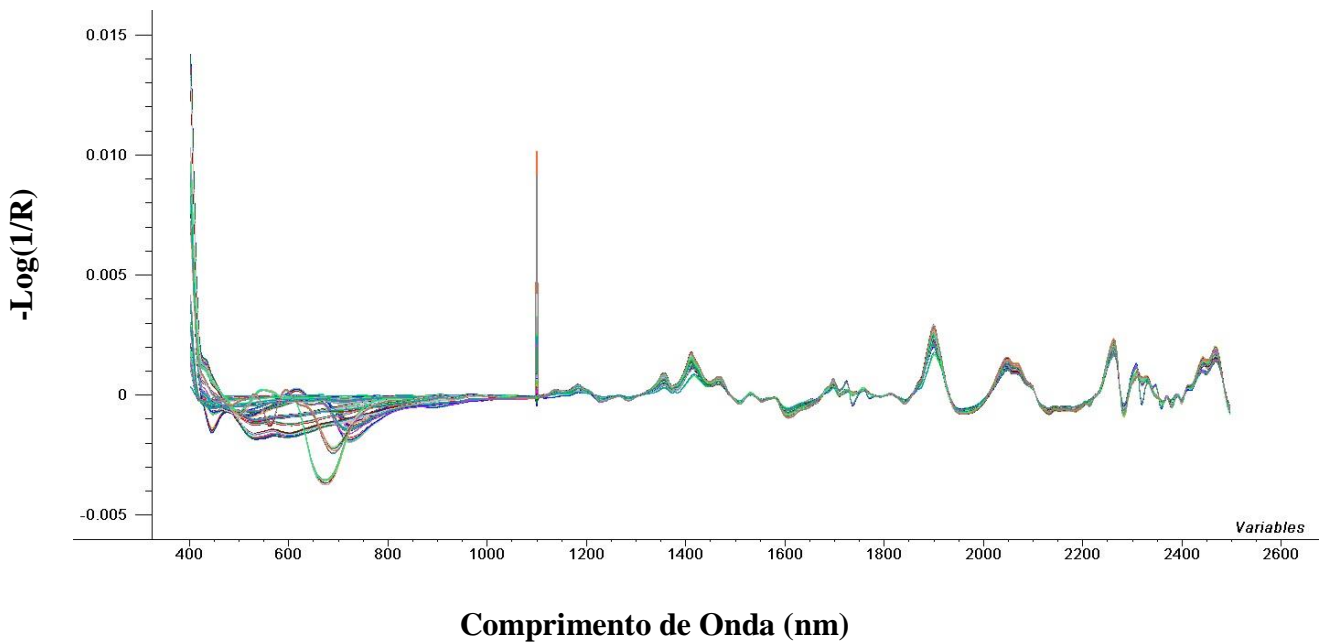


Figura 17: Espectros NIR Pré-Processados (Savitzky- Golay) dos tecidos de algodão colorido.

As variáveis de 1099 a 1101 foram removidas em decorrência do pico formado pela mudança do detector quando o espectro é obtido. No espectro derivativo a formação desse pico é mais sensível e pode interferir na definição dos modelos de análise exploratório e de calibração.

4.2.1. Análise exploratória dos dados

A Figura 18 ilustra a distribuição de escores para as amostras de tecidos confeccionados com pluma branca, colorida natural e falsificadas. As duas primeiras PCs descrevem 89% de variância em que é possível verificar as classes associadas à cor e as características físicas de cada conjunto de amostras de tecidos.

