



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE FARMÁCIA
CURSO DE BACHARELADO EM FARMÁCIA**

MORGANA LOPES DO NASCIMENTO

**PARÂMETROS DE QUALIDADE FÍSICO-QUÍMICA DE PRODUTOS VEGETAIS
DA *Agave sisalana***

CAMPINA GRANDE - PB
2014

MORGANA LOPES DO NASCIMENTO

PARÂMETROS DE QUALIDADE FÍSICO-QUÍMICA DE PRODUTOS VEGETAIS
DA *Agave sisalana*

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao
Curso de Graduação em Farmácia da Universidade
Estadual da Paraíba, em cumprimento às exigências
para obtenção do grau de Bacharel em Farmácia.

Orientador: Prof.º Dr.º JOSÉ ALEXSANDRO DA SILVA

CAMPINA GRANDE-PB
2014

É expressamente proibida a comercialização deste documento, tanto na 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.

N244p Nascimento, Morgana Lopes do.
Parâmetros de qualidade físico-química de produtos vegetais da agave sisalana [manuscrito] / Morgana Lopes do Nascimento. - 2014.
37 p. : il. color.

Digitado.
Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia) - Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, 2014.
"Orientação: Prof. Dr. José Alexsandro da Silva, Departamento de Farmácia".

1. Agave sisalana. 2. Resíduos líquido. 3. Fitoterapia. 4. Decorticação. 5. Sisal. I. Título.

21. ed. CDD 633.5

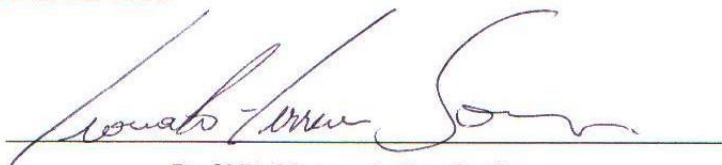
MORGANA LOPES DO NASCIMENTO

PARÂMETROS DE QUALIDADE FÍSICO-QUÍMICA DE PRODUTOS VEGETAIS
DA *Agave sisalana*

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Graduação em Farmácia da Universidade Estadual da Paraíba, em cumprimento às exigências para obtenção do grau de Bacharel em Farmácia.

Aprovado em: 18 / 07 / 2019.

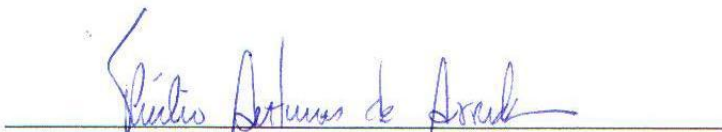
BANCA EXAMINADORA:



Prof.º Dr.º Leonardo Ferreira Soares

Depto. Farmácia/CCBS/UEPB

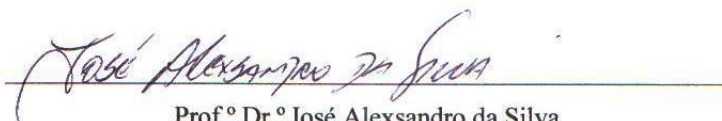
Examinador



Prof.º Dr.º Thúlio Antunes de Arruda

Depto. Farmácia/CCBS/UEPB

Examinador



Prof.º Dr.º José Aleksandro da Silva

Depto. Farmácia/CCBS/UEPB

Orientador

À minha família; ao Laboratório de Desenvolvimento e Caracterização de Produtos Farmacêuticos; aos meus mestres: desde minha primeira professora ao meu orientador; à turma Farmácia UEPB 2014.1 e a todos que de forma direta e indireta, contribuíram para eu estar onde estou.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, a Deus pela minha vida e por sempre estar presente nela, aumentando minha fé e me dando forças para seguir;

Aos meus pais, Docarmo e Edinaldo, por terem me criado e cuidado com tanta maestria, não me deixando faltar nada, nem material nem sentimental, e me ensinando o que é preciso manter e largar na vida para se conseguir viver bem;

Às minhas tias Maria José e Erizelda, por terem me aberto as portas de suas casas e sido minhas segundas mães em alguns momentos da minha jornada;

Ao meu orientador, Alexsandro, por desde a seleção para alunos de Iniciação Científica, ter me escolhido para fazer parte da equipe LDCPF e por ter tido paciência e competência para me orientar neste trabalho;

À Alexsandra, que juntamente com Alex, me escolheu para lhe auxiliar no decorrer do seu mestrado e muito me ensinou. Alê, além de tudo você é uma amiga!;

À todos do LDCPF, pela receptividade, amizade e prestatividade. Juliana, João Paulo, Camila e Fellipe, muito obrigada;

Ao Edital Chamada Pública MCT/CNPq/MEC/CAPES – Ação Transversal nº06/2011 – Casadinho PROCAD, processo: 552652/2011-3, pelo suporte financeiro;

À toda minha turma Farmácia UEPB 2014.1: Jéssica Ohanna, obrigada pelas caronas e por me emprestar sua casa, cama e internet muitas vezes, me livrando de muitos sufocos. À Jéssica Rangel e Aline por terem sido ótimas companheiras de moradia e junto a isso terem me dado carinhos e cuidados como irmãs. À Steffanie e Andressa pela hospedagem na época do São João. À Guga por me fazer companhia nas noitadas de relatórios de Físico-Química Experimental e nas “deixadas” de tudo para última hora. À Júnior, pelo amor incubado e, por seu jeito e graça, sempre ser uma pessoa que alegra os momentos de tensão e faz falta na ausência. À Carol, por sempre nos indicar as melhores coisas e lugares e pelas palavras

amigas. Wilma, Dayane, Rayane, Jéssica Romualdo e a todas e todos pela amizade, cumplicidade e lembranças que irei levar para sempre. Amo vocês forever and ever!

*“Um galo sozinho não tece uma manhã: ele
precisará sempre de outros galos.” (João
Cabral de Melo Neto).*

PARÂMETROS DE QUALIDADE FÍSICO-QUÍMICA DE PRODUTOS VEGETAIS DA *Agave sisalana*

NASCIMENTO, Morgana Lopes do¹; SILVA, José Alessandro da²

RESUMO

A *Agave sisalana* Perrine, popularmente conhecida como sisal, pertencente à Família Agavaceae é uma planta monocotiledônea do México. Está bem adaptada à região semiárida do Nordeste do Brasil, que é atualmente o maior produtor de fibra de sisal no mundo. Apenas 5% de todo o produto da decorticação das folhas de *A. sisalana*, o qual é constituído por uma fibra dura, é explorada; enquanto que os outros 95 %, constituídos por resíduos sólidos (bagaço) e resíduos líquidos (suco) é normalmente descartado. Estudos demonstraram o potencial dos produtos da *A. sisalana* em diferentes aplicações farmacêuticas. Visto que, a qualidade de matéria-prima à base de plantas é essencial para alcançar as especificações desejadas de produtos intermediários e produto acabado. O objetivo deste trabalho foi analisar os parâmetros de qualidade físico-química de produtos vegetais da *A. sisalana*, drogas vegetais e extratos do caule e de resíduos sólido e líquido, coletada em Monteiro, Paraíba - PB. Para isto, foram utilizados métodos farmacopéicos de análise físico-química, como pH, perda por dessecação, densidade, teor de cinzas, granulometria, análise térmica e algumas quantificações, com métodos já validados, como fenóis totais, açúcares totais e livres e flavonóides. Observou-se grandes quantidades de açúcares, fenóis e flavonóides no resíduo líquido, parte dos 95 % que são descartados após o processo de decorticação e que tem grande potencial como matéria-prima vegetal. Sugerindo-se novas aplicações desta espécie para a produção de fitoterápicos.

Palavras-Chave: *Agave sisalana*, decorticação, droga vegetal, resíduo líquido, análise térmica.

¹Graduanda do curso de Farmácia da Universidade Estadual da Paraíba. E-mail: morganalndn@gmail.com

²Professor do Departamento de Farmácia da Universidade da Paraíba.

1 INTRODUÇÃO

A *Agave sisalana* Perrine, popularmente conhecida como sisal, pertencente à Família Agavaceae é uma planta monocotiledônea do México. Está bem adaptada à região semiárida do Nordeste do Brasil, que é atualmente o maior produtor de fibra de sisal no mundo. Apenas 5 % do produto de decorticação das folhas de sisal, constituído por uma fibra dura, é utilizado para diversos fins; os restantes 95 % é composto de resíduos sólidos (bagaço) e resíduos líquidos (suco), que normalmente são descartados por fazendas de sisal (SANTOS et al., 2009).

Estudos demonstraram o potencial da *A. sisalana* em aplicações farmacêuticas devido às suas atividades anti-inflamatórias e antimicrobianas e revelou que diferentes partes da planta possuem muitos metabólitos secundários, principalmente sapogeninas esteroidais, que são utilizados para a síntese de corticosteróides (MENDES et al., 2003; PEREIRA et al., 2006). Além disso, esta espécie pode ser uma fonte de carboidratos importantes para a indústria farmacêutica, tais como frutanos do tipo inulina (APOLINÁRIO et al., 2014).

No entanto, são necessários esforços adicionais para caracterizar os diferentes materiais que podem ser aproveitados a partir da *A. sisalana*, especialmente os resíduos. As avaliações de segurança deve ser preocupação principal para as indústrias farmacêuticas e fornecedores de produtos vegetais como ingredientes, não apenas em um sentido de responsabilidade para com os consumidores, mas também para garantir o acordo com os requisitos legais rigorosos relacionados à sua produção, constituição, controle e armazenamento (ZÖLLNER; SCHWARZ, 2013).

