

Desenvolvimento e avaliação da fotoproteção *in vitro* de formulações cosméticas à base de produtos apícolas

Development and *in vitro* photoprotection evaluation of cosmetic formulations based on bee products

Desarrollo y evaluación de la fotoprotección *in vitro* de formulaciones cosméticas a base de productos apícolas

Graciella Maria Cametin Metz

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2949-6778>

Centro Universitário da Fundação Assis Gurgacz, Brasil

Email: graciellacmetz@gmail.com

Suzana Bender

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8913-1952>

Centro Universitário da Fundação Assis Gurgacz, Brasil

Email: suzanabender@hotmail.com

Resumo

Os produtos apícolas são substâncias naturais produzidas pelas abelhas *Apis mellifera* ricas em compostos bioativos. Dessa forma, desenvolveram-se três formulações cosméticas (A, B e C) utilizando o extrato glicólico de própolis e o pólen fermentado. Nessas formulações, foram avaliadas a estabilidade preliminar e a atividade fotoprotetora frente à radiação ultravioleta em diferentes concentrações. Os testes de estabilidade preliminar seguiram o Guia de Estabilidade de Produtos Cosméticos da ANVISA, e a avaliação da atividade fotoprotetora foi realizada através de método espectrofotométrico. Como resultado, as formulações “A” e “B” mantiveram suas características organolépticas inalteradas, enquanto “C”, alterou sua coloração. No estresse térmico, o produto “A” manteve-se estável após arrefecimento, “B” e “C”, degradaram-se a partir dos 60 °C. No acompanhamento do pH, “A” apresentou menor variação e “B” e “C” variaram 7,99% e 8,16%, respectivamente. As três formulações absorveram nos comprimentos de onda da radiação ultravioleta UVA e UVB. O FPS calculado foi de 8,56 para “A”, 10,10 para “B” e 9,25 para “C” na maior concentração, demonstrando que a fotoproteção é proporcional à mesma, além disso, também foi calculado o FPS da base para avaliar a sua influência no comportamento dos fotoprotetores, resultando em 6,09. Concluiu-se que a formulação B apresentou a melhor proteção frente à radiação ultravioleta, entretanto, novas pesquisas devem ser realizadas para caracterizar os compostos bioativos responsáveis por essa ação, além de estudos de estabilidade e de possíveis interações desse ativo com a base desenvolvida.

Palavras-chave: Protetores Solares, Própolis, Pólen fermentado, Estabilidade de cosméticos.

Abstract

Bee products are natural substances produced by *Apis mellifera* bees that are rich in bioactive compounds. Thus, three cosmetic formulations (A, B and C) were developed using the glycolic extract of propolis and fermented pollen. In these formulations, preliminary stability and photoprotective activity against ultraviolet radiation at different concentrations were evaluated. The preliminary stability tests followed the ANVISA Cosmetic Products Stability Guide, and the evaluation of the photoprotective activity was carried out using a spectrophotometric method. As a result, formulations “A” and “B” kept their organoleptic characteristics unchanged, while “C” changed its color. Under thermal stress, product “A” remained stable after cooling, “B” and “C” degraded from 60 °C onwards. When monitoring the pH, “A” showed less variation and “B” and “C” varied 7.99% and 8.16%, respectively. The three formulations absorbed at the wavelengths of UVA and UVB ultraviolet radiation. The calculated FPS was 8.56 for “A”, 10.10 for “B” and 9.25 for “C” at the highest concentration, demonstrating that the photoprotection is proportional to it, in addition, the FPS of the basis for evaluating its influence on the behavior of sunscreens, resulting in 6.09. It was concluded that formulation B presented the best protection against ultraviolet radiation, however, further research must be carried out to characterize the bioactive compounds responsible for this action, as well as stability studies and possible interactions of this activity with the developed base.

Keywords: Sunscreens, Propolis, Fermented pollen, Cosmetic stability.

Resumen

Los productos apícolas son sustancias naturales producidas por las abejas *Apis mellifera* que son ricas en compuestos bioactivos. Así, se desarrollaron tres formulaciones cosméticas (A, B y C) utilizando el extracto glicólico de propóleo y polen fermentado. En estas formulaciones se evaluó la estabilidad preliminar y la actividad fotoprotectora frente a la radiación ultravioleta a diferentes concentraciones. Las pruebas preliminares de estabilidad siguieron la Guía de Estabilidad de Productos Cosméticos de ANVISA, y la evaluación de la actividad fotoprotectora se llevó a cabo mediante un método espectrofotométrico. Como resultado, las formulaciones "A" y "B" mantuvieron sus características organolépticas sin cambios, mientras que "C" cambió su color. Bajo estrés térmico, el producto "A" permaneció estable después de enfriarse, "B" y "C" se degradaron a partir de 60 ° C. Al monitorear el pH, "A" mostró menor variación y "B" y "C" variaron 7,99% y 8,16%, respectivamente. Las tres formulaciones absorbidas en las longitudes de onda de la radiación ultravioleta UVA y UVB. El FPS calculado fue de 8.56 para "A", 10.10 para "B" y 9.25 para "C" a la concentración más alta, demostrando que la fotoprotección es proporcional a ella, además, el FPS de la base para evaluar su influencia en el comportamiento de protectores solares, lo que resulta en 6.09. Se concluyó que la formulación B presentó la mejor protección frente a la radiación ultravioleta, sin embargo, se deben realizar más investigaciones para caracterizar los compuestos bioactivos responsables de esta acción, así como estudios de estabilidad y posibles interacciones de este activo con la base desarrollada.

Palabras clave: Protectores solares, Propóleo, Polen fermentado, Estabilidad cosmética.

1. Introdução

O desenvolvimento de cosméticos fotoprotetores que garantam proteção física, química e biológica contínua é um desafio para a Indústria, visto que, atender aos requisitos de fator de proteção solar dos órgãos regulamentadores, os filtros solares em sua maioria sintéticos, precisam ser adicionados em altas concentrações, levando ao aumento do risco de reações cutâneas adversas. Somado a isso, a toxicidade atrelada aos filtros solares sintéticos tem se tornado uma preocupação não apenas relacionada à saúde, mas também ao impacto negativo que o acúmulo dessas substâncias geram no meio ambiente (Kostyuk *et al.*, 2018).