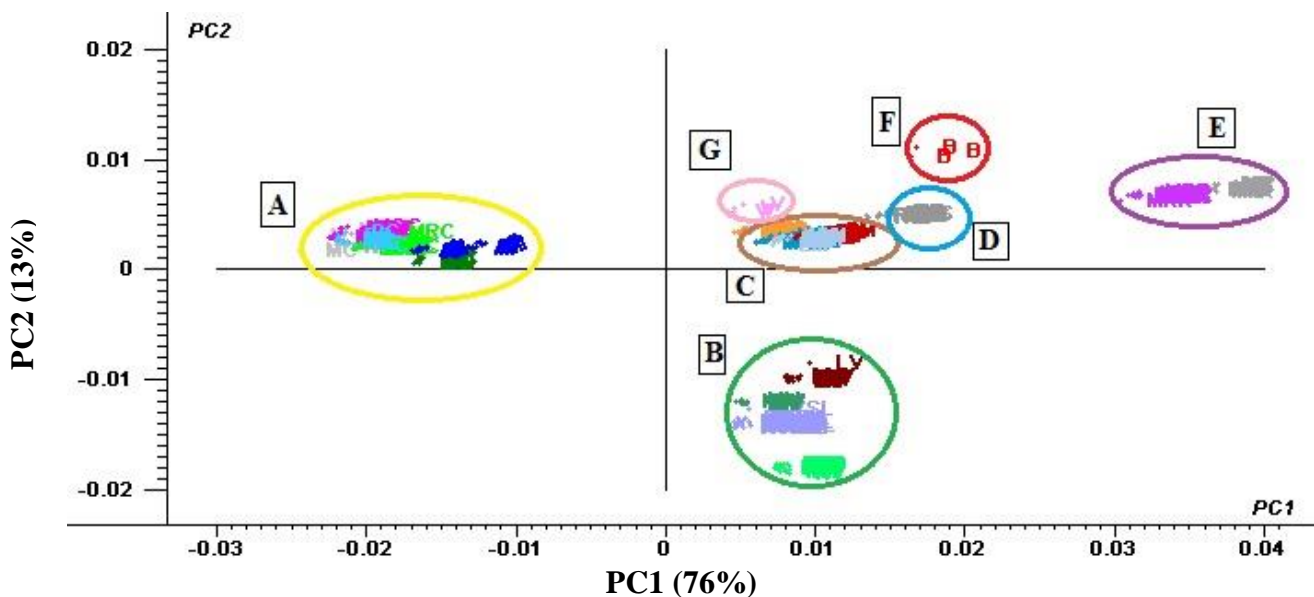


Figura 18: Gráfico dos escores de PC1 versus PC2 dos tecidos confeccionados com algodão branco, colorido e adulterados: A - algodão branco (círculo amarelo), colorido: B - BRS Verde (círculo verde), C - BRS Marrom (círculo marrom), D - BRS Safira (círculo azul), E- BRS Rubi (círculo roxo) e adulterado: G - Vestido (círculo rosa), F - Blusa (círculo vermelho).

Os tecidos confeccionados a partir da pluma branca (A) está separada dos demais BRS Verde (B), BRS Marrom (C), BRS Safira (D) e BRS Rubi (E), formando classes definidas por cada conjunto de amostras. Observa-se também que as amostras do vestido (G) e da blusa (F) consideradas falsificadas não se enquadram em nenhuma classe das amostras de tecidos oriundos de algodão colorido. Esses resultados mostram que a espectroscopia de reflectância de infravermelho próximo em combinação com a análise multivariada fornece vantagens por ser

rápida, não destrutivo e com resultados de separação correta para cada classe. De modo geral, os dados estão de acordo com Liu et al. (2010) que em seu estudo demonstrou a utilidade da espectroscopia UV/VIS/NIR associada a quimiometria para predição da cor e índices físicos do algodão. Essas estratégias têm sido aplicadas com sucesso para identificar produtos alimentares e de origem agrícola com sucesso, tais como farinha de peixe, farinha de carne e amostras de farelo de soja (COZZOLINO et al., 2009).

4.3. Aplicação do modelo SIMCA as plumas e tecidos coloridos, adulterados e falsificados

Os modelos usando validação cruzada total possibilitou a obtenção de um algoritmo SIMCA para classificação de plumas coloridas na região do visível entre 629-717 nm, e no infravermelho próximo na região entre 1860-1874 nm e para tecidos de algodão colorido na região de 400-2500 nm, sem erros de tipo I ou do tipo II. Na Tabela 5 e na Tabela 6 visualizam-se o resumo da classificação das plumas e tecidos coloridos obtidos pelos modelos SIMCA.

Tabela 5: Resumo da aplicação dos modelos SIMCA (5% de nível de significância) para plumas.

AMOSTRAS	SIMCA- Modelo
	Plumas coloridas
BRS Marrom	*
BRS Safira	*
BRS Rubi	*
BRS Topázio	*
BRS Verde	*
Barbatimão	
Cajueiro roxo	
Bege sintético	

Tabela 6: Resumo da aplicação dos modelos SIMCA (5% de nível de significância) para tecidos entre 400-2500 nm

AMOSTRAS	SIMCA- Modelo
	Tecidos confeccionados com algodão colorido
Tecidos confeccionados com algodão colorido	*
Blusa	
Vestido	

Com base nos resultados apresentados pelos modelos SIMCA, percebe-se que não ocorrem erros do Tipo I e nem do Tipo II. A modelagem SIMCA classificou corretamente 100% das plumas e tecidos naturalmente coloridos ao nível de significância de 1%, 5% e 10%. Nenhuma pluma adulterada foi classificada no modelo criado para plumas coloridas, assim também as amostras de tecidos adulteradas não foram classificadas no modelo criado para tecidos confeccionados com algodão colorido. Dessa forma, amostras que não foram classificadas nas classes corretas foram consideradas falsas.