Com base neste contexto e tendo em conta os testes de qualidade recomendados para fitoterápicos pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), o presente trabalho teve por objetivo analisar e comparar alguns parâmetros de qualidade físico-químicos de diferentes produtos vegetais e extratos de diferentes partes da *A. sisalana*.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

Agave sisalana Perrine, popularmente conhecida como sisal ou apenas agave é uma planta monocotiledônea do gênero *Agave*, este foi estabelecido por Lineu em 1753, possui mais de 200 plantas monocotiledôneas e monocárpicas na família Agavaceae, que cresce principalmente na China, Brasil, México, Tanzânia, África do Sul e Moçambique, embora seja nativo da América do Norte, com seu centro de origem no México (COLUNGA-GARCÍAMARÍN; EGUIARTE; ZIZUMBO-VILLARREAL, 2007; ESCAMILLA-TREVIÑO, 2011; NOBEL 1988 *apud* BROWN, 2002). Está bem adaptada à região semiárida do Nordeste do Brasil, que é atualmente o maior produtor de fibra de sisal no mundo (SANTOS et al., 2009).

É uma herbácea com apenas um eixo principal, no qual as folhas se inserem e armazenam água e nutrientes. As folhas são longas, de coloração verde-lustrosa, convexas, canaliculadas na parte superior, duras, suculentas e partem de um caule curto, situado no nível do solo, sendo dispostas em espiral. São lanceoladas e lineares, sem pecíolo, com comprimento médio entre 90 e 120 centímetros, embora possam alcançar dois metros. Os estômatos apresentam-se em cavidades denominadas criptas, as quais estão alinhadas em forma de alteres, que incrementam a resistência à perda de água, fazendo parte do sistema de controle de umidade interno da planta (BELTRÃO, 2006 & MORS; SHARAPIN, 1973 *apud* DOMINGUES, 2008). Foto da *A. sisalana* na figura 1.

Figura 1 – Foto da *A. sisalana*.



FONTE: Autor.

A composição química nutricional da *A. sisalana* é constituída de cerca de 29,2 % de fibra bruta; 5,3 % de proteínas; 3,1 % de lipídios; 13,1 % de cinzas e 21,2% de carboidratos (SILVA et al., 1999 *apud* DOMINGUES, 2008), enquanto que, os metabólitos secundários identificados consistem em saponinas esteroidais, presentes na raiz, tubérculo, casca, folhas e sementes (HART et al., 2007 *apud* DOMINGUES, 2008), sendo a sua concentração diretamente proporcional ao estágio evolutivo da planta. As principais saponinas isoladas são a hecogenina, tigogenina, neotigogenina, gitogenina, diosgenina, sisalagenina e barbougenina (BLUNDEN et al., 1974 & BLUNDEN et al., 1986 *apud* DOMINGUES, 2008).

O uso do agave é bastante disseminado como fonte de fibras. A produção mundial de fibra do sisal em 2007 foi de 240 mil toneladas, das quais o Brasil produziu 113.000 toneladas, Tanzânia produziu aproximadamente 37 mil toneladas, Quênia produziu 27.600 toneladas, 10.500 toneladas Venezuela e 9.000 toneladas foram produzidas em Madagascar. China contribuiu 40.000 toneladas com pequenas quantidades provenientes da África do Sul, Moçambique, Haiti e Cuba (SHARMA; VARSHNEY, 2012).

A *A. sisalana* está sendo bastante utilizada, também, devido seus metabólitos secundários. A hecogenina é um precursor de vários esteróides farmacologicamente ativos e pode ser facilmente obtida através da hidrólise ácida ou enzimática do suco das folhas da planta (PEANA et al., 1997 *apud* DOMINGUES, 2008). Corresponde ao principal composto presente nas folhas da planta jovem e adulta, embora a neotigogenina e tigogenina também possam ser encontradas, sendo esta última identificada apenas em folhas jovens. Na inflorescência foram isoladas a gitogenina e em menor quantidade a tigogenina, a qual é predominante nos bulbos (BLUNDEN et al., 1974 & DAWIDAR; FAYEZ, 1961 *apud* DOMINGUES, 2008).

Outro metabólito de interesse é a inulina, polissacarídeo de armazenamento de origem vegetal, com uma grande variedade de aplicações nas indústrias alimentícias e farmacêuticas. É um substituto para o açúcar ou gordura possuindo um valor calórico muito baixo. Entre outras aplicações farmacêuticas possíveis estão a sua utilização na produção de medicamento de liberação colón específica. Também é largamente utilizada na produção de alimentos funcionais (BARCLAY et al., 2010 *apud* APOLINÁRIO et al., 2014).

Visto ser, a *A. sisalana* um promissor agente farmacológico, diante de sua riqueza em metabólitos secundários importantes para a indústria farmacêutica e alimentícia, torna-se indispensável um estudo que considere caracterizá-la quanto à qualidade dos produtos vegetais dela derivados.

Ensaio para averiguar os parâmetros físico-químicos e quantificação de substâncias presentes são de suma importância e indispensáveis para avaliar a qualidade dos produtos, sejam estes, acabados ou matérias-primas, pois estes necessitam de estudos que garantam sua qualidade e assegurem seu uso pela população e pelas indústrias. Existem compêndios que descrevem técnicas validadas de como proceder tais ensaios.

No Brasil, o compêndio oficial é a Farmacopéia Brasileira, onde são descritos ensaios físico-químicos como: pH, perda por dessecação, teor de cinzas, granulometria, densidade, análises térmicas entre outros. A caracterização de produtos finalizados e/ou matérias-primas através de tais ensaios oferece subsídios para a realização do controle de qualidade. Pois cada produto possuirá, assim, parâmetros de referência que traduzam seu estado de qualidade.

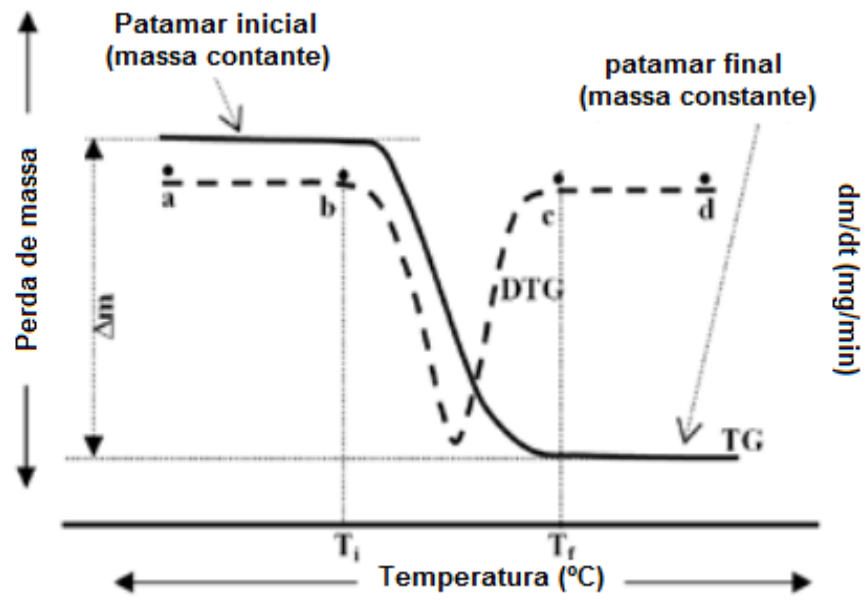
Tais parâmetros oferecem especificações que embasam informações quanto a armazenamento (temperatura, local, ambiente), data de validade, excipientes compatíveis, composição, técnica de preparo. Tudo isto evidencia a importância do estudo destes aspectos em drogas vegetais, para melhor aproveitamento e utilização.

Dos ensaios farmacopéicos realizados neste trabalho destaca-se a termogravimetria, técnica de análise térmica em que a variação de massa da amostra é determinada como uma função da temperatura, ou tempo de aquecimento, utilizando um programa controlado de temperatura (FARMACOPÉIA BRASILEIRA, 2010).

A determinação da variação da massa para uma substância em determinados intervalos de temperatura pode ser utilizada para avaliação da estabilidade térmica da amostra, a composição e estabilidade dos compostos intermediários e produto final, comportamento térmico, determinação do teor de umidade e/ou solventes, determinação da temperatura de ebulição e sublimação, determinação da temperatura de decomposição térmica e determinação do teor de cinzas (ALVES, 2007; FARMACOPÉIA BRASILEIRA, 2010).

Ao finalizar o processo térmico registra-se: i) a curva termogravimétrica (TG) marcando a temperatura no eixo das abscissas (valores crescentes da esquerda para a direita) e a massa percentual da amostra no eixo das ordenadas (valores crescentes de baixo para cima); ii) a curva termogravimétrica derivada (DTG), derivada primeira da curva TG, que possibilita definir melhor onde se iniciou e finalizou a perda de massa. Determina-se no gráfico a distância entre os patamares inicial e final da curva massa-temperatura, distância que representa a perda de massa da amostra no dado intervalo de temperatura (FARMACOPÉIA BRASILEIRA, 2010). Exemplo de curva TG e DTG na figura 2.

Figura 2 - Exemplo de curva termogravimétrica e suas medidas.



FONTE: FARMACOPÉIA BRASILEIRA, 2010, p.147.