Diante disto, compostos naturais com propriedade de absorção de raios ultravioleta têm sido usados para reduzir a quantidade de agentes de proteção solar sintéticos e reforçar a tendência do mercado para desenvolvimento de cosméticos naturais. Dentre os ativos biológicos naturais, destacam-se os compostos fenólicos e polifenólicos, notáveis principalmente por sua ação antioxidante (Cherubim *et al.*, 2019; Nunes *et al.*, 2018).

Nesse contexto, surgem os produtos apícolas, que são substâncias naturais produzidas pelas abelhas *Apis mellifera* ricas nesses componentes bioativos e que possuem propriedades documentadas para serem aplicados como ingredientes nutracêuticos, farmacêuticos e cosméticos (Kurek-Górecka *et al.*, 2020).

A própolis e o pólen fermentado apícola apresentam grande potencial para serem aproveitados no desenvolvimento de cosméticos, em razão das propriedades protetoras, clareadoras, hidratantes, antioxidantes, anti-inflamatória e antienvhecimento, que seus constituintes bioativos em sinergia possuem (Silva *et al.*, 2020; Xi *et al.*, 2018). Além disso, a adição dos produtos apícolas em formulações tópicas é benéfica não apenas como tratamento, mas também para rotinas de cuidados com a pele (Kurek-Górecka *et al.*, 2020).

Os polifenóis e flavonoides da própolis correlacionam-se com sua capacidade preventiva e protetora relacionada à exposição solar. Esses componentes são caracterizados por absorver radiação ultravioleta, além de controlar os níveis de radicais livres, o que previne sua entrada na pele e consequentes efeitos danosos. Sendo assim, a aplicação da própolis em produtos cosméticos para proteção solar torna-se promissora (Silva *et al.*, 2020).

O pólen fermentado é um produto oriundo da fermentação láctica pelas abelhas, o que o torna um composto com características únicas. Os principais polifenóis que o constituem pertencem ao grupo dos flavonoides, devido a isso, estudos demonstraram uma relação entre esses componentes com sua atividade antioxidante. (Dranca *et al.*, 2020; Bakour *et al.*, 2019).

Além disso, vários ativos e bases cosméticas de origem vegetal estão disponíveis no mercado. Entretanto, pesquisas científicas para garantir a eficácia e segurança desses produtos são necessárias, visto que são poucos os estudos comparados à abrangente biodiversidade existente (Nakagami & Pinto, 2020).

Portanto, o uso dos produtos apícolas, em especial própolis e pólen fermentado, para o desenvolvimento de cosméticos é considerável. Com isso, o objetivo deste estudo foi desenvolver formulações cosméticas com a utilização do extrato glicólico de própolis e o pólen fermentado e avaliar sua atividade fotoprotetora frente à radiação ultravioleta além de verificar sua estabilidade preliminar.

2. Metodologia

2.1. Materiais

As amostras de pólen fermentado da abelha *Appis mellifera* foram coletadas de um favo fornecido por um apicultor do município de Céu Azul /PR de um apiário local. O Extrato glicólico de própolis foi adquirido de uma farmácia de manipulação da cidade de Cascavel/PR.

2.2. Beneficiamento do pólen fermentado

Iniciou-se o manejo do material através de coleta manual com o auxílio de pipetas Pasteur para a retirada do produto dos alvéolos, que foi então pesado, disposto em placas de Petri e congelado para eliminação de ácaros por um período de cinco dias. Na segunda etapa, o material foi descongelado, homogeneizado e seco em estufa com circulação e renovação de ar Ethik Technology, modelo 400-TD, durante três horas a trinta e oito graus celsius (38 °C) até quatro por cento (4%) de umidade, verificado com Analisador de Umidade Mettler Toledo, modelo HB43. Em seguida, com a utilização de moinho analítico IKA, modelo A11, o pólen foi pulverizado e acondicionado em embalagem plástica com tampa rosca até sua utilização. Visando garantir a qualidade do material, preparou-se uma solução com pólen a dez por cento (10%) em água e verificou-se o pH (potencial hidrogeniônico), em peagômetro Gehaka modelo PG1800, totalizando 3,95, estando adequado para uso.

2.3. Desenvolvimento dos fotoprotetores

A base cosmética dos fotoprotetores foi desenvolvida conforme Ferreira (2009), com algumas modificações.

Tabela 1. Composição qualitativa e quantitativa da base cosmética.

Fase	Componentes (INCI Name)	Quantidade (%)	Função
1	Aqua	85,5 %	Veículo
1	Glycerin	2,0 %	Umectante
2	2.1.1.1 Cetearyl Olivat (and) Sorbitan Olivat	7,0%	Emulsionante
2	Cetearyl Alcohol	3,0 %	Agente de consistência
2	Tocopheryl Acetate	1,0 %	Antioxidante
3	Aluminum Starch Octenylsuccinate	0,5 %	Modificador de sensorial
3	Phenoxyethanol (and) Caprylyl Glycol	1,0 %	Conservante

Legenda: 1-fase aquosa; 2-fase oleosa; 3-fase de aditivização.

No seu preparo pesaram-se os componentes (Tabela 1) e transferiram-se para béqueres distintos as fases aquosa e oleosa, aquecidas em banho-maria até atingirem 75° C, então, verteu-se a fase aquosa sobre a fase oleosa. Esse sistema foi

homogeneizado, sob agitação, utilizando Agitador Cientec CT-134, até atingir a consistência adequada. A emulsão foi deixada em repouso e resfriada até 40°C para incorporação dos demais componentes.

Foram preparados 100 gramas da base cosmética, em seguida, esta foi dividida em três partes de trinta gramas (30 g), e os dez gramas (10 g) restantes foram reservados. Os ativos foram incorporados isolados na concentração de cinco por cento (5,0%), e associados nas mesmas concentrações. Assim, obtiveram-se as formulações de fotoprotetores listados a seguir (Tabela 2).