4.4. Tempo de extração de pigmentos

As amostras de plumas de algodão colorido quando submetidas ao aquecimento entre 60 e 70°C em diferentes tempos observou-se uma menor variação em relação às medidas de absorbância entre as cinco cultivares de algodão colorido no tempo de duas horas, tempo este também utilizado por Dutt et al. (2004) no qual se obteve uma extração satisfatória de pigmentos de algodão colorido (Figura 19), no tempo de seis horas houve degradação das fibras, não sendo por esse motivo indicado para extração de pigmentos.

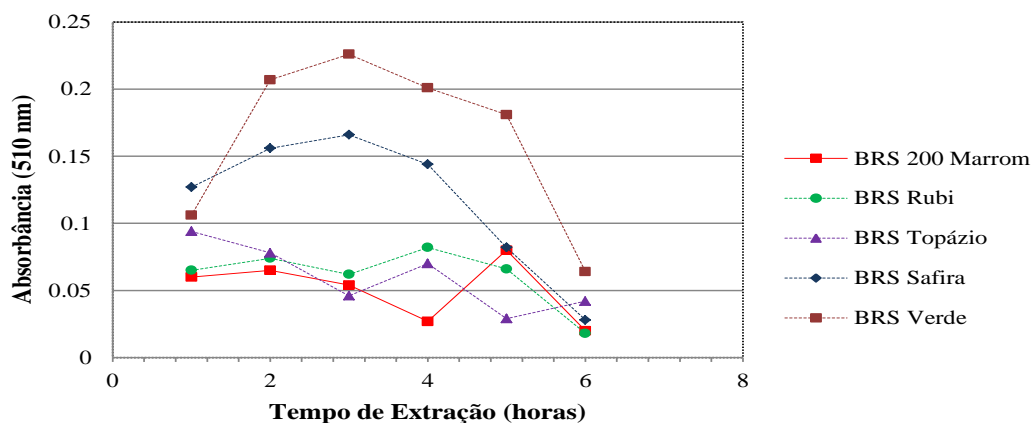


Figura 19: Absorbâncias médias em extrações realizadas em diferentes tempos.

4.5. Calibração multivariada não destrutiva para flavonóides

A região espectral empregada na calibração multivariada para predição não destrutiva de flavonóides com base nos espectros de reflectância foi executada com a técnica de regressão por PLS com validação cruzada total. Para a construção do modelo de regressão foram utilizados os valores médios de três repetições do teor de flavonóides obtido pelo método descrito por Dutt et al. (2004) e os espectros pré-processados por SNV na faixa de 400 a 2500 nm.

Os resultados dos parâmetros de calibração podem ser visualizados na Tabela 7. Na faixa de calibração de 80,3 - 383,5 $\mu\text{g}/10\text{ mL}$ o RMSECV (Raiz Quadrada do Erro Médio de Validação Cruzada) representa 40,7% e 8,5% dos extremos dessa faixa, respectivamente. Essa atribuição deve-se a um erro relativo alto no limite inferior da faixa que pode decorrer dos resultados de referência para quantificação de flavonóides. Além disso, desvio de linearidade pode ser a causa principal para se estabelecer uma calibração com um menor RMSECV em relação a ampla faixa de concentração do limite de detecção necessário para uma medida de reflectância VIS-NIR.

Entretanto, vale destacar que nesse modelo de predição para flavonóides consegue-se inferir de forma não destrutiva, com alta frequência analítica sem a necessidade do uso de reagentes de alto custo e outros insumos requeridos pelo método de referência. Nesse particular, cabe ressaltar ainda que por meio do método de referência para flavonóides foi possível realizar quatro ensaios por dia. Enquanto, com o NIR e calibração por PLS se atinge uma frequência de 40 amostras por hora de trabalho.

Tabela 7: Resultados obtidos para o modelo de calibração multivariada (PLS).

Faixa de concentração($\mu\text{g}/10\text{mL}$)	Variáveis Latentes	RMSECV $\mu\text{g}/10\text{mL}$	R²	r
80,3 - 383,5	4	32,7	0,9023	0,9465

A relação entre as concentrações medidas versus as concentrações preditas de flavonóides estão ilustrados na Figura 20. Nessa figura, as amostras analisadas possuem concentração mais frequente no limite inferior em torno de 100 $\mu\text{g}/10\text{ mL}$. Além disso, ao longo dos valores de flavonóides medidos e preditos as amostras com menor concentração do pigmento são oriundas

das cultivares BRS Topázio, BRS Marrom e BRS Safira e com maior concentração para BRS Verde e BRS Rubi.