3 METODOLOGIA

3.1 Obtenção dos Produtos Vegetais

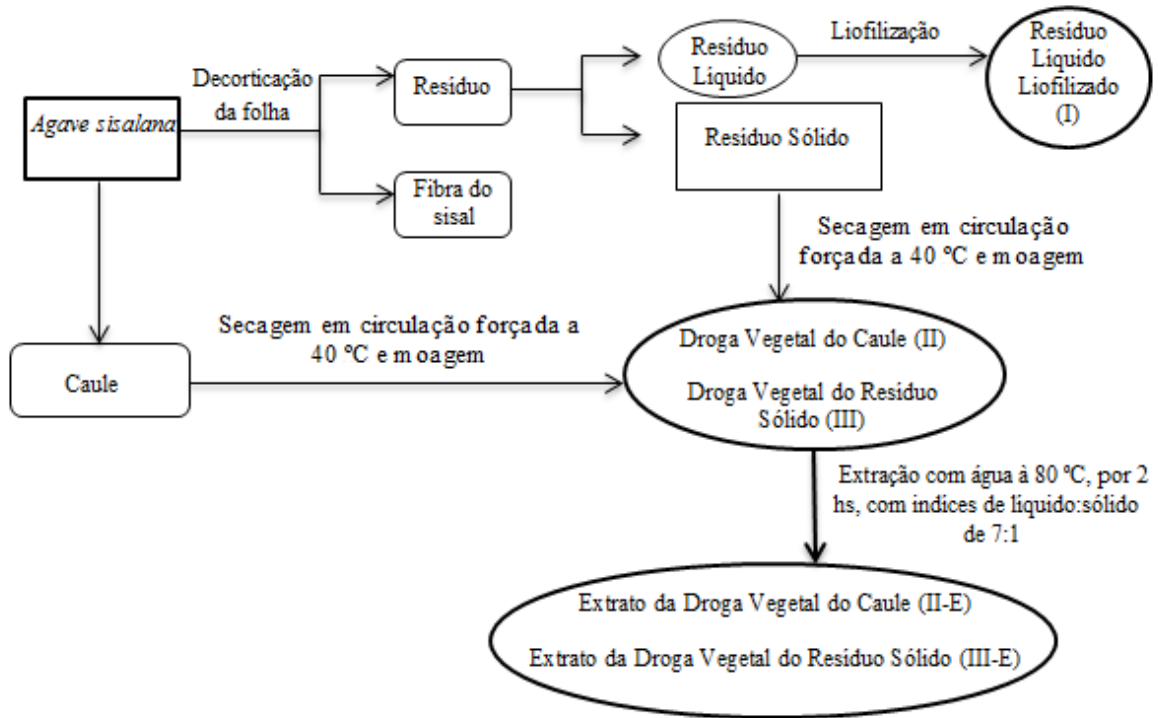
A *A. sisalana* foi coletada no banco de germoplasma de uma fazenda experimental de pesquisa - unidade da Embrapa (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária), em Monteiro-PB, Brasil (7°52'40.50" S e 37°07'34.91" W) em janeiro de 2012. Uma exsicata foi depositada no Herbário "Manoel de Arruda Câmara", da Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande-PB, Brasil, sob o número 210.

O resíduo sólido, utilizado neste estudo, foi coletado diretamente de uma máquina de decorticação a partir do processamento de folhas de plantas com seis anos de idade. O resíduo líquido foi obtido a partir da prensa pelas mãos do resíduo sólido, uma porção do resíduo líquido resultante foi submetida à liofilização, originando o Resíduo Líquido Liofilizado (I). O resíduo sólido e o caule foram secos num forno de circulação forçada, a 40 °C até peso constante, resultando em Droga Vegetal do Caule (II) e Droga Vegetal do Resíduo Sólido (III).

Estes foram extraídos com água destilada por maceração dinâmica a 80 °C durante 2 horas, com índices de líquido:sólido de 7:1, depois da extração, as amostras foram filtradas com papel filtro. O resíduo foi ressuscitado em água e reextraído e o filtrado foi refiltrado com algodão, obtendo-se assim os extratos líquidos: Extrato da Droga Vegetal do Caule (II-E) e Extrato da Droga Vegetal do Resíduo Sólido (III-E).

A figura 3 mostra os passos seguidos para obtenção de todos os produtos vegetais a partir da *A. sisalana*.

Figura 3- Esquema de obtenção dos produtos vegetais a partir da *A. sisalana*.



FONTE: Autor.

As drogas vegetais de resíduo sólido e de caule foram armazenadas em sacos de polietileno fechados, numa estufa à temperatura ambiente; o resíduo líquido e os extratos, em frascos âmbar a -60 °C; e o resíduo líquido liofilizado, em sacos de polietileno vedados a 4 °C. O tempo de armazenamento das amostras após o processamento foi cerca de dois meses até ao final de todas as análises.

3.2 Análises Físico-Químicas

As análises físico-químicas seguiram os procedimentos da FARMACOPÉIA BRASILEIRA (2010) para todos os parâmetros, com exceção do teor de extrativos, que determina a quantidade de substâncias extraíveis e seguiu a metodologia determinada por MICHELIN et al. (2010) e do teor de sólidos solúveis.

As amostras I foram sujeitas a determinações de: pH e teor de sólidos solúveis (refratômetro, utilizando água para a calibração), após diluição com água a um décimo das suas concentrações originais; densidade (proveta); perda por dessecação (método gravimétrico), teor de cinzas.

Nas amostras II e III foram realizados: pH, granulometria, densidade (picnômetro), perda por dessecação, teor de cinzas e de extrativos.

II-E e III-E foram submetidas a determinações de pH diretamente nos extratos, densidade e teor de sólidos solúveis.

3.3 Varredura Espectrofotométrica

As amostras diluídas de I ($0,5 \text{ mg.mL}^{-1}$), II-E ($25 \text{ }\mu\text{L.mL}^{-1}$) e III-E ($10 \text{ }\mu\text{L.mL}^{-1}$) foram submetidos à varredura espectrofotométrica na faixa de comprimento de onda de 200-800 nm por um UV-Vis, modelo UV-mini-1240 (Shimadzu, Kyoto, Japão), cubetas de quartzo com 1,0 cm de caminho ótico e água como branco.

3.4 Análise Térmica

A análise termogravimétrica (TGA) de I, II e III foi realizada através do equipamento STA 1500, TA Instruments, New Castle, DE, EUA, em amostras com massa de $5,0 \pm 0,05$ mg. Experimentos foram realizados a temperatura crescente no intervalo de temperatura de 25 - 900 °C, a uma taxa de aquecimento de $10 \text{ }^\circ\text{C.min}^{-1}$ em ar sintético e sob um fluxo de azoto de 50 mL.min^{-1} , respectivamente. O aparelho foi calibrado com mono-hidrato de oxalato de cálcio.

3.5 Quantificação de Açúcares Totais e Livres, Fenóis Totais e Flavonóides

O total de carboidratos foi determinado pelo método do fenol-ácido sulfúrico (DUBOIS et al., 1956) utilizando sacarose como padrão. Açúcares livres redutores foram determinados usando ácido 3,5-dinitrossalicílico como reagente e glicose como padrão (MILLER, 1959). O conteúdo total de compostos fenólicos das amostras foi determinado usando o reagente de Folin-Ciocalteu e ácido gálico monohidratado como padrão (SAHA et al., 2013). O total de flavonóides foi determinado por meio da formação de um complexo de flavonóides-alumínio (MBAEBIE et al., 2012) usando a quercetina como padrão. Todos os reagentes foram adquiridos da Sigma-Aldrich (São Paulo, Brasil).

3.6 Análises Estatísticas

Todas as análises foram realizadas em triplicata e os resultados expressos como média \pm desvio padrão (SD). A comparação estatística dos dados foi realizada através da análise de variância (ANOVA) e teste de Tukey utilizando o software Origin[®] Pro 8.0 (OriginLab, Northampton, MA, EUA), e valores de $p < 0,05$ foram considerados como estatisticamente significativos.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Caracterização dos Materiais

Três diferentes materiais de *A. sisalana* foram analisados neste estudo, isto é, o resíduo líquido (I), obtido diretamente do resíduo sólido separado por compressão manual e liofilizado; o caule (II) e o resíduo sólido da folha (III). Como mostrado na Tabela 1, as drogas vegetais II e III têm significativas diferenças entre os parâmetros físico-químicos, para os quais a farmacopéia recorda diferentes aplicações possíveis.

Tabela 1 - Parâmetros de qualidade físico-químicas das drogas vegetais do caule (II) e do resíduo sólido da folha (III) do *A. sisalana*.

Droga Vegetal	Perda por dessecação (%)	Teor de cinzas (%)	Teor de extrativos em água (%)	pH	Densidade (g.mL⁻¹)
II	4.3 ± 0.1	6.4 ± 0.12	79.3 ± 18.5	5.8 ± 0.1	0.43 ± 0.01
III	6.4 ± 0.1	16.4 ± 0.7	31.5 ± 9.1	9.0 ± 0.1	0.55 ± 0.03

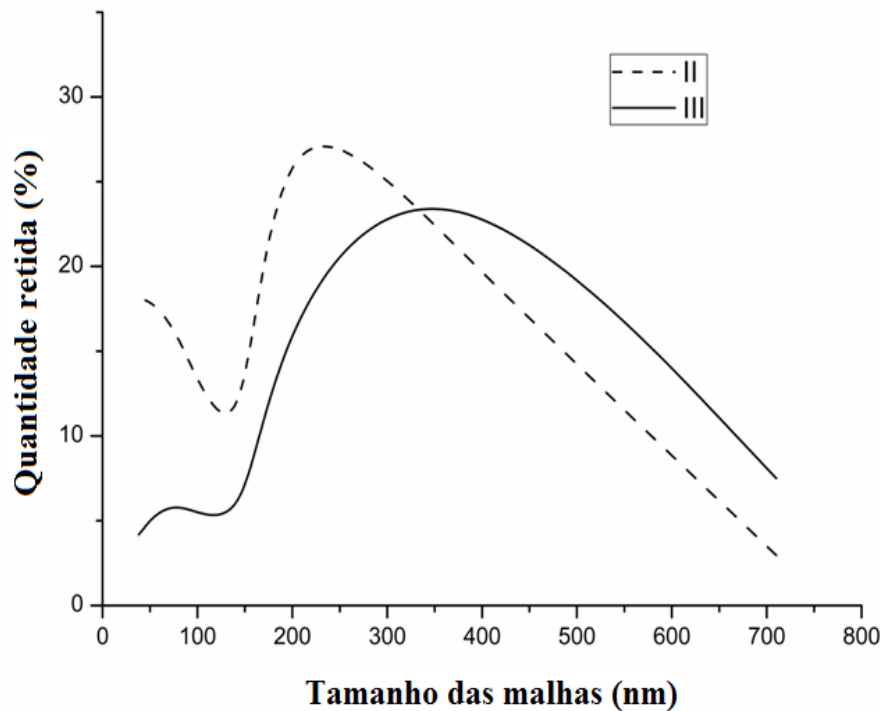
p < 0.05 para todos os valores. FONTE: Dados da pesquisa.