Tabela 2. Descrição das formulações.

Formulação	Ativo fotoprotetor	Concentração
A	Extrato glicólico de própolis	5,0 %
B	Pólen fermentado	5,0 %
C	Pólen fermentado Extrato glicólico de própolis	5,0% 5,0%

Fonte: autoras.

3. Avaliação da Estabilidade Preliminar

As formulações foram envasadas, armazenadas em temperatura ambiente e ao abrigo da luz. Foram testadas quanto às características organolépticas (cor, odor e aspecto), pH, centrifugação e estresse térmico. Os testes de centrifugação e estresse térmico foram realizados no dia da manipulação, a avaliação das características organolépticas e pH sucederam-se ao 7º e 14º dia após o preparo.

3.1. Teste de Centrifugação

Avaliou-se visualmente a ocorrência de instabilidades nas formulações, submetendo-as a estresse simulado através de centrifugação. Amostras de 2 g dos fotoprotetores A, B e C foram transferidas para tubos Falcon e centrifugadas a 3000 rpm pelo período de trinta (30) minutos em temperatura ambiente (Brasil, 2004; 2008).

3.2. Estresse Térmico

Amostras de 2 g das formulações desenvolvidas foram acondicionadas em tubos de ensaio e submetidas a aquecimento em banho termostatzado à temperatura mínima de 40 °C, sendo gradativamente aumentada 10 °C a cada intervalo de 30 minutos até a temperatura máxima de 80 °C. No término do aquecimento, após arrefecimento natural das amostras, procedeu-se a avaliação visual das características organolépticas (Idson, 1993).

3.3. Avaliação Organoléptica

Analisaram-se visualmente as características macroscópicas dos fotoprotetores desenvolvidos, estabelecidas em cor, odor e aspecto. Sendo classificadas em normal, sem alteração; levemente modificada; modificada e intensamente modificada, durante o período de quatorze dias em intervalos de sete dias (Brasil, 2004; 2008).

3.4. Determinação do pH

Determinou-se através de potenciometria, a qual se realizou a imersão direta da amostra no eletrodo do peagômetro previamente calibrado. A variação do pH foi analisada pelo tempo de quatorze dias em intervalos de sete dias (Brasil, 2004; 2008).

4. Determinação do Fator de Proteção Solar (FPS) *in vitro*

Realizou-se a determinação do fator de proteção solar *in vitro* conforme o método espectrofotométrico proposto por Mansur *et al.*, (1986) com algumas modificações. As amostras dos fotoprotetores A, B e C foram diluídas em água purificada nas concentrações de 8 mg/mL e 4 mg/mL, efetuando-se a leitura das absorbâncias na faixa de 290-320 nm com intervalo de 5 nm em cubetas de quartzo, utilizando o mesmo solvente como branco. Os valores obtidos foram utilizados para o cálculo do FPS, segundo fórmula proposta pelos autores, descrita a seguir:

$$FPS = FC \cdot \sum_{290}^{320} EE(\lambda) \cdot I(\lambda) \cdot Abs(\lambda)$$

Onde:

FPS = Fator de Proteção Solar;

FC = fator de correção (= 10), determinado de acordo com dois filtros solares de FPS conhecidos de tal forma que um creme contendo 8% de homosalato resultasse no FPS 4;

EE(λ) = efeito eritematógico da radiação solar em cada comprimento de onda (λ);

I(λ) = intensidade da radiação solar em cada comprimento de onda (λ);

Abs(λ) = leitura da absorbância obtida da amostra em cada comprimento de onda (λ).

O produto entre o efeito eritematógico (EE) e a intensidade da radiação (I) foi previamente calculado por Sayre *et al.* (1979).

Tabela 3. Função do produto entre o efeito eritematológico (EE) e a intensidade da radiação (I).

Comprimento de onda (λ)	EE(λ) . I(λ) Normalizado
290	0,0150
295	0,0817
300	0,2874
305	0,3278
310	0,1864
315	0,0839
320	0,0180
	= 1,0000

Fonte: Adaptado de Sayre *et al.* (1979).

5. Resultados e Discussão

5.1. Avaliação da Estabilidade Preliminar

5.1.1. Teste de Centrifugação

A centrifugação, por meio do aumento da força de gravidade capaz de ampliar o movimento das partículas, possibilita acelerar possíveis instabilidades da amostra que podem ser notadas na forma de separação de fases ou precipitação (Brasil, 2008). Nas emulsões a centrifugação pode separar as fases, visto que estes sistemas são instáveis termodinamicamente decorrentes da oscilação no diâmetro das gotas da fase dispersa. Dessa forma, à medida que a fase interna se reúne, tende a se separar como uma segunda fase.

Os fotoprotetores A, B e C foram submetidos à centrifugação, teste realizado como triagem e não apresentaram modificações ao final do ensaio. Diante disso, compreende-se que amostras que não apresentam alterações durante o teste de centrifugação, demonstram uniformidade, bem como equilíbrio nas concentrações entre os componentes da formulação (Almeida *et al.*, 2020).

5.1.2. Teste de Estresse Térmico

No teste de estresse térmico, as condições extremas de temperatura por intervalos de tempo, visam acelerar reações de hidrólise, racemização e a maioria das reações de oxidação do produto. Dessa forma, amostras dos fotoprotetores foram colocadas em banho de água termostático e avaliadas macroscopicamente nos períodos e temperaturas pré-estabelecidos. No decorrer do teste, até 50 °C não se detectou alteração visual nas amostras, a partir dos 60 °C a formulação A alterou levemente seu aspecto, tornando-se mais fluida, nas formulações B e C ocorreu separação das fases, a fase aquosa permaneceu na base do tubo e a oleosa aderida à parede. Ao final do experimento, a formulação A ficou líquida, entretanto, após arrefecimento, retornou a seu aspecto inicial, cremoso. As demais formulações, B e C, degradaram-se totalmente.