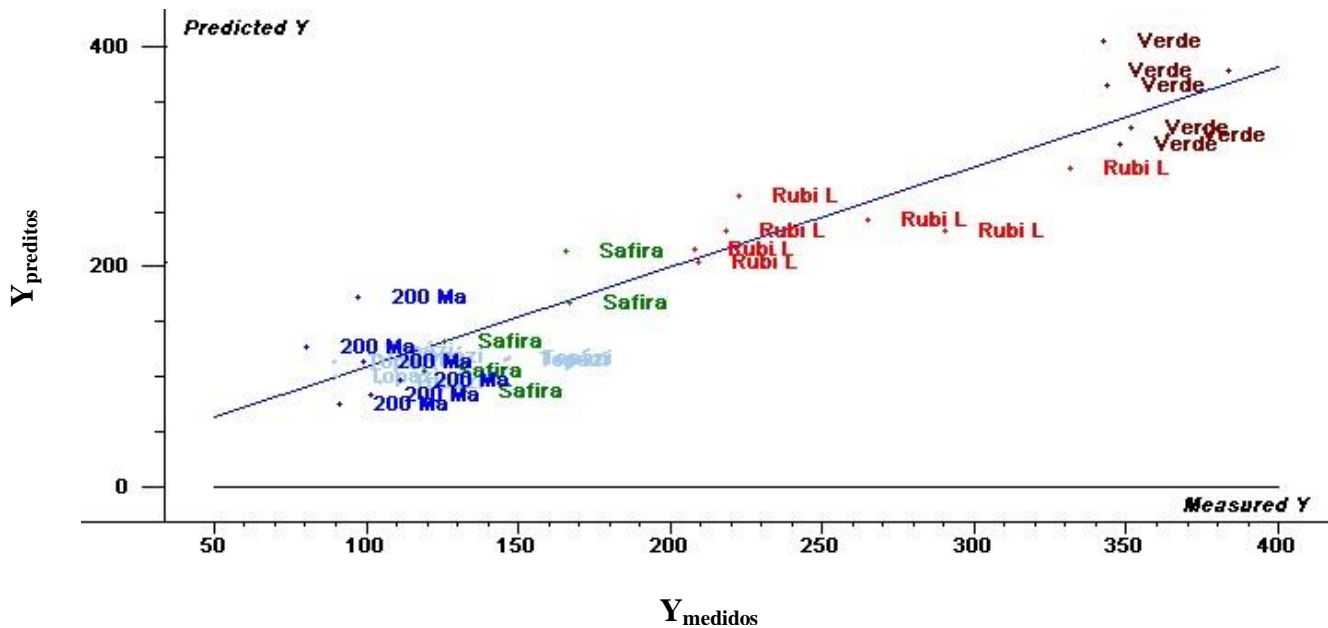


Figura 20: Valores experimentais médios das triplicatas (Y_{medidos}) versus valores preditos (Y_{preditos}) do conjunto de calibração do modelo de regressão usando quatro variáveis latentes.

Yong et al. (2012) observou que a espectroscopia NIR combinada ao método de calibração multivariada (iPLS), mostrou-se uma técnica alternativa simples e rápida para determinação de flavonóides em folhas de Ginkgo biloba. As amostras utilizadas pelos autores com concentração de 2,73 a 36,68 mg/ g forneceram os seguintes parâmetros de calibração $RMSEP=2,62$ mg/ g, $RMSEC = 2,36$ mg/ g e $R^2=0,82$. Essa faixa de concentração é cerca de 100 vezes superior a concentração em pluma e tecidos de algodão colorido. Entretanto, observa-se que o RMSEC e RMSEP são altos para a faixa em Ginkgo Biloba com erro relativo para o menor valor da faixa de concentração de 96% e 86,4%. Em relação ao modelos PLS desenvolvido nesse trabalho para flavonóides o erro relativo na menor concentração foi de 40,7. Portanto, o modelo para flavonóides totais em pluma e tecido de algodão forneceram resultados mais parcimoniosos que com o modelo para Ginkgo biloba.

5. CONCLUSÕES

1. A PCA aplicada aos espectros NIR das plumas e dos tecidos de algodão colorido é eficiente para observar a tendência de formação de classes entre essas amostras.

2. O modelo SIMCA foi capaz de classificar corretamente as amostras de plumas e tecidos de algodão colorido, a um nível de significância de 1%, 5% e 10%, podendo ser empregada para identificação de amostras de plumas ou tecidos falsificados.

3. A técnica VIS/NIR associada à quimiometria é eficiente para discriminação e classificação de algodão colorido, proporcionando as seguintes vantagens: menor custo operacional, maior simplicidade e rapidez, não destruição, pouca manipulação, dispensa o tratamento prévio das amostras e uso de reagentes.