A determinação da perda de água na secagem destaca um percentual aceitável de umidade, de acordo com as normas de qualidade para produtos vegetais, o que limita a 14% o valor máximo aceitável em drogas vegetais (DA COSTA et al., 2013). O maior valor de perda na folha (6,4 ± 0,1%) em relação ao caule (4,3 ± 0,1%), pode ter sido devido o metabolismo e o crescimento que é mais rápido na folha.

O teor de cinzas das duas drogas vegetais foi maior do que o limite permitido pela Farmacopéia Brasileira (5%), provavelmente devido à presença de impurezas em III provenientes de desfibração (LIMA et al. De 2013).

A distribuição da granulometria, ilustrada na figura 4, evidencia o maior tamanho da partícula III do que para II.

Figura 4 - Distribuição granulométrica dos materiais vegetais II e III de *A. sisalana*.



FONTE: Dados da pesquisa. LEGENDA: II- Droga Vegetal do Caule e III- Droga Vegetal do Resíduo Sólido.

O maior teor de extrativos no extrato aquoso do caule (II-E), em comparação com a dos resíduos da folha (III-E) pode ser explicado pelo elevado nível de carboidratos solúveis em água nos troncos de todas as espécies de agave (ARRIZON et al., 2010), o que está de acordo com os seus valores mais elevados de resíduo seco e teor de sólidos solúveis (Tabela 2).

Tabela 2 - Parâmetros de qualidade físico-química dos extratos aquosos do caule (II-E) e de resíduos sólidos da folha (III -E) de *A. sisalana*.

Extrato de droga vegetal	Volume (mL)	Resíduo seco (%)	pH	Densidade (g.mL ⁻¹)	Teor de sólidos solúveis (°Brix)
II-E	268.0	6.1 ± 0.4	5.0 ± 0.3	1.01 ± 0.01	5.5 ± 0.6
III-E	206.5	2.5 ± 0.2	8.8 ± 0.1	1.00 ± 0.01	2.3 ± 0.5

p < 0.05 para todos os valores, exceto para densidade (p = 0.222). FONTE: Dados da pesquisa.

Alguns parâmetros de qualidade físico-química foram também investigados para o resíduo líquido liofilizado (I), em forma de pó e no extrato aquoso, cujos resultados são apresentados na Tabela 3.

Tabela 3 - Parâmetros de qualidade físico-química do resíduo líquido liofilizado (I) de *A. sisalana*.

Perda por dessecação (%)	pH 10 % (m/v)	Densidade (g.mL⁻¹)	Teor de sólidos solúveis 10 % (m/v)
10.73 ± 0.29	5.11 ± 0.01	0.57 ± 0.03	9.83 ± 0.23

FONTE: Dados da pesquisa.

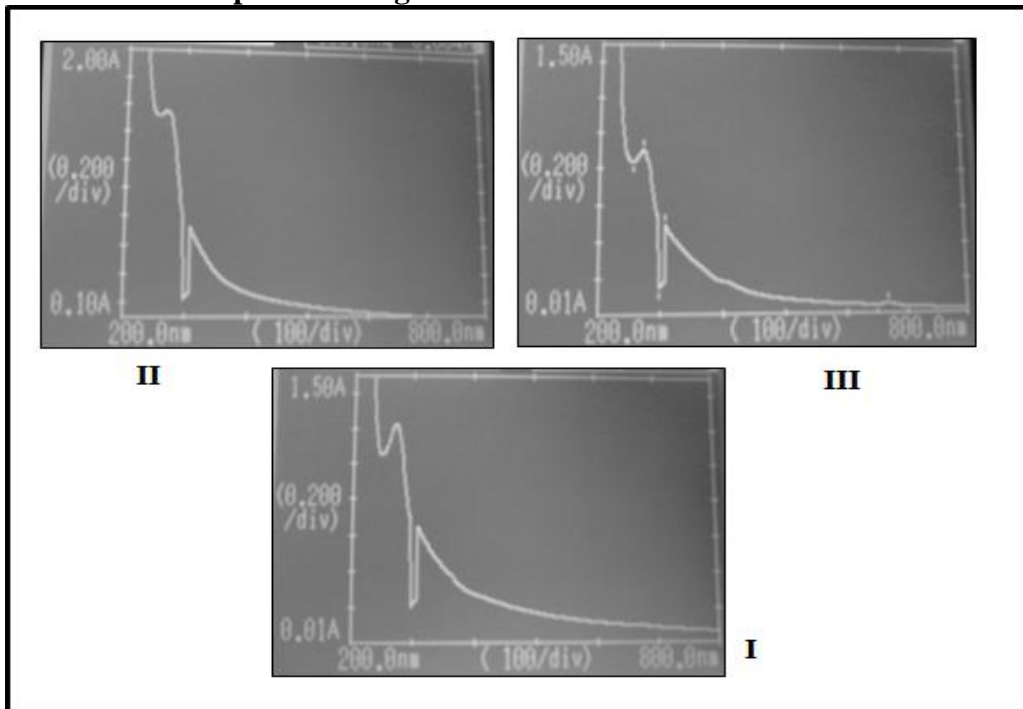
Estes resultados destacam significativamente diferentes composições entre os extratos acima, com particular preocupação para pH e teor de sólidos solúveis. Embora III-E e I tenham sido obtidos por decorticação de folhas, estas diferenças podem ser explicadas pelo fato de que o processo de compressão manual para obter o resíduo líquido pode ter arrastado componentes solúveis em água para o processo de liofilização, usado para concentrar esses compostos.

4.2 Varredura Espectrofotométrica

Os três produtos (I, II e III), exibiram uma absorção máxima na região de UV, as duas principais bandas entre 200-300 nm. Considerando III e I tiveram perfis semelhantes, para III apresentaram em 669 nm (0,065), 307 nm (0,490) e 271 nm (0,901) e para I em 671 nm (0,112), 307 nm (0,652) e 271 nm (1,221), a absorção máxima de II ocorreu em 307 nm (0,282) e 269 nm (0,759). Figura 5.

A alta absorção por volta de 270 nm pode ser atribuída, em todos os casos, a transição π - π de anéis aromáticos presentes em alguns aminoácidos, como triptófano e fenilalanina, e em compostos fenólicos (MEZZOMO et al., 2011), enquanto que em 307 nm, pode ser atribuída a carboidratos e em 670 nm, à clorofila que é ausente no caule (SUBRAMONIAM et al., 2012).

Figura 5 - Fotografia dos gráficos gerados no espectrofotômetro pela varredura espectrofotométrica dos produtos vegetais da *A. sisalana*.

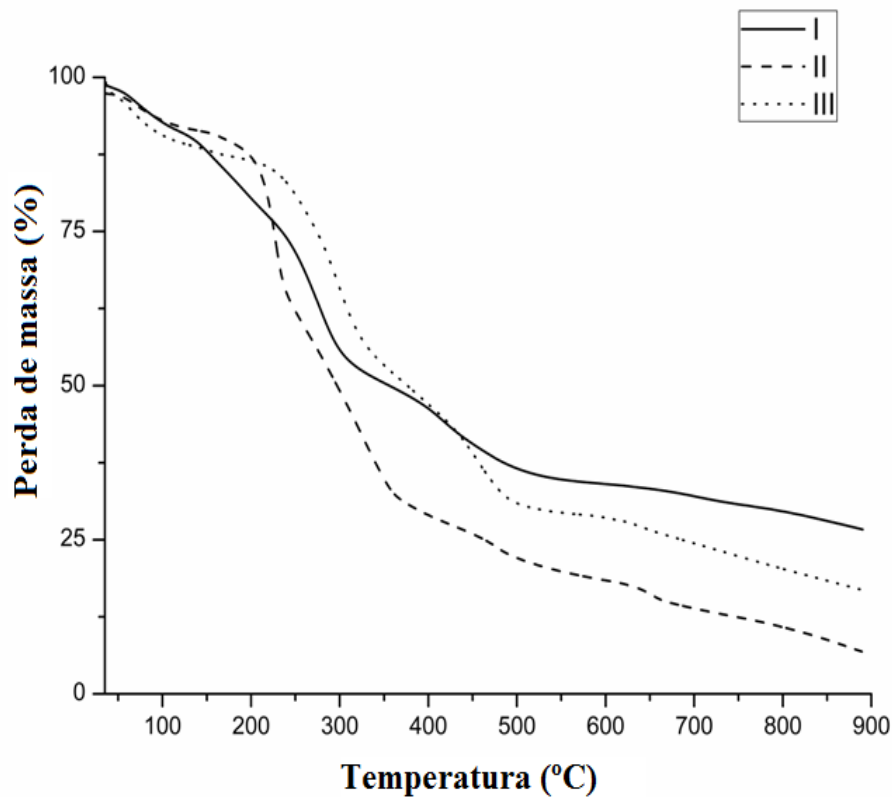


FONTE: Autor. LEGENDA: I- Resíduo Líquido Liofilizado; II- Droga Vegetal do Caule e III- Droga Vegetal do Resíduo Sólido.

4.3 Análise Térmica

A análise termogravimétrica (TGA) é rotineiramente empregada para estudar as alterações físico-químicas em vários produtos, incluindo drogas vegetais, bem como pré-formulações ou compatibilidade dos excipientes (CHOUDHARY; SEKHON, 2011). O conhecimento da cinética de decomposição térmica de drogas vegetais ou biomassa é essencial para o projeto eficiente de processos termoquímicos para a conversão desses materiais em produtos e energia (DAMARTZIS et al., 2011). Os termogramas de TGA de I, II e III encontram-se ilustrados na figura 6.

Figura 6 - Curva termogravimétrica das drogas vegetais de *A. sisalana*.



FONTE: Dados da pesquisa. LEGENDA: I- Resíduo Líquido Liofilizado; II- Droga Vegetal do Caule e III- Droga Vegetal do Resíduo Sólido.