A ruptura completa e irreversível das fases da emulsão é definida como coalescência, nesse processo, ocorre a colisão de duas ou mais gotículas da emulsão originando uma com maior diâmetro. Devido ao aumento dos choques moleculares, essas colisões podem ser aceleradas ao submeter as amostras a altas temperaturas, favorecendo assim, a separação das fases. Já quando essas junções são impedidas, é esperado que o sistema preserve suas características iniciais ao retornar à temperatura ambiente (Franzol & Rezende, 2015).

Nesse ensaio, a formulação acrescida com própolis manteve suas características visuais preservadas, por outro lado, ambas as formulações incorporadas com pólen fermentado sofreram alterações. Em geral, essas modificações indicam a necessidade de reformulação, entretanto, como se estabeleceu que até 50 °C as formulações desenvolvidas mantiveram-se estáveis, e, considerando que os produtos não estarão expostos a esse nível de temperatura cotidianamente, a reformulação não se mostrou necessária.

5.1.3. Características organolépticas

A análise das características organolépticas de um cosmético é uma etapa essencial no controle de qualidade, visto que, esses parâmetros influenciam a decisão de compra do consumidor final. Além disso, alterações desses aspectos podem indicar mudanças físico-químicas e/ou contaminação (Almeida *et al.*, 2020).

Quadro 1. Perfis organolépticos estabelecidos para os fotoprotetores desenvolvidos.

Parâmetros	“A” Própolis 5%	“B” Pólen Fermentado 5%	“C” Própolis 5% Pólen Fermentado 5%
Cor	Bege claro	Levemente amarelado	Amarelado
Odor	Sem odor	Característico de pólen	Característico de pólen
Aspecto	Cremoso	Cremoso	Cremoso

Fonte: autoras.

As características organolépticas foram determinadas no dia da manipulação (Quadro 1), todos os fotoprotetores apresentaram boa cremosidade, e em relação à cor e o odor observou-se uma variação devido aos diferentes ativos naturais incorporados. As formulações foram acompanhadas e avaliadas no 7° e 14° dia posteriores ao preparo.

No período analisado, os fotoprotetores A e B não demonstraram alteração em suas características. No fotoprotetor C, foi observado uma leve intensificação na sua coloração no 14° dia do ensaio, que pode ser resultado de uma interação entre o extrato glicólico de própolis e o pólen fermentado, visto que, os demais fotoprotetores se mantiveram inalterados, tornando-se possível descartar que essa modificação seja decorrente de instabilidade ou interação com a base cosmética utilizada.

5.1.4. Determinação do pH

A avaliação do pH em cosméticos, auxilia no monitoramento de alterações que nem sempre são perceptíveis visualmente, como problemas de estabilidade ou interação entre os componentes da formulação (Gonçalves & Louchard, 2017). A Tabela 4 descreve os valores de pH obtidos nos intervalos do teste.

Tabela 4. Resultados da determinação de pH.

Produto	0 dia	7° dia	14° dia	Média ± DP*	Variação (%)
A	6,89	6,56	6,50	6,65±0,21	3,16 %
B	4,40	4,16	3,75	4,10±0,33	7,99 %
C	4,66	4,10	4,02	4,26±0,35	8,19 %

Fonte: autoras. *DP= Desvio Padrão.

Nota-se que o fotoprotetor A apresentou um resultado relativamente próximo de um pH neutro e se manteve estável em relação ao tempo decorrido no experimento, a variação foi de 3,16%. Contudo, foi encontrado um valor de pH mais ácido nos fotoprotetores B e C e que demonstrara variação do parâmetro no tempo analisado, 7,99 % e 8,19 % respectivamente. Alterações do pH no decorrer do tempo, podem ser sinal de ocorrência de reações de hidrólise, oxidação, ou ainda contaminação bacteriana (Gonçalves & Louchard, 2017).

Geralmente o pH fisiológico da pele se apresenta na faixa de 4,0-6,5. Por isso, o ideal é que os produtos cosméticos apresentem valores de pH semelhantes ao valor de pH da pele, visto que, valores divergentes causam desequilíbrio na pele diminuindo a proteção contra micro-organismos e favorecendo o ressecamento e irritações (Secco *et al.*, 2018).

Os resultados encontrados demonstraram que os fotoprotetores atingiram valores de pH considerados compatíveis com o pH usual da pele humana, porém, a variação apresentada nos produtos B e C indicaram uma alteração importante no

produto. Essa variação pode ser explicada pela hidrólise dos triglicerídeos com formação de ácidos graxos, que diminuem o pH do meio, sendo esta relação proporcional à quantidade de *Cetearyl Alcohol* presente na formulação (Gonçalves & Louchard, 2017).

Além disso, sabe-se que o pólen fermentado é naturalmente ácido, pois apresenta grande quantidade de ácidos graxos e ácidos orgânicos em sua composição, bem como de ácidos livres e produtos da hidrólise de glicerídeos resultantes da quebra de carboidratos, outro importante constituinte (Kaplan *et al.*, 2016). Assim, é possível que reações de hidrólise tenham acontecido, o que também explicaria a variação do pH.

5.2. Determinação do Fator de Proteção Solar (FPS) *in vitro*

Para a determinação do FPS, amostras dos fotoprotetores A, B e C foram diluídas em água purificada até a concentração final de 8 mg/mL e 4 mg/mL, de modo a verificar se a mesma influencia a absorção no espectro ultravioleta. As leituras foram realizadas nos comprimentos de onda 290-320 nm, padronizados para o cálculo do FPS, segundo método de Mansur *et al.*, (1986). Os resultados das médias das absorbâncias das diluições no espectro UVB (290-320 nm) estão demonstrados nas figuras 1 e 2.