4. A espectroscopia VIS/NIR associada ao método de calibração multivariada (PLS) é uma técnica alternativa simples e rápida, para determinação do teor de flavonóides total em amostras de algodão colorido de forma não destrutiva.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, V. C.; ARAÚJO, R. L.; HOFFMANN, L. V.; FONSECA, R. G.; CARVALHO, L. P.; BARROSO, P. A. V. Temperatura e tipo de ácido para a extração de pigmentos de fibra naturalmente colorida de algodoeiros. In: V CONGRESSO BRASILEIRO DO ALGODÃO, 2005, Salvador. **Anais...** Campina Grande: EMBRAPA-CNPA, 2005.

BARBOSA, V. S. C. **Embrapa faz evento para combater pirataria do algodão colorido**. 2011. Disponível em: <<http://www.diariopb.com.br/embrapa-realiza-evento-para-combater-a-pirataria-do-algodao-colorido-2/>>. Acesso em: 17 Jun. 2012.

BARROSO, P. A. V.; ALMEIDA, V. C.; ARAÚJO, R. L.; NETO, F. A.; PINTO, F. S. L.; HOFFMANN, L.V.; SANTOS, J. W.; SANTOS, T. S.; FONSECA, R. G. **Intensidade da Cor da Fibra de Algodões Coloridos**. Campina Grande: Embrapa-CNPA, 2005. (Comunicado Técnico, 249).

BEEBE, K.R.; PELL, R.J; SEASHOLTZ, M.B. **Chemometrics A Practical Guide**. New York: John Wiley & Sons, 1998.

BELTRÃO, N. E. M.; ARAUJO, A. E. **Algodão: O produtor pergunta, a Embrapa responde**. Brasília, DF: Embrapa de Informação Tecnológica, 2004. 265p.

BELTRÃO, N. E. M; CARVALHO, L. P. **Algodão colorido no Brasil, e em particular no Nordeste e no Estado da Paraíba**. Campina Grande, PB: Embrapa Algodão, 2004, 17 p. (Embrapa Algodão. Documentos, 128). Disponível em: <<http://www.prodemb.cnptia.embrapa.br/busca.jsp>>. Acesso em: 30 Maio 2012.

BELTRÃO, N. E. M.; OLIVEIRA, M. I. P.; JÚNIOR, S. P. S.; BRITO, G. G.; CARDOSO, G. D. Ecofisiologia do algodoeiro (*Gossypium hirsutum* L. r. latifolium Hutch). In: BELTRÃO, N. E. M.; OLIVEIRA, M. I. P. **Ecofisiologia das culturas de algodão, amendoim, gergelim, mamona, pinhão-manso e sisal**. Brasília, DF: Embrapa de Informação Tecnológica, 2011, p. 65-123.

BULUT, M. O.; AKAR, E. Ecological dyeing with some plant pulps on woolen yarn and cationized cotton fabric. **Journal of Cleaner Production**, v.32, p. 1- 9, 2012.

CAMOLESI, V. J. **Caracterização do querose através da espectroscopia no Infravermelho próximo**. São Paulo, 2009. Dissertação de mestrado.

CARVALHO, L. P. O gênero *Gossypium* e suas espécies cultivadas e silvestres. In: AZEVEDO, D. M. P.; BELTRÃO, N. E. M. **O Agronegócio do Algodão no Brasil**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, v. 1, 2ed. 2008, p. 251-270.

CARVALHO, L. P.; ANDRADE, F. P.; FILHO, J. L. S. Cultivares de algodão colorido no Brasil. **Revista brasileira de oleaginosas e fibrosas**, Campina Grande, v.15, n.1, 2011, p.37- 44.

CARVALHO, L. P.; ARAUJO, G. P.; VIEIRA, R. M.; BELTRAO, N. E. M.; COSTA, J. N. **BRS Rubi**. Campina Grande: Centro Nacional de Pesquisa de Algodão, 2009a. (Folder) Disponível em: <<http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/handle/doc/579001>> Acesso em: 08 Jun. 2012.

CARVALHO, L. P.; BELTRAO, N. E. M.; COSTA, J. N.; ANDRADE, F. P.; SILVA, O. R. R. F.; ARAUJO, G. P.; ALVES, I. **BRS Verde**. Campina Grande-PB: Embrapa Algodão, 2009b. (Folder). Disponível em: <<http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/579005>>. Acesso em: 08 Jun. 2012.