Os processos de decomposição envolvem diversos eventos de perda de massa. A primeira etapa de decomposição ocorreu no intervalo de temperatura de 36-100 °C, devido aos compostos voláteis, principalmente água, após uma remoção inicial de umidade de 7,2 % a 95,78 °C, de 6,0 % a 100,38 °C e 10,6 % de 98,03 °C de I, II e III, respectivamente. Como sugerido por DA COSTA et al. (2013), as diferenças entre as análises térmicas e métodos gravimétricos pode ser devido à velocidade de aquecimento aplicados para obter as curvas TGA, enquanto que o método gravimétrico é um passo isotérmico.

II mostrou um segundo evento que implicou uma perda de massa de 29,3 % na faixa de decomposição térmica entre 213 e 236 °C. A maior perda de massa durante o segundo caso foi o de III (35,4 %), entre 257 e 322 °C e corresponde à decomposição térmica de carboidratos, enquanto que o de I (28,2 %) no intervalo de temperatura inferior (250 - 302 °C). Como sugerido por ESPINOSA-ANDREWS; URIAS (2012), a perda de massa associada com a decomposição térmica de cerca de 200 °C pode, de fato, ser atribuída à decomposição de frutanos de cadeia ramificada que são abundantes em todas as espécies de agave.

No que diz respeito a II, a sua decomposição principal correspondente ao terceiro acontecimento, que provocou uma perda de 32,9 % e ocorreu entre 297 e 360 °C, esta perda pode ser atribuída a quebra das estruturas alifáticas de alguns polissacarídeos; enquanto o quarto, entre 462 e 498 °C (perda de massa de 7,6 %), à degradação térmica da estrutura aromática e mais estável da lignina. Finalmente, o quinto evento, ocorrido entre 639 e 668 °C (perda de massa de 6,9 %), pode ser atribuído à degradação de resíduo rico em carbono à cinzas (CARBALLO et al., 2008) que constitui nada menos do que 6,8 % do total de massa. Analisando todos os resultados obtidos a partir da TG, corresponde aos resultados de ARAGÃO et al., (2002), que observou um teor tão elevado de açúcar em *Cissampelos sympodialis* Eichl. que o comportamento térmico de todo o material da planta seguia o da fração de polissacarídeo principal.

Por outro lado, I e III mostraram um terceiro evento nos intervalos de temperatura de 397-486 °C e 434-486 °C, que implicava em 15,6 e 16,6 % de perdas de massa, respectivamente, indicando, assim, a remoção dos produtos gasosos. O resíduo mineral de III na sequência do quarto evento (17,0 %) foi substancialmente mais elevado do que o, anteriormente mencionado para II (6,8 %), e que de I (26,7 %), ainda mais, portanto, sugerindo que o processo de decorticação e a prensa manual pode ter arrastado impurezas adicionais para o resíduo líquido que não foi filtrado antes da liofilização. As perdas de massa menores em I e III em comparação com II demonstram que o caule tem maior estabilidade térmica que os resíduos líquidos e sólidos.

4.4 Açúcares Totais e Livres, Fenóis Totais e Flavonóides

De acordo com as quantificações, I, II-E e III-E exibiram diferentes teores de açúcares totais e livres, fenóis totais e flavonóides (Tabela 4). Em particular, I apresentou os maiores teores de todos estes metabólitos provavelmente porque, como mencionado anteriormente, a prensa manual adotada para obtê-lo arrastou a maioria dos compostos presentes no resíduo sólido (III). Portanto, resíduo sólido e resíduo líquido da *A. sisalana* tinham diferentes composições quantitativas.

Tabela 4 - Quantificação de açúcares totais e livres, fenólicos totais e flavonóides de resíduos líquidos (I), extratos aquosos do caule (II-E) e resíduos sólidos da folha (III-E) de *A. sisalana*.

Amostra	Açúcares totais (mg.g ⁻¹)	Açúcares livres (mg.g ⁻¹)	Fenóis totais (mg.g ⁻¹)	Flavonóides (mg.g ⁻¹)
I	451.44 ^a ± 32.65	103.39 ^a ± 12.16	58.11 ^a ± 0.41	5.99 ^a ± 0.51
II-E	347.65 ^b ± 47.36	27.63 ^b ± 0.77	2.23 ^b ± 0.10	0.48 ^b ± 0.02
III-E	28.12 ^c ± 0.68	8.13 ^c ± 0.87	8.31 ^c ± 0.26	4.55 ^c ± 0.19

p < 0.05 para todos os valores. Médias na mesma coluna seguidas por letras diferentes são estatisticamente diferentes.

Observou-se também que caules são fontes de carboidratos como ocorre em outras espécies de agave (ARRIZON et al., 2010). Este conteúdo de açúcares está dentro da faixa encontrada em outras espécies que são consideradas com potencial para a indústria alimentar e farmacêutica, de acordo com VIDANARACHCHI et al. (2009), compostos prebióticos solúveis em água foram isolados de quatro espécies (*Arthropodium cirratum*, *Cordyline australis*, *Undaria pinnatifida* e *Acacia pycnantha*) com valores de açúcares totais entre 250-794 mg.g⁻¹ de matéria seca. Para outras espécies já utilizadas como fontes de polissacarídeos como *Agave tequilana*, valores mais altos foram encontrados, cerca de 867 mg.g⁻¹ (WALECKX et al., 2008). No entanto, considerando que, depois da decorticação das folhas de *A. sisalana* 95% são normalmente descartados, as quantificações apontaram para uma nova aplicação e utilização de outras partes da planta, como caules e resíduos.

5 CONCLUSÕES

Resíduo líquido, resíduos sólido de folhas e de caule de *A. sisalana*, mostraram diferenças relevantes em seus parâmetros físico-químicos, juntamente com comportamentos espectrais e térmicos. Além disso, quantificações espectrofotométricas demonstraram diferenças quantitativas na composição do resíduo sólido e do resíduo líquido.

Observaram-se grandes quantidades de açúcares, fenóis e flavonóides no resíduo líquido e quantidade significativa de açúcares totais no caule, partes da planta que são descartados após o processamento e que tem grande potencial como matéria-prima vegetal.

Os resultados sugerem novas aplicações desta espécie para a produção de fitoterápicos, com especial preocupação para os resíduos líquidos que exibiram os maiores teores de açúcares totais e livres, fenóis totais e flavonóides.

PHYSICOCHEMICAL QUALITY PARAMETERS OF HERBAL PRODUCTS FROM *AGAVE SISALANA*

NASCIMENTO, Morgana Lopes do¹; SILVA, José Alessandro da²

ABSTRACT

The *Agave sisalana* Perrine, popularly known as sisal, belonging to the family Agavaceae is a monocot plant of Mexico. Is well adapted to semi-arid region of Northeast Brazil, which is currently the largest producer of sisal fiber in the world. Just 5% of all the cut leaf products of *A. sisalana*, which is made up of a firm fiber, is used; meanwhile the other 95%, constituted by solid residues (bagasse) and liquid residues (juice) is normally discarded. Studies have shown potential *A. sisalana* products in different pharmaceutical applications. Since the quality or herbal raw material is essential to achieve the desired specifications for intermediate and final products, the aim of this study was to analyze the parameters of the physical-chemical qualities of the plant product of *A. sisalana*, herbal drugs and extracts of stem and solid waste and liquid, collected in Monteiro, Paraíba – PB. In order to achieve this, pharmacopeia methods of physical-chemical analysis such as pH, loss on drying, density, ash content, particle size and thermal analysis were used; some measurements were made with previously validated methods such as total phenols, total and free sugars and flavonoids. A large amount of sugars such as phenols and flavonoids were observed in the waste liquid, part of the 95% that are discarded after the process of decortication and has great potential as herbal raw material, suggesting new applications of this species for the production of new herbal products.

Keywords: *Agave sisalana*, decortication, herbal drug, liquid waste, thermal analysis.

REFERÊNCIAS

- ALVES, R. **Estudo termoanalítico e de compatibilidade fármaco-excipiente de rifampicina e alguns medicamentos utilizados na terapêutica da tuberculose.** Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo. 2007.
- APOLINÁRIO, A. C. et al. Inulin-type fructans: A review on different aspects of biochemical and pharmaceutical technology. **Carbohydrate polymers**, v. 101, p. 368-378, 2014.
- ARAGÃO, C. F. S. et al. Aplicação da termogravimetria (TG) no controle de qualidade da milona (*Cissampelos sympodialis* Eichl.) Menispermaceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 12, p. 60-61, 2002.
- ARRIZON, J. et al. Comparison of the water-soluble carbohydrate composition and fructan structures of *Agave tequilana* plants of different ages. **Food chemistry**, v. 122, n. 1, p. 123-130, 2010.
- BRASIL. Farmacopéia Brasileira. 5ª ed. Brasília: Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2010. 546 p.
- BROWN, Karen. *Agave sisalana* Perrine. **Wildlands weeks**, p. 18-21, 2002.
- CARBALLO, T. et al. Characterization of different compost extracts using Fourier-transform infrared spectroscopy (FTIR) and thermal analysis. **Biodegradation**, v. 19, n. 6, p. 815-830, 2008.
- CHOUDHARY, N.; SEKHON, B. S. An overview of advances in the standardization of herbal drugs. **J Pharm Educ Res**, v. 2, n. 2, p. 55-70, 2011.
- COLUNGA-GARCÍAMARÍN, P.; EGUIARTE, L. E.; ZIZUMBO-VILLARREAL, D. **En lo ancestral hay futuro: del tequila, los mezcales.** 1º. ed. Mérida, Yucatán, México: CONACYT, 2007. p. 1-395
- DA COSTA, R. S. et al. Investigation of thermal behavior of *Heliotropium indicum* L. lyophilized extract by TG and DSC. **Journal of thermal analysis and calorimetry**, v. 111, n. 3, p. 1959-1964, 2013.
- DAMARTZIS, T. et al. Thermal degradation studies and kinetic modeling of cardoon (*Cynara cardunculus*) pyrolysis using thermogravimetric analysis (TGA). **Bioresource technology**, v. 102, n. 10, p. 6230-6238, 2011.
- DUBOIS, M. et al. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. **Analytical chemistry**, v. 28, n. 3, p. 350-356, 1956.
- DOMINGUES, L. F. **Avaliação da atividade anti-helmíntica do resíduo líquido de *Agave sisalana* Perrine (sisal) em caprinos.** Dissertação (Mestrado em Ciência Animal nos Trópicos) – Universidade Federal da Bahia. Departamento de Patologia e Clínicas, 2008.