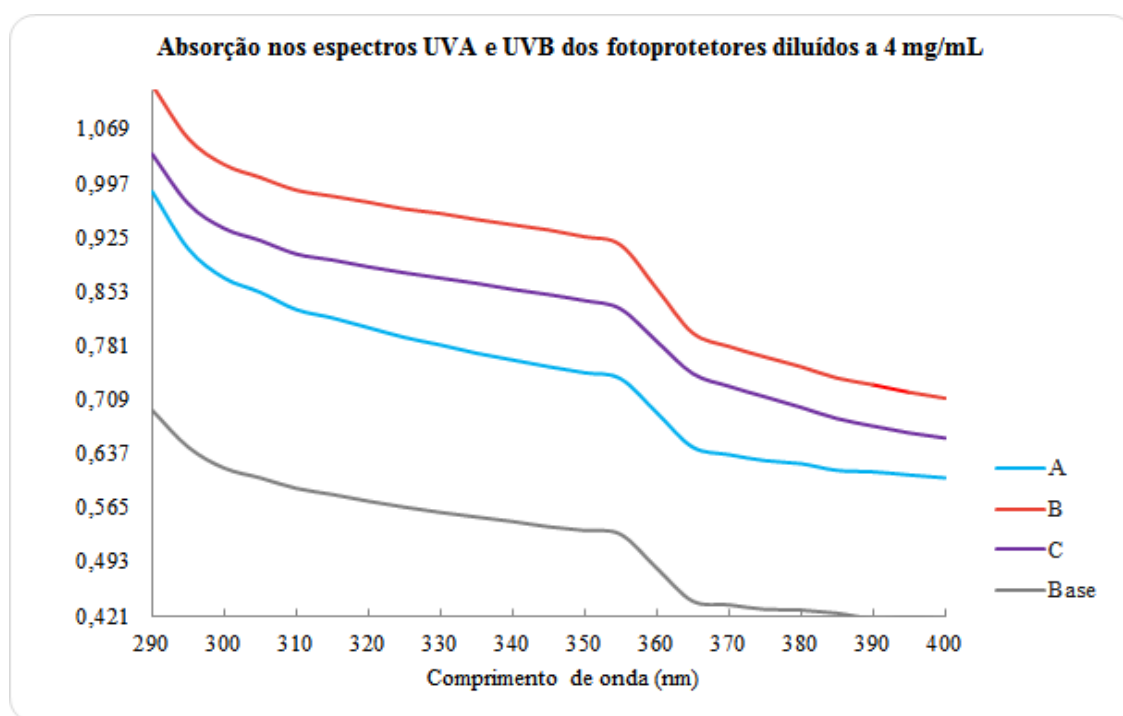


Figura 1. Perfil de absorção espectrofotométrica dos fotoprotetores A, B e C em relação à base cosmética diluídos a 8 mg/mL.

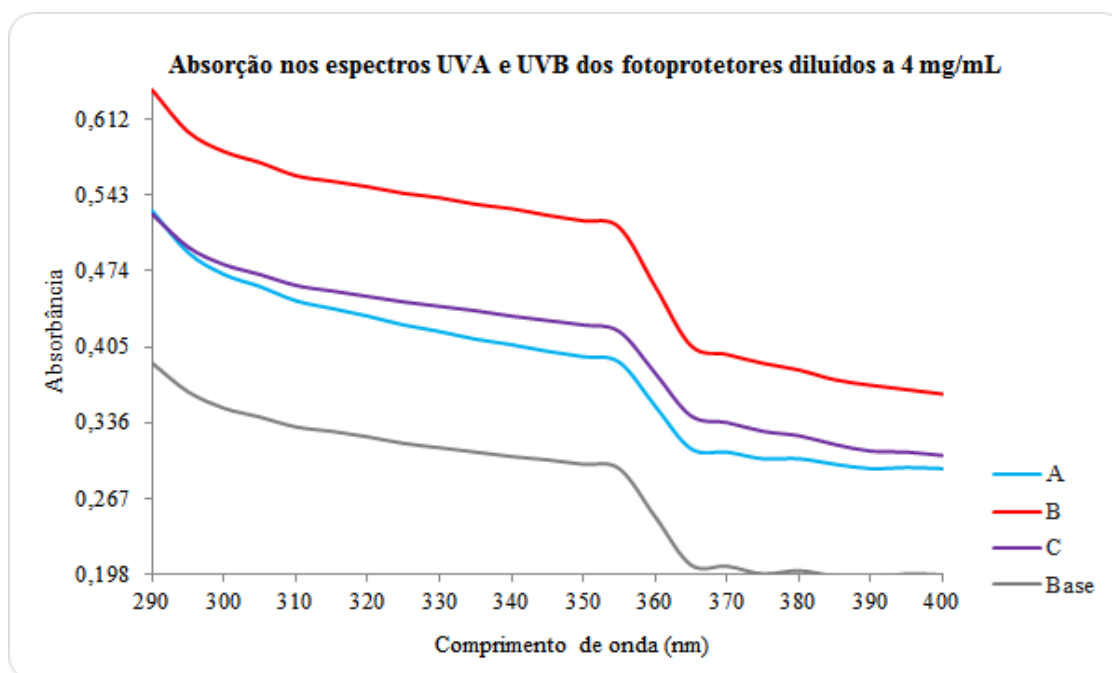


Figura 2. Perfil de absorção espectrofotométrica dos fotoprotetores A, B e C em relação à base cosmética diluídos a 4 mg/mL.

Conforme demonstrado nas figuras 1 e 2, foi possível observar que a absorção nos espectros UVA e UVB dos fotoprotetores foram proporcionais à concentração dos ativos incorporados, ou seja, quanto maior a concentração de ativo, maior a absorção.

Fez-se também a análise da base cosmética com a finalidade de excluir interferentes nos resultados obtidos na varredura espectrofotométrica dos fotoprotetores. Silva *et al.*, (2019) sugerem que avaliar o comportamento espectrofotométrico da base utilizada seja fundamental, visto que, esta, pode coincidir com a absorção do ativo no mesmo comprimento de onda, dificultando assim uma avaliação real do seu efeito.

Diante disso, ao comparar as absorbâncias obtidas pelos fotoprotetores em relação à base cosmética ficou demonstrado que não ocorreu interação entre eles, já que os resultados dos fotoprotetores foram superiores aos alcançados pela base.