CARVALHO, L. P.; ARAUJO, G. P.; VIEIRA, R. M.; BELTRAO, N. E. M.; COSTA, J. N. **BRS Safira**. Campina Grande: Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, 2009c. (Folder) Disponível em: <<http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/handle/doc/579011>> Acesso em: 08 Jun. 2012.

CHEN, Y.; XIE, M.; ZHANG, H.; WANG, Y., NIE, S.; LI, C. Quantification of total polysaccharides and triterpenoids in *Ganoderma lucidum* and *Ganoderma atrum* by near infrared spectroscopy and chemometrics. **Food chemistry**, v.135, p. 268-275, 2012.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO - CONAB. **Quinto levantamento da safra 2012/2013: Fevereiro/2013**. Disponível em: <http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/13_02_08_17_24_51_boletim_fevereiro_2013.pdf>. Acesso em: 11Fev. 2013.

CLEVE, E.; BACH, E.; SCHOLLMEYER, E. Using chemometric methods and NIR spectrophotometry in the textile industry. **Analytica Chimica Acta**, v. 420, p. 163–167, 2000.

COOK, N.C.; SAMMAN, S. Flavonoids Chemistry, metabolism, cardioprotective effects, and dietary sources. **The Journal of Nutrition Biochemistry**, v.7, n.1, p. 66-76, 1996.

CORREIA, P. R. M.; FERREIRA, M. M. C. Reconhecimento de padrões por métodos não supervisionados: explorando procedimentos quimiométricos para tratamento de dados analíticos. **Química Nova**, 2007, v.30, n.2, p. 481-487.

COZZOLINO, D.; RESTAINO, E.; MANNA, A.L.; FERNANDEZ, E.; FASSIO, A.; Usefulness of near infrared reflectance (NIR) spectroscopy and chemometrics to discriminate between fishmeal, meat meal and soya meal samples. **Ciencia e Investigación Agraria**, v.36, n.2, p. 209-124, 2009.

DANTAS, H. V. **Triagem da qualidade de amostras de GNV e GLP usando espectrometria NIR e quimiometria**. 2010. Dissertação de mestrado, Universidade Federal da Paraíba.

DUTT, Y.; WANG, X.D.; ZHU, Y.G.; Li, Y.Y. Breeding for high yield and quality in colored cotton. **Plant Breeding**, v.123, p.145-151, 2004.

EMBRAPA ALGODÃO. **BRS 200 Marrom. Cultivar de algodão de fibra colorida**. Campina Grande, 2004. (Folder) Disponível em: <<http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/handle/doc/276144>> Acesso em: 08 Jun. 2012.

EMBRAPA ALGODÃO. **BRS Rubi**. Campina Grande: Embrapa Algodão, 2006. (Folder). Disponível em: <<http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/handle/doc/276136>>. Acesso em: 08 Jun. 2012.

FERREIRA, M. M. C.; ANTUNES, A. M.; MELGO, M. S.; VOLPE, P. L. O. Quimiometria I: Calibração multivariada, um tutorial. **Química Nova**, 1999, v.22, p.724-731.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS - FAO. **Food and Agricultural commodities production - production - countries by commodity - cottonseed - cotton lint - 2011- value**. Disponível em: <<http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx>>. Acesso em: 11 Fev. 2013.

FREIRE, E.C. Algodão colorido. **Biotecnologia, Ciência & desenvolvimento**, n.9, p.36-39, 2000.

FREIRE, E.C.; ANDRADE, F.P.; SANTANA, J.C.F.; PEDROSA, M.B. Melhoria do algodão colorido de tonalidade marrom no nordeste do Brasil. In: CONGRESSO BRASILEIRO DO ALGODÃO, 2.,1999, Ribeirão Preto. **Anais...** Campina Grande: Embrapa-CNPA, 1999. p. 563-565.

FREIRE, E. C.; MORELLO, C. L.; FARIAS, F. J. C. Melhoria do algodoeiro e cultivares obtidas para o cerrado. In: FREIRE, E. C. **Algodão no cerrado brasileiro**. 2 ed. Aparecida de Goiânia: Mundial Gráfica. 2011, p. 345-412.

GONZAGA, F. B. **Desenvolvimento de um Espectrômetro de Emissão para a Região no Infravermelho Próximo**. Campinas, 2006. 117p. Tese (Doutorado em Química) - Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas.

HASSAN, S.; MATHESIUS, U. The role of flavonoids in root–rhizosphere signalling: opportunities and challenges for improving plant–microbe interactions. **Journal of Experimental Botany**, v. 63, n. 9,p. 3429–3449, 2012.