ESCAMILLA-TREVIÑO, L. L. Potential of Plants from the Genus *Agave* as Bioenergy Crops. **BioEnergy Research**, v. 5, n. 1, p. 1–9, 14 out. 2011.

ESPINOSA-ANDREWS, H.; URIAS-SILVAS, J. E. Thermal properties of agave fructans (*Agave tequilana* Weber var. Azul). **Carbohydrate Polymers**, v. 87, n. 4, p. 2671-2676, 2012.

LIMA, C. S. S. et al. Characterization of acid hydrolysis of sisal. **Applied Energy**, v. 102, p. 254-259, 2013.

MBAEBIE, B. O.; EDEOGA, H. O.; AFOLAYAN, A. J. Phytochemical analysis and antioxidants activities of aqueous stem bark extract of *Schotia latifolia* Jacq. **Asian Pacific journal of tropical biomedicine**, v. 2, n. 2, p. 118-124, 2012.

MENDES, T. P. et al. A new steroidal saponin from *Agave attenuata*. **Natural product research**, v. 18, n. 2, p. 183-188, 2004.

MEZZOMO, N. et al. Pink shrimp (*P. brasiliensis* and *P. paulensis*) residue: Influence of extraction method on carotenoid concentration. **Talanta**, v. 85, n. 3, p. 1383-1391, 2011.

MICHELIN, D. C. et al. Controle de qualidade da raiz de *Operculina macrocarpa* (Linn) Urb., Convolvulaceae. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 20, n. 1, p. 18-22, 2010.

MILLER, G. L. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. **Analytical chemistry**, v. 31, n. 3, p. 426-428, 1959.

PEREIRA DA SILVA, B.; VALENTE, A. P.; PAZ PARENTE, J. A new steroidal saponin from *Agave shrevei*. **Natural product research**, v. 20, n. 04, p. 385-390, 2006.

SAHA, J-B. T. et al. Antioxidant activities, total phenolic contents and chemical compositions of extracts from four Cameroonian woods: Padouk (*Pterocarpus soyauxii* Taubb), tali (*Erythrophleum suaveolens*), moabi (*Baillonella toxisperma*), and movingui (*Distemonanthus benthamianus*). **Industrial Crops and Products**, v. 41, p. 71-77, 2013.

SANTOS, J. D. G. et al. Antimicrobial activity of *Agave sisalana*. **African Journal of Biotechnology**, v. 8, n. 22, 2009.

SHARMA, S; VARSHNEY, V. K. Chemical analysis of *Agave sisalana* juice for its possible utilization. **Acta Chim Pharm Indica**, v. 2, n. 1, p. 60-66, 2012.

SUBRAMONIAM, A. et al. Chlorophyll Revisited: Anti-inflammatory Activities of Chlorophyll a and Inhibition of Expression of TNF- α Gene by the Same. **Inflammation**, v. 35, n. 3, p. 959-966, 2012.

VIDANARACHCHI, J. K. et al. Isolation and characterization of water-soluble prebiotic compounds from Australian and New Zealand plants. **Carbohydrate polymers**, v. 77, n. 3, p. 670-676, 2009.

WALECKX, E. et al. Hydrolysis of fructans from *Agave tequilana* Weber var. azul during the cooking step in a traditional tequila elaboration process. **Food chemistry**, v. 108, n. 1, p. 40-48, 2008.

ZÖLLNER, T; SCHWARZ, M. Herbal Reference Standards: applications, definitions and regulatory requirements. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 23, n. 1, p. 1-21, 2013.

APÊNDICE A - Artigo publicado

Physico-chemical quality parameters of herbal products from *Agave sisalana*

Alexsandra Conceição Apolinário^a, Morgana Lopes do Nascimento^b, Juliana Patrícia de Luna Vieira^a, Camila de Oliveira Melo^b, Felipe Fernandes Santos^b, Bolívar Ponciano Goulart de Lima Damasceno^{a,b}, Attilio Converti^c, Adalberto Pessoa^d and José Alexsandro da Silva^{a,b,*}

^aGraduation Program in Pharmaceutical Sciences, State University of Paraíba, Rua Juvêncio Arruda, S/N, Bairro Universitário, 58429-600 Campina Grande, Paraíba, Brazil; ^bDepartment of Pharmacy, State University of Paraíba, Campina Grande, Brazil; ^cDepartment of Civil, Chemical and Environmental Engineering, Chemical Engineering Pole, Genoa University, Genoa, Italy; ^dDepartment of Biochemical and Pharmaceutical Technology, University of São Paulo, São Paulo, Brazil

(Received 3 December 2013; final version received 29 April 2014)

Agave sisalana components have great potential in different pharmaceutical applications, but the quality of herbal raw materials is essential to reach the desired product specifications. In this work, we investigated the physico-chemical quality parameters of bole and wastes from decortication of *A. sisalana* leaves. The statistically significant variations among products suggest different pharmaceutical applications for each of them.

Keywords: *Agave sisalana*; decortication; wastes; herbal drug; thermal analysis

1. Introduction

Agave sisalana Perrine, popularly known as sisal, belongs to the Agavaceae family and is a monocotyledonous plant from Mexico. It is well adapted to the semiarid regions of Brazilian Northeast that is currently the largest producer of sisal fibre in the world. However, only 5% of mass resulting from decortication of sisal leaves is exploited to produce a hard fibre that is used for various purposes; the remaining 95% consisting of a solid waste (bagasse) and a liquid waste (juice) are normally discarded by sisal farms (Santos et al. 2009).

Studies demonstrated the potential of *A. sisalana* in pharmaceutical applications because of its anti-inflammatory and antimicrobial activities and revealed that its different parts contain many secondary metabolites, especially steroidal saponins, which are used for the synthesis of corticosteroids (Mendes et al. 2003; Pereira et al. 2006). Moreover, this species may be a source of important carbohydrates for pharmaceutical industry such as inulin-type fructans (Apolinário et al. 2014).

However, additional efforts are needed to characterise different materials that can be harnessed from *A. sisalana*, especially wastes. Safety assessments should be a main concern for pharmaceutical industries and suppliers of botanicals as ingredients, not only for a sense of responsibility to the consumers, but also to guarantee agreement with the rigorous statutory requirements (Zöllner & Schwarz 2013).

Based on this background and taking into account the quality tests recommended for herbal drugs by the Brazilian National Agency for Sanitary Surveillance (ANVISA), this work aimed at

*Corresponding author. Email: alexuepb@yahoo.com.br

Table 1. Physico-chemical quality parameters of herbal drugs from *A. sisalana* bole (II) and solid leaf waste (III).

Herbal drug	Loss on drying (%)	Ash content (%)	Extractives content in water (%)	pH	Density (g mL ⁻¹)
II	4.3 ± 0.1	6.4 ± 0.12	79.3 ± 18.5	5.8 ± 0.1	0.43 ± 0.01
III	6.4 ± 0.1	16.4 ± 0.7	31.5 ± 9.1	9.0 ± 0.1	0.55 ± 0.03

Note: $p < 0.05$ for all values.

analysing and comparing some physico-chemical quality parameters of different herbal products from *A. sisalana*.

2. Results and discussion

2.1. Characterisation of materials

Three different materials from *A. sisalana* were analysed in this study, namely the liquid waste (I) obtained directly from solid waste by a decortication machine, separated by manual squeezing and lyophilised, the bole (II) and the leaf solid waste (III). As shown in Table 1, the herbal drugs II and III have significantly different physico-chemical parameters, for which the pharmacopoeic parameters would point out different possible applications.

Determination of water loss on drying highlighted an acceptable percentage of moisture according to the quality standards for plant materials, which limits to 14% its maximum acceptable value in herbal drugs (Da Costa et al. 2013). The higher value of leaf waste (6.4 ± 0.1%) compared with bole (4.3 ± 0.1%) could have partly been due to the faster leaf metabolism and growth.

The granulometry distribution illustrated in Figure 1 evidenced for III larger particle size than for II. Ash content of the two herbal drugs was higher than the limit allowed by the Brazilian Pharmacopoeia (5%), probably due to the presence of impurities in III coming from defibration (Lima et al. 2013).

The larger content of extractives in the aqueous extract of bole (II-AE) compared with that of leaf waste (III-AE) may be explained by the high level of water-soluble carbohydrates in the

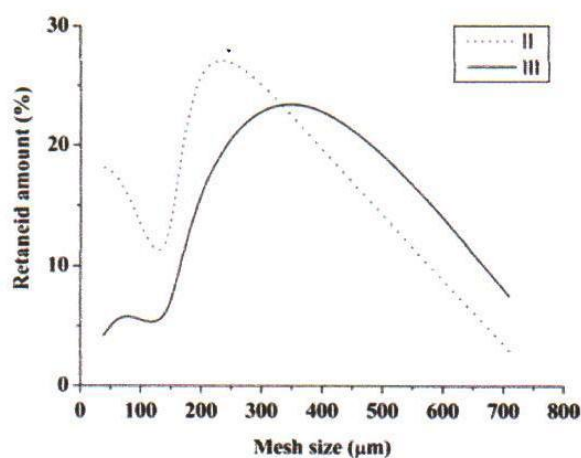


Figure 1. Granulometric distribution of herbal drugs from *A. sisalana*.