Além disso, sabe-se que para uma proteção solar adequada, o produto desenvolvido deve apresentar defesa contra raios UVB e UVA, para isso, uma varredura com os fotoprotetores também no espectro UVA (320-400 nm) foi realizada. Observou-se que o fotoprotetor B absorveu em todo o espectro analisado, já os fotoprotetores A e C, a absorção no espectro UVA ocorreu totalmente no UVA II (320-340 nm) e parcialmente no UVA I (340-400 nm). Foi possível verificar que a absorção dos fotoprotetores no espectro UVA I deve-se totalmente aos ativos estudados, visto que a base absorveu parcialmente apenas no UVA II.

Não há metodologia padronizada para determinação de proteção solar na região do espectro UVA, usualmente se utiliza o método *in vivo* do PPD (Persistent Pigment Darkening), baseado no tempo de pigmentação persistente frente à radiação UVA. Também é possível avaliar por meio do método *in vitro* de espectrofotometria UV com esfera de integração, com o qual se determina o espectro de absorção do produto na faixa de 290 nm - 400 nm e o comprimento de onda crítico, que deve corresponder a 90% da integral da curva entre os comprimentos de onda (Velasco *et al.*, 2011). Dessa forma, a partir da absorção espectrofotométrica também é possível relacionar o ativo em estudo, quanto à sua proteção contra raios UVA.

Um protetor solar é classificado como um cosmético grau 2, cujas características exigem comprovação de eficácia e segurança (Brasil, 2015). A legislação brasileira estabelece como requisito obrigatório para produtos destinados à proteção

solar, um FPS de no mínimo 6, além disso, exigem que a determinação do FPS, deve ser realizada seguindo exclusivamente métodos *in vivo* (Brasil, 2012).

Entretanto, para análises *in vitro*, o método espectrofotométrico desenvolvido por Mansur *et al.*, (1986) apresenta boa correlação com os métodos *in vivo*, além de ser vantajoso pela facilidade e rapidez na execução (Schorro *et al.*, 2020). Sendo assim, foi o método escolhido para análise.

Ao aplicar a equação de Mansur *et al.*, (1986), foram obtidos os valores de FPS de 8,56 e 4,62 para o fotoprotetor A nas concentrações de 8 mg/mL e 4 mg/mL, respectivamente. O fotoprotetor B alcançou resultados de FPS 10,10 e 5,75, nas mesmas condições, e para o fotoprotetor C, o FPS resultou em 9,25 e 4,73.

Calculou-se também o FPS para a base cosmética, dessa forma, foi possível avaliar a sua influência no comportamento fotoprotetor dos produtos desenvolvidos frente à radiação ultravioleta. Foi observado que a base cosmética atingiu um valor considerável de FPS em relação ao calculado para os fotoprotetores, demonstrando que ela também influencia no FPS do produto final. A comparação está descrita na Tabela 5.

Tabela 5. Demonstração dos valores de FPS obtidos para os fotoprotetores e base cosmética nas concentrações avaliadas.

Fotoprotetor	8 mg/mL	4 mg/mL
Base	6,09	3,43
A	8,56	4,62
B	10,10	5,75
C	9,25	4,73

Fonte: autoras.

Os produtos avaliados na concentração de 8 mg/mL se enquadram na categoria indicada como “Baixa Proteção”, pois apresentaram valores de FPS entre 6,0 - 14,9. Já na menor concentração, os resultados não foram satisfatórios para serem considerados protetores solares (Brasil, 2012).

A atividade fotoprotetora e potencializadora de FPS da própolis já foi apresentada em diversos estudos (Almeida *et al.*, 2019; 2020; Sahlan *et al.*, 2017; Alves, 2015). Os autores relacionaram essa função à presença de polifenóis e flavonoides, que correspondem aos componentes naturais mais estudados com propriedades fotoprotetoras devido à capacidade de absorção de radiação ultravioleta em razão de sua estrutura molecular (Nunes *et al.*, 2018; Cefali *et al.*, 2016).

Ressalta-se que nesse estudo a própolis foi utilizada na forma de extrato glicólico, o mais indicado para uso em produtos cosméticos, embora, existam poucos estudos para quantificar os ativos presentes nessas preparações, visto que, os componentes da própolis geralmente apresentam menor solubilidade nestes meios quando comparados a uma extração etanólica, que apesar de apresentar um extrato rico em compostos bioativos tem sua aplicação limitada em razão do intenso teor alcoólico e forte sabor residual (Kubiliene *et al.*, 2015).

O fotoprotetor B, acrescido de pólen fermentado, obteve um FPS maior do que os demais, ainda assim o valor atribuído representa uma baixa proteção. Assim como a própolis, o pólen fermentado detém uma quantia de polifenóis e flavonoides em sua composição e esta pode ser a explicação para seu desempenho frente à radiação ultravioleta (Mărgăoan *et al.*, 2019; Urcan *et al.*, 2018).

Apesar de ser um produto oriundo da conversão enzimática, pelas abelhas, do pólen coletado das flores, sua composição fenólica não é afetada pelas transformações que acontecem durante a fermentação, além disso, estudos

demonstraram que a composição química do pólen fermentado é bioquimicamente semelhante ao pólen que o originou (Dranca *et al.*, 2020; Adaškevičiūtė *et al.*, 2019).

Nesse contexto, sugere-se que as propriedades terapêuticas e os efeitos protetores do pólen apícola se relacionam ao seu conteúdo de polifenóis, sendo também os principais componentes que determinam a sua atividade antioxidante (Mesa Valencia, 2015).

No fotoprotetor C, foram associados o extrato glicólico de própolis e o pólen fermentado com o intuito de avaliar o comportamento dos dois ativos testados nesta pesquisa de forma unificada, assim, foi possível observar a ocorrência de uma neutralização dos efeitos, visto que, o FPS alcançado por essa formulação não correspondeu aos valores obtidos por eles quando avaliados sozinhos nas formulações A e B.