HUA, S.; WANG, X.; YUAN, S.; SHAO, M.; ZHAO, X.; ZHU, S.; JIANG, L. Characterization of Pigmentation and Cellulose Synthesis in Colored Cotton Fibers. **Crop Science**, v.47, n.4,p. 1540-1546, 2007.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA- IBGE. **Levantamento sistemático da produção agrícola: Estatística de produção agrícola- Dezembro de 2012**- Pesquisa mensal de previsão e acompanhamento das safras agrícolas no ano civil. Disponível em: < http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/lspa/lspa_201212.pdf > publicação completa. Acesso em: 11 Jan. 2013.

JAMSHIDI, B.; MINAEI, S.; MOHAJERANI, E.; GHASSEMIAN, H. Reflectance Vis/NIR spectroscopy for non destructive taste characterization of Valencia oranges. **Computers and electronics in agriculture**, v.85, p. 64-69, 2012.

LI, B. Y.; HU, Y.;LIANG, Y. Z.; XIE, P. S.; DU, Y. P. Quality evaluation of finger prints of herbal medicine with chromatographic data. **Analytica Chimica Acta**, p. 69-77, 2004.

LI, T.; FAN, H.; LI, Z.; WEI, J.; LIN, Y.; CAI, Y. The accumulation of pigment in fiber related to proanthocyanidins synthesis for brown cotton. **Acta Physiol Plant**, v. 34, p. 813–818, 2012a.

LI, Y. J.; ZHANG, X. Y.; WANG, F. X.; YANG, C. L.; LIU, F.; XIA, G. X.; SUN, J.A comparative proteomic analysis provides insights into pigment biosynthesis in brown color fiber. **Journal of proteomics**, 15p, 2012b.

LIU, Y; GAMBLE, G; THIBODEAUX, D. UV/VISIBLE/NEAR-Infrared Reflectance Models for the rapid and non- destructive prediction and classification of cotton color and physical indices. **Transactions of the ASABE**, v.53, n.4, p. 1341-1348, 2010.

LOPES, R. M.; OLIVEIRA, T. T.; NAGEM, T. J.; PINTO, A. S. Flavonóides: Farmacologia de flavonóides no controle hiperlipidêmico em animais experimentais. **Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento**, n. 17, p.18-22, 2000.

KIM, S.; MOLDES, D.; PAULO, A. C. Laccases for enzymatic colouration of unbleached cotton. **Enzyme and Microbial Technology**, v.40, p. 1788–1793, 2007.

KONG, J. M.; CHIA, L. S.; GOH, N. K.; CHIA, T. F.; BROUILLARD, R. Analysis and biological activities of anthocyanins. **Phytochemistry**, v. 64, p. 923–933, 2003.

MANHITA, A.; FERREIRA, T.; CANDEIAS, A.; DIAS, C. B. Extracting natural dyes from wool an evaluation of extraction methods. **Anal Bioanal Chem**, v. 400, 2011. p.1501–1514.

MORGANO, M. A.; FARIA, C. G.; FERRÃO, M. F.; BRAGAGNOLO, N.; FERREIRA, M. M. C. Determinação de proteína em café cru por espectroscopia NIR e Regressão PLS. **Campinas: Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v. 25, n.1, p. 25-31, 2005.

MORGANO, M. A.; FARIA, C. G.; FERRÃO, M. F.; FERREIRA, M. M. C. Determinação de açúcar total em café cru por espectroscopia no infravermelho próximo e regressão por mínimos quadrados parciais. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 346-350, 2007.

NASCIMENTO, J. A.; DIONÍSIO, A. G. G.; NASCIMENTO, E. C. L.; FREITAS, S. K. B.; ARAUJO, M. C. U. Análise *screening* de vinhos empregando um analisador fluxo-batelada, espectroscopia uv-vis e quimiometria. **Química Nova**, v. 33, n. 2, p. 351-357, 2010.

NUNES, P. G. A. **Uma nova técnica para seleção de variáveis em calibração multivariada aplicada às espectroscopias UV-VIS e NIR**. João Pessoa, 2008. 106p. Tese de Doutorado, Universidade Federal da Paraíba.

OLIVEIRA, L. F. C. **Espectroscopia Molecular**. Cadernos Temáticos de Química Nova na Escola. n. 4, 2001.

PASQUINI, C. Near Infrared Spectroscopy: Fundamentals, Practical Aspects and Analytical Applications. Campinas-SP: **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 14,p.198-219, 2003.

PEREIRA, A. F. C. **Determinação simultânea de acidez, índice de refração e viscosidade em óleos vegetais usando espectrometria NIR, calibração multivariada e seleção de variáveis**. 2007. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal da Paraíba.

PIMENTEL, M. F.; NETO, B. B. Calibração: Uma revisão para químicos analíticos. **Química Nova**, v. 19, n. 3, p. 268-277, 1996.