Table 2. Physico-chemical quality parameters of aqueous extracts of *A. sisalana* bole (II-AE) and solid leaf waste (III-AE).

Extract of herbal drug	Volume (mL)	Dry residue (%)	pH	Density (g mL ⁻¹)	°Brix
II-AE	268.0	6.1 ± 0.4	5.0 ± 0.3	1.01 ± 0.01	5.5 ± 0.6
III-AE	206.5	2.5 ± 0.2	8.8 ± 0.1	1.00 ± 0.01	2.3 ± 0.5

Note: $p < 0.05$ for all values, except for density ($p = 0.222$).

boles of all *Agave* species (Arrizon et al. 2010), which is in agreement with its higher values of dry residue and °Brix (Table 2).

Some physico-chemical quality parameters were also investigated for I either in powder form or diluted in water; the results are listed in Table 3.

These results highlight significantly different compositions between the above-mentioned extracts, with particular concern to pH and °Brix. Although both were obtained by decortication of leaves, these differences may be explained by the fact that the process of manual squeezing to obtain juice separated from bagasse could have dragged water-soluble components in addition to the lyophilisation process used to concentrate these compounds.

2.2. Spectrophotometric scanning

The three products (I, II and III) exhibited maximum absorption in the UV region, the two main bands lying between 200 and 300 nm. Although III and I had similar profiles, the former showing peaks at 669 nm (0.065), 307 nm (0.490) and 271 nm (0.901) and the latter at 671 nm (0.112), 307 nm (0.652) and 271 nm (1.221), maximum absorption of II occurred at 307 nm (0.282) and 269 nm (0.759). The high absorption around 270 nm can be ascribed in all cases to π - π transition of aromatic rings present either in proteins or phenolic compounds (Mezzomo et al. 2011), while that at 307 nm can be assigned to carbohydrates and that at about 670 nm to chlorophyll that is absent in boles (Subramoniam et al. 2012).

2.3. Thermal analysis

Thermogravimetric analysis (TGA) is routinely employed to study any physico-chemical changes in various products including herbal drugs as well as preformulation or drug excipient compatibility (Choudhary & Sekhon 2011). Knowledge of thermal decomposition kinetics of herbal drugs or biomass is essential for efficiently designing thermochemical processes for the conversion of these materials into products and energy (Damartzis et al. 2011). The TGA thermograms of I, II and III are illustrated in Figure 2.

The decomposition processes involved several events of mass loss. The first decomposition stage, which occurred in the temperature range of 36–100°C, was due to the volatile compounds, mainly water, after an initial moisture removal of 7.2% at 95.78°C, 6.0% at 100.38°C and 10.6% at 98.03°C from I, II and III, respectively. As suggested by Da Costa et al. (2013), the differences

Table 3. Physico-chemical quality parameters of the aqueous liquid lyophilised waste from *A. sisalana*.

Loss on drying (%)	pH 10% (w/v)	Density (g mL ⁻¹)	°Brix 10% (w/v)
10.73 ± 0.29	5.11 ± 0.01	0.57 ± 0.03	9.83 ± 0.23

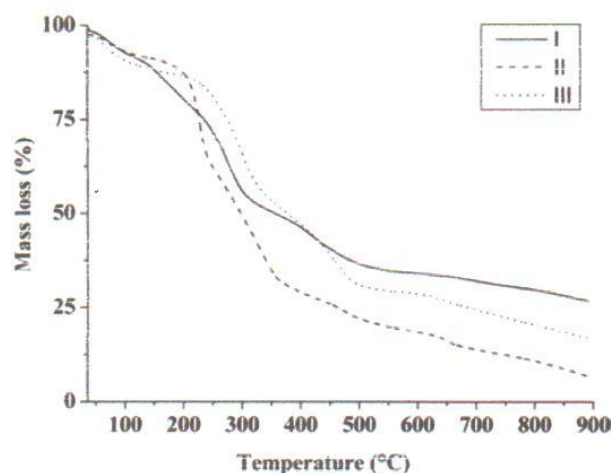


Figure 2. Thermogravimetric curve of herbal drugs of *A. sisalana*.

between thermal analyses and gravimetric methods may be due to the heating rate applied to obtain the TGA curves, whereas the gravimetric technique is an isothermal method.

Product II showed a second event that implied a 29.3% mass loss in the thermal decomposition range between 213 and 236°C. The largest mass loss during the second event was that of III (35.4%), that took place between 257 and 322°C and corresponded to the thermal decomposition of carbohydrates, while the mass loss of I (28.2%) took place at lower temperature range (250–302°C). As suggested by Espinosa-Andrews and Urias-Silvas (2012), mass loss associated with thermal decomposition around 200°C could in fact be ascribed to the decomposition of branched chain fructans that are abundant in all *Agave* species.

As far as II is concerned, its main decomposition, corresponding to the third event that implied a 32.9% loss and occurred between 297 and 360°C, may be assigned to the breaking of aliphatic structures of some polysaccharides, while the fourth event, which took place between 462 and 498°C (7.6% mass loss), to the thermal breakdown of aromatic and more stable structure of lignin. Finally, the fifth event, which occurred between 639 and 668°C (6.9% mass loss), may be ascribed to the decomposition of carbon-rich residue leading to ash (Carballo et al. 2008) that constituted no less than 6.8% of the overall mass. The data obtained from TG taken together match the results of Aragão et al. (2002), who observed a very high sugar content of *Cissampelos sympodialis* Eichl. that the thermal behaviour of the whole plant material followed that of the main polysaccharide fraction.

In addition, I and III showed a third event in the temperature ranges of 397–486°C and 434–486°C that implied 15.6% and 16.6% mass losses, respectively, thereby pointing out the removal of gaseous products. The mineral residue of III following the fourth event (17.0%) was substantially higher than the residue mentioned earlier for II (6.8%), and that of I (26.7%) even more, hence suggesting that the process of leaf decortication and the manual squeeze may have dragged additional impurities to the liquid that was not filtered before lyophilisation. The lower mass losses that occurred for I and III compared with II demonstrate that the boles have higher thermal stability than both liquid and solid wastes.

2.4. Total and free sugars, total phenolics and flavonoids

In agreement with spectrophotometric scanning, I, II-AE and III-AE exhibited different contents of total and free sugars, total phenolics and flavonoids (Table 4). In particular, product I showed the highest contents of all these metabolites probably because, as mentioned earlier, manual

Table 4. Quantification of total and free sugars and total phenolics and flavonoids of liquid waste (I), aqueous extracts of bole (II-AE) and solid leaf waste (III-AE) from *A. sisalana*.

Sample	Total sugars (mg g ⁻¹)	Free sugars (mg g ⁻¹)	Total phenolics (mg g ⁻¹)	Flavonoids (mg g ⁻¹)
I	451.44 ^a ± 32.65	103.39 ^a ± 12.16	58.11 ^a ± 0.41	5.99 ^a ± 0.51
II-AE	347.65 ^b ± 47.36	27.63 ^b ± 0.77	2.23 ^b ± 0.10	0.48 ^b ± 0.02
III-AE	28.12 ^c ± 0.68	8.13 ^c ± 0.87	8.31 ^c ± 0.26	4.55 ^c ± 0.19

Note: Means in the same column followed by different letters were statistically different. ^a*p* < 0.05; ^b*p* < 0.05; ^c*p* < 0.05.

squeezing adopted to obtain it dragged most of the compounds present in the waste. Therefore, bagasse and juice of *A. sisalana* had different quantitative compositions.

It was also observed that boles are sources of carbohydrates as it occurs in other *Agave* species (Arrizon et al. 2010). This content of sugars is within the range found for other species which are considered with potential to food and pharmaceutical industry in accordance with Vidanarachchi et al. (2009), who isolated water-soluble prebiotic compounds and demonstrated values of total sugars between 250 and 794 mg/g dry matter for four species (*Arthropodium cirratum*, *Cordyline australis*, *Undaria pinnatifida* and *Acacia pycnantha*). In others species that are already used as sources of polysaccharides, such as *Agave tequilana*, higher values of about 867 mg/g were found (Waleckx et al. 2008). However, taking into account that after decortication of leaves from *A. sisalana* 95% are normally discarded, the quantifications pointed to a new application and utilisation of others parts of plant such as boles and wastes.

3. Experimental

3.1. Plant materials

A. sisalana was collected in the germplasm bank of an experimental farm by a research unit of Embrapa (Brazilian Agricultural Research Corporation) in Monteiro-PB, Brazil (7°52'40.50"S and 37°07'34.91"W) on January 2013. A voucher specimen has been deposited at the 'Manoel de Arruda Câmara' herbarium of State University of Paraíba, Campina Grande, PB, Brazil, under the number 210. The liquid and solid wastes utilised in this study were collected directly from a decortication machine in a sisal farm processing leaves of 6-year-old sisal plants. One portion of the resulting liquid waste was subjected to lyophilisation. Both the solid waste and boles were dried in a forced circulation oven at 40°C until constant weight to give the corresponding herbal drugs. Dried samples of solid waste and boles were stored in sealed polyethylene bags in an oven at room temperature, the liquid waste in amber bottles at -60°C and the freeze-dried sample of liquid waste in the sealed polyethylene bags at 4°C. The storage time of the samples after processing was about 2 months until the end of all analyses.

Herbal drugs were extracted with distilled water by dynamic maceration to obtain the corresponding liquid extracts. Figure 3 shows the steps followed to obtain all materials (herbal drug and extracts) from *A. sisalana*.