Portanto, isso pode resultar da sinergia entre as composições fenólicas do pólen fermentado e da própolis. Isso corrobora com o estudo de Mohdaly *et al.*, (2015), que analisaram os componentes fenólicos de extratos metanólicos de própolis e do pólen apícola e demonstraram que possuem semelhanças, diferindo apenas de forma quantitativa.

6. Conclusão

Com isso, o objetivo deste estudo foi desenvolver formulações cosméticas com a utilização do extrato glicólico de própolis e o pólen fermentado e avaliar sua atividade fotoprotetora frente à radiação ultravioleta além da estabilidade preliminar das formulações.

De modo geral, todos os produtos desenvolvidos demonstraram baixa fotoproteção. Entretanto, o fotoprotetor desenvolvido com pólen fermentado apresentou a maior proteção frente à radiação ultravioleta B, além de boa absorção no espectro UVA, quando comparado aos demais. Dessa forma a utilização do pólen fermentado demonstrou que esse material é promissor agente de proteção solar natural. Sendo assim, mais pesquisas devem ser realizadas para elucidar os compostos bioativos responsáveis pela proteção solar do pólen fermentado.

Com relação à estabilidade, apesar de a base cosmética apresentar bons resultados durante a análise preliminar, um estudo prolongado e com mais variáveis torna-se necessário, pois alguns pontos avaliados tiveram intercorrências que não puderam ser esclarecidas durante essa pesquisa. Bem como, testar novas formas de utilizá-lo em cosméticos para melhorar sua estabilidade.

Referências

- Adaškevičiūtė, V., Kaškonienė, V., Kaškonas, P., Barčauskaitė, K., & Maruška, A. (2019). Comparison of Physicochemical Properties of Bee Pollen with Other Bee Products. *Biomolecules*, 9(12), 819. <https://doi.org/10.3390/biom9120819>
- Almeida, W. A. D. S., Antunes, A. D. S., Penido, R. G., Correa, H. S. D. G., Nascimento, A. M. D., Andrade, Â. L.,... & dos Santos, V. M. (2019). Photoprotective activity and increase of SPF in sunscreen formulation using lyophilized red propolis extracts from Alagoas. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 29, 373-380.
- Almeida, W. A. D. S., Sousa, L. R. D., dos Santos Antunes, A., de Azevedo, A. S., do Nascimento, A. M., Amparo, T. R., ... & dos Santos, V. M. R. (2020). Green Propolis: In Vitro Photoprotective and Photostability Studies of Single and Incorporated Extracts in a Sunscreen Formulation. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 30, 436-443.
- Alves, A. V. F. (2015). *EFEITO DO EXTRATO DE PRÓPOLIS VERMELHA COMO MEDIDA FOTOPROTETORA CONTRA OS DANOS CAUSADOS PELA RADIAÇÃO UV* [Dissertação de Mestrado, UNIVERSIDADE TIRADENTES]. <https://openrit.grupotiradentes.com/xmlui/handle/set/3053>.
- Bakour, M., Fernandes, Â., Barros, L., Sokovic, M., & Ferreira, I. C. (2019). Bee bread as a functional product: Chemical composition and bioactive properties. *LWT*, 109, 276-282. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.02.008>
- Brasil (2004). Guia de Estabilidade de Produtos Cosméticos. *Agência Nacional de Vigilância Sanitária* (1).
- Brasil (2008). Guia de Controle de Qualidade de Produtos Cosméticos. *Agência Nacional de Vigilância Sanitária* (2).

Brasil (2012). ANVISA. Resolução da Diretoria Colegiada – RDC N° 30, DE 1 DE JUNHO DE 2012. *Aprova o Regulamento Técnico Mercosul sobre Protetores Solares em Cosméticos e dá outras providências. Diário Oficial da União*, Brasília.

Brasil (2015). ANVISA. Resolução da Diretoria Colegiada - RDC N° 07, DE 10 DE FEVEREIRO DE 2015. Dispõe sobre os requisitos técnicos para a regularização de produtos de higiene pessoal, cosméticos e perfumes e dá outras providências. *Diário Oficial da União*, Brasília.

Cefali, L. C., Ataíde, J. A., Moriel, P., Foglio, M. A., & Mazzola, P. G. (2016). Plant-based active photoprotectants for sunscreens. *International journal of cosmetic science*, 38(4), 346–353. <https://doi.org/10.1111/ics.12316>

da Silva, M. V., Moura Jr, N. G. d., & Motoyama, A. B. (2020). A review of the potential therapeutic and cosmetic use of propolis in topical formulations. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 10(1). 10.7324/JAPS.2020.101018.

de Almeida, L. C., Silva, D. C., da Silva Couto, B., de Oliveira Silva, K., & Braz, W. R. (2020). Avaliação da qualidade de formulações magistrais fotoprotetoras géis-creme comercializadas na região centro-oeste de Minas Gerais. *Revista Conexão Ciência I*, 15(3).

de Lima Cherubim, D. J., Buzanello Martins, C. V., Oliveira Fariña, L., & da Silva de Lucca, R. A. (2020). Polyphenols as natural antioxidants in cosmetics applications. *Journal of cosmetic dermatology*, 19(1), 33–37. <https://doi.org/10.1111/jocd.13093>

Dranca, F., Ursachi, F., & Oroian, M. (2020). Bee Bread: Physicochemical Characterization and Phenolic Content Extraction Optimization. *Foods (Basel, Switzerland)*, 9(10), 1358. <https://doi.org/10.3390/foods9101358>

Ferreira, A. d. O. (2009). *Guia Prático de Farmácia Magistral* (3a ed., Vol. 2). Pahrnabooks.

Franzol, A., & Rezende, M. C. (2015). Estabilidade de emulsões: um estudo de caso envolvendo emulsionantes aniônico, catiônico e não-iônico. *Polímeros*, 25, 1-9.