PONTES, M. J. C. **Algoritmo das projeções sucessivas para a seleção de variáveis espectrais em problemas de classificação.** João Pessoa, 2009. Tese de doutorado, Universidade Federal da Paraíba.

QUEIROGA, V. P.; CARVALHO, L. P.; CARDOSO, G. D. **Cultivo do Algodão Colorido Orgânico na Região Semi-Árida do Nordeste Brasileiro.** Campina Grande-PB: Embrapa Algodão, 2008. 49p. (Documentos, 204).

SANTANA, J. C. F.; WANDERLEY, M. J. R.; BELTRÃO, N. E. M.; AZEVEDO, D. M. P.; LEÃO, A. B.; VIEIRA, D. J. Características da fibra e do fio de algodão. Análise e interpretação dos resultados. In: AZEVEDO, D. M. P.; BELTRÃO, N. E. M. **O Agronegócio do Algodão no Brasil.** v. 2, 2 ed. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2008, p. 1099-1120.

SANDHAR, H. K.; KUMAR, B.; PRASHER, S.; TIWARI, P.; SALHAN, M.; SHARMA, P. A. Review of Phytochemistry and Pharmacology of Flavonoids. **International e Pharmaceutica Scientia,** v. 1, p. 25-41, 2011.

SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; NIEMAN, T. A. **Princípios de Análise Instrumental.** 6 ed., Bookman, Porto Alegre, 2009.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal.** 3.ed. Porto Alegre: Artmed, 2004. 719p.

VALE, D. G.; GUIMARAES, F. M.; OLIVEIRA, G. S.; CARDOSO, G. D.; ALVES, I.; SILVA, J. C. A.; CARVALHO, L. P.; SILVA, O. R. R. F.; CARTAXO, W. V. **Algodão colorido: "tecnologia Embrapa para a geração de emprego e renda na agricultura familiar do Brasil".** Campina Grande: Embrapa Algodão, 2011. (Folder). Disponível em:<<http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/handle/doc/906449>>. Acesso em: 08 Jun. 2012.

VALLE, M. C. G.; FREITAS, T. O.; GUEDES, R. C.; SILVA, I. P. Uma nova geração de fibras: um estudo sobre a busca pelo conforto e redução dos impactos ambientais. **Rev. Univ. Rural, Sér. Ciências Humanas.** Seropédica, RJ, EDUR, v. 26, p. 60-66, 2004.

VELOSO, B. **Tingimento natural e corantes naturais.** Disponível em:<<http://tecelagemartesanal.wordpress.com/tingimento-com-corantes-naturais/>>. Acesso em: 19 Jun. 2012.

VERAS, G.; BRITO, A. L. B.; SILVA, A. C.; SILVA, P.; COSTA, G. B.; FÉLIX, L. C. N.; FERNANDES, D. D. S.; FONTES, M. M. Classificação de Biodiesel na região do visível. **Química Nova,** p.1- 4, 2011.

VIDAL NETO, F. C.; ANDRADE, F. P. ; SILVA, J. L.; CARVALHO, L. P. **BRS Topázio: fibra marrom claro uniforme resistente e macia.** Campina Grande: Embrapa Algodão, 2010. (Folder) Disponível em:<<http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/handle/doc/859647>> Acesso em: 08 Jun. 2012.

VOGEL, A. I. **Análise Química Quantitativa.** Rio de Janeiro-RJ: LTC, 2002.

WANG, C.C., CHANG, S. C., INBARAJ, B. S., CHEN, B. H. Isolation of carotenoids, flavonoids and polysaccharides from *Lyciumbarbarum*L. and evaluation of antioxidant activity. **Food Chemistry,** v. 120, p. 184–192, 2010.

XIAO, Y. H.; ZHANG, Z. S.; YIN, M. H.; LUO, M.; BI, X.; HOU, L.; PEI, Y. Cotton flavonoid structural genes related to the pigmentation in brown fibers. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, p. 73-78, 2007.

XIE, M. X. Flavonoids. **Current Organic Chemistry**, v. 15, n. 15, p. 2540, 2011.

YONG, S. J.; BO, Z. X.; WEN, Z. J.; HOLMES, M.; LIANG, W. K.; XUE, W.; HONG, C. Determination of total flavonoids content in fresh Ginkgo biloba leaf with different colors using near infrared spectroscopy. **Spectrochimica Acta Part**, v. 94, p. 271-276, 2012.

YUAN, S.; HUA, S.; MALIK, W.; BIBI, N.; WANG, X. Physiological and biochemical dissection of fiber development in colored cotton. **Euphytica**, v. 187, p. 215–226, 2012.