3.2. Characterisation of materials

The procedures of Brazilian Pharmacopoeia (2010) were followed to perform physico-chemical analyses on both II and III, specifically pH, particle size, density, loss on drying, ash content and extractives. Samples of I were subjected to determinations of pH and °Brix, after dilution with water to one-tenth of their original concentrations, grain size, density, loss on drying and ash

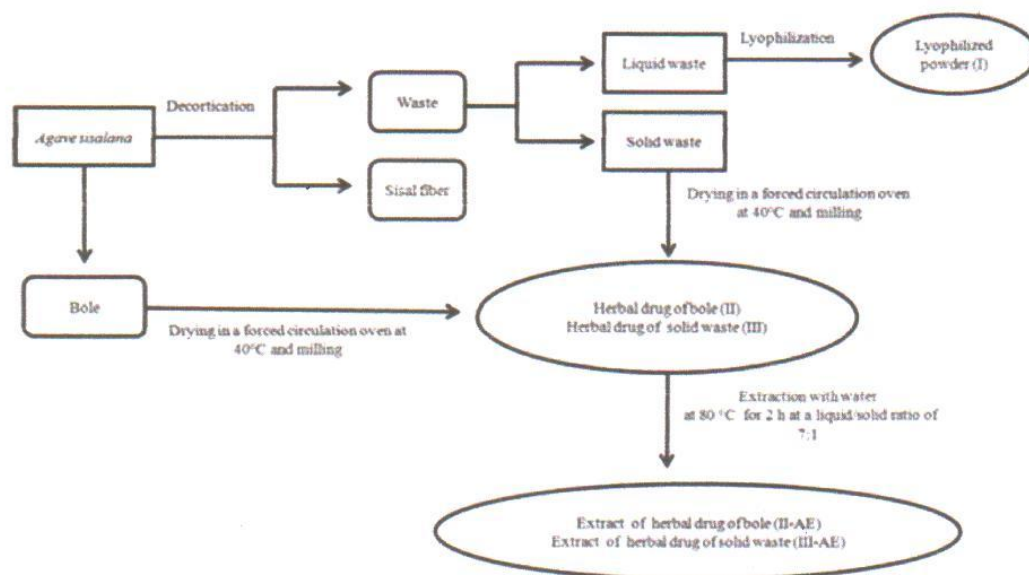


Figure 3. Scheme of achievement of botanic materials.

content. II-AE and III-AE were subjected to determinations of pH directly in the extracts, density by pycnometer and °Brix by refractometer utilising water for calibration.

3.3. Spectrophotometric scanning

Diluted samples of I (0.5 mg mL^{-1}), II-AE ($25 \mu\text{L mL}^{-1}$) and III-AE ($10 \mu\text{L mL}^{-1}$) were subjected to spectrophotometric scanning in the wavelength range of 200–800 nm by using a UV–vis spectrophotometer, model UV-mini-1240 (Shimadzu, Kyoto, Japan), quartz cuvettes with 1.0 cm-path length and water as a blank.

3.4. Thermal analysis

TGA of raw materials (I, II and III) was made by a differential scanning calorimeter, model DSC Q20 (TA Instruments, New Castle, DE, USA), on samples with mass of $5.0 \pm 0.05 \text{ mg}$. Rising temperature experiments were conducted in the temperature range of 25–900°C, at heating rate of $10^\circ\text{C min}^{-1}$ in synthetic air and under nitrogen flow of 50 mL min^{-1} , respectively. The apparatus was calibrated with calcium oxalate monohydrate.

3.5 Quantification of total and free sugars, total phenolics and flavonoids

Total carbohydrates were determined by using the phenol–sulphuric acid method (Dubois et al. 1956) using sucrose as a standard. Free reducing sugars were determined using 3,5-dinitrosalicylic acid as reagent and glucose as a standard (Miller 1959). Total phenolic content of the samples was determined using the Folin–Ciocalteu reagent and gallic acid monohydrate as a standard (Saha et al. 2013). Total flavonoids were determined through the formation of a flavonoid–aluminum complex (Mbaebie et al. 2012) using quercetin as a standard. All reagents were purchased from Sigma-Aldrich (São Paulo, Brazil).

3.6 Statistical analyses

All analyses were performed in triplicate, and the results expressed as mean \pm standard deviation. Statistical comparison of the data was performed by one-way analysis of variance and Tukey's test using the Origin Pro 8.0[®] software (OriginLab, Northampton, MA, USA), and *p*-values < 0.05 were considered statistically significant.

4. Conclusions

A. sisalana liquid waste, bole and leaf solid waste exhibited relevant differences in their physico-chemical parameters along with spectral and thermal behaviours. In addition, spectrophotometric quantifications demonstrated quantitative differences in the composition of *Agave* bagasse and juice. Results suggested new applications of this species for herbal drug production, with special concern to the liquid waste that exhibited the highest contents of total and free sugars, total phenolics and flavonoids.

Acknowledgements

This work was supported by PROCAD, Process no. 552652/2011-3, Development of Processes and Pharmaceuticals and Biotechnological Processes Using the Sustainability Potential of Semi-arid. The authors also acknowledge the Coordination of High-Level Personnel Training (CAPES), linked to the Brazilian Ministry of Education, for financial support of Prof. A. Converti as Special Visiting Researcher (Science without Borders Program, Project no. 2609/2013), the State of São Paulo Research Foundation (FAPESP – Process no. 2013/22212-0), the National Council for Scientific and Technological Development (CNPq) and the Brazilian Agricultural Research Corporation (EMBRAPA).

References

- Apolinário AC, Damasceno BPGL, Beltrão NEM, Pessoa A, Converti A, Silva JA. 2014. Inulin-type fructans: a review on different aspects of biochemical and pharmaceutical technology. *Carbohydr Polym.* 101:368–378.
- Aragão C, Souza F, Barros A, Veras J, Barbosa Filho J, Macedo R. 2002. Aplicação da termogravimetria (TG) no controle de qualidade da milona (*Cissampelos sympodialis* Eichl.) Menispermaceae. *Rev Bras Farmacogn.* 12:60–61.
- Arrizon J, Morel S, Gschaedler A, Monsan P. 2010. Comparison of the water-soluble carbohydrate composition and fructan structures of *Agave tequilana* plants of different ages. *Food Chem.* 122:123–130.
- Brazilian Pharmacopoeia. 2010. Brazil: Brasília-DF. 5th ed. Fiocruz.
- Carballo T, Gil MV, Gómez X, González-Andrés F, Morán A. 2008. Characterization of different compost extracts using Fourier-transform infrared spectroscopy (FTIR) and thermal analysis. *Biodegradation.* 19:815–830.
- Choudhary N, Sekhon BS. 2011. An overview of advances in the standardization of herbal drugs. *J Pharm Edu Res.* 2:55–70.
- Da Costa RS, Negrão CAB, Camelo SRP, Ribeiro-Costa RM, Barbosa WLR, Da Costa CEF, Júnior JOCS. 2013. Investigation of thermal behavior of *Heliotropium indicum* L. lyophilized extract by TG and DSC. *J Therm Anal Calorim.* 111:1959–1964.
- Damartzis T, Vamvuka D, Sfakiotakis S, Zabaniotou A. 2011. Thermal degradation studies and kinetic modeling of cardoon (*Cynara cardunculus*) pyrolysis using thermogravimetric analysis (TGA). *Bioresour Technol.* 102:6230–6238.
- Dubois M, Gilles KA, Hamilton JK, Reberts PT, Smith F. 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Anal Chem.* 28:350–356.
- Espinosa-Andrews H, Urias-Silvas JE. 2012. Thermal properties of agave fructans (*Agave tequilana* Weber var. azul). *Carbohydr Polym.* 87:2671–2676.
- Lima CS, Conceição MM, Silva FL, Lima EE, Conrado LS, Leão DA. 2013. Characterization of acid hydrolysis of sisal. *Appl Energy.* 102:254–259.
- Mbaebie B, Edeoga H, Afolayan A. 2012. Phytochemical analysis and antioxidants activities of aqueous stem bark extract of *Schotia latifolia* Jacq. *Asian Pac J Trop Biomed.* 2:118–124.
- Mendes TP, De Medeiros Silva G, Da Silva BP, Parente JP. 2003. A new steroidal saponin from *Agave attenuata*. *Nat Prod Res.* 18:183–188.

- Mezzomo N, Maestri B, Dos Santos RL, Maraschin M, Ferreira SR. 2011. Pink shrimp (*P. brasiliensis* and *P. paulensis*) residue: influence of extraction method on carotenoid concentration. *Talanta*. 85:1383–1391.
- Miller GL. 1959. Use dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Anal Chem*. 31:426–428.
- Pereira SB, Valente AP, Paz Parente J. 2006. A new steroidal saponin from *Agave shrevei*. *Nat Prod Res*. 20:385–390.
- Saha J-BT, Abia D, Dumarçay S, Ndikontar MK, Gérardin P, Ngamveng Noah J, Perrin D. 2013. Antioxidant activities, total phenolic contents and chemical compositions of extracts from four Cameroonian woods: padouk (*Pterocarpus soyauxii* Taub), tali (*Erythrophleum suaveolens*), moabi (*Baillonella toxisperma*), and movingui (*Distemonanthus benthamianus*). *Ind Crop Prod*. 41:71–77.
- Santos JD, Branco A, Silva AF, Pinheiro CS, Neto AG, Uetanabaro AP, Osuna JT. 2009. Antimicrobial activity of *Agave sisalana*. *Afr J Biotechnol*. 8:6181–6184.
- Subramoniam A, Asha VV, Nair SA, Sasidharan SP, Sureshkumar PK, Rajendran KN, Ramalingam K. 2012. Chlorophyll revisited: anti-inflammatory activities of chlorophyll *a* and inhibition of expression of TNF- α gene by the same. *Inflammation*. 35:959–966.
- Vidanarachchi JK, Iji PA, Mikkelsen LL, Sims I, Choct M. 2009. Isolation and characterization of water-soluble prebiotic compounds from Australian and New Zealand plants. *Carbohydr Polym*. 77:670–676.
- Waleckx E, Gschaedler A, Colonna-Ceccaldi B, Monsan P. 2008. Hydrolysis of fructans from *Agave tequilana* Weber var. azul during the cooking step in a traditional tequila elaboration process. *Food Chem*. 108:40–48.
- Zöllner T, Schwarz M. 2013. Herbal reference standards: applications, definitions and regulatory requirements. *Rev Bras Farmacogn*. 23:1–21.