Gonçalves, T., de Almeida, A., & Louchard, B. (2017). Fotoprotetor: Desenvolvimento, Estudo de Estabilidade Preliminar e Avaliação *in vitro* do Fator de Proteção Solar (FPS). *Infarma - Ciências Farmacêuticas*, 29(2), 147-154. <http://dx.doi.org/10.14450/2318-9312.v29.e2.a2017.pp147-154>

Idson, B. (1993) Stability of emulsions—Part 2. DCI, 151 (2).

Kaplan, M., Karaoglu, Ö., Eroglu, N., & Silici, S. (2016). Fatty Acid and Proximate Composition of Bee Bread. *Food technology and biotechnology*, 54(4), 497–504. <https://doi.org/10.17113/ftb.54.04.16.4635>

Kostyuk, V., Potapovich, A., Albuhydar, A. R., Mayer, W., De Luca, C., & Korkina, L. (2018). Natural Substances for Prevention of Skin Photoaging: Screening Systems in the Development of Sunscreen and Rejuvenation Cosmetics. *Rejuvenation research*, 21(2), 91–101. <https://doi.org/10.1089/rej.2017.1931>

Kubiliene, L., Laugaliene, V., Pavilonis, A., Maruska, A., Majiene, D., Barauskaite, K., Kubilius, R., Kasparaviciene, G., & Savickas, A. (2015). Alternative preparation of propolis extracts: comparison of their composition and biological activities. *BMC complementary and alternative medicine*, 15, 156. <https://doi.org/10.1186/s12906-015-0677-5>.

Kurek-Górecka, A., Górecki, M., Rzepecka-Stojko, A., Balwierz, R., & Stojko, J. (2020). Bee Products in Dermatology and Skin Care. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 25(3), 556. <https://doi.org/10.3390/molecules25030556>

Mansur, J. D. S., Breder, M. N. R., Mansur, M. C. D. A., & Azulay, R. D. (1986). Determinação do fator de proteção solar por espectrofotometria. *An. Bras. Dermatol*, 121-4.

Mãrgãoan, R., Stranț, M., Varadi, A., Topal, E., Yücel, B., Cornea-Cipcigan, M., Campos, MG, & Vodnar, DC (2019). Pólen coletado pelas abelhas e pão de abelha: constituintes bioativos e benefícios para a saúde. *Antioxidants (Basel, Suíça)*, 8 (12), 568. <https://doi.org/10.3390/antiox8120568>

Mesa Valencia, A. (2015). Caracterización físicoquímica y funcional del polen de abejas (*Apis mellifera*) como estrategia para generar valor agregado y parámetros de calidad al producto apícola (2015). [Dissertação de Mestrado, Universidad Nacional de Colombia Sede Medellín]. <https://repositorio.unal.edu.co/handle/unal/54865>.

Mohdaly, A. A., Mahmoud, A. A., Roby, M. H., Smetanska, I., & Ramadan, M. F. (2015). Phenolic extract from propolis and bee pollen: composition, antioxidant and antibacterial activities. *Journal of Food Biochemistry*, 39(5), 538-547.

Nakagami, I. A., & Pinto, L. P. (2020). Sustainable beauty: natural actives in the formulation of organic cosmetics. *Research, Society and Development*, 9(2), e88922064. <https://doi.org/10.33448/rsd-v9i2.2064>

Nunes, A. R., Vieira, Í., Queiroz, D. B., Leal, A., Maia Morais, S., Muniz, D. F., Calixto-Junior, J. T., & Coutinho, H. (2018). Use of Flavonoids and Cinnamates, the Main Photoprotectors with Natural Origin. *Advances in pharmacological sciences*, 2018, 5341487. <https://doi.org/10.1155/2018/5341487>

Sahlan, M., Dienayati, D., Hamdi, D., Zahra, S., Hermansyah, H., & Chulasiri, M. (2017). Encapsulation process of propolis extract by casein micelle improves sunscreen activity. *Makara Journal of Technology*, 21(1), 1.

Sayre, R. M., Agin, P. P., LeVee, G. J., & Marlowe, E. (1979). A COMPARISON OF IN VIVO AND IN VITRO TESTING OF SUNSCREENING FORMULAS. *Photochemistry and Photobiology*, 29(3), 559–566. doi:10.1111/j.1751-1097.1979.tb07090.x

Schorro, J., Silva, T., Teodoro, E., Chierrito, D., Teston, A., Mello, J., & Araújo, D. (2020). Influência de diferentes ativos em formulações de produtos dermocosméticos com fator de proteção solar. *Brazilian Journal of Development, Curitiba*, 6(5), 29741-29754.

Secco, G. G., Beltrame, B. M., & Schwanz, M. (2018). Avaliação *in vitro* do fator de proteção solar (FPS) de cosméticos fotoprotetores manipulados. *Infarma-Ciências Farmacêuticas*, 30(4), 242-249.

Silva, L., Moraes, L., Bender, S., & Taglietti, M. (2020). DESENVOLVIMENTO DE UM FOTOPROTETOR COM ÓLEO ESSENCIAL DE CANELA. *FAG JOURNAL OF HEALTH (FJH)*, 2(4), 434-439. <https://doi.org/10.35984/fjh.v2i4.265>

Urcan, AC, Criste, AD, Dezmirean, DS, Mărgăoan, R., Căciro, A., & Graça Campos, M. (2018). Similaridade de dados de pão de abelha com os mesmos taxa coletados na Índia e na Romênia. *Molecules (Basel, Suíça)*, 23 (10), 2491. <https://doi.org/10.3390/molecules23102491>

Velasco, M. V. R., Balogh, T. S., Pedriali, C. A., Sarruf, F. D., & Baby, A. R. (2011). Novas metodologias analíticas para avaliação da eficácia fotoprotetora (in vitro)–revisão. *Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada*, 32(1).

Xi, X., Li, J., Guo, S., Li, Y., Xu, F., Zheng, M., Cao, H., Cui, X., Guo, H., & Han, C. (2018). The Potential of Using Bee Pollen in Cosmetics: a Review. *Journal of oleo science*, 67(9), 1071–1082. <https://doi.org/10.5650/jos.ess18048>