Utilização do Extrato de Própolis como Agente Antimicrobiano em Creme Hidratante



Revista Eletrônica Multidisciplinar
FACEAR
ISSN: 2316-2317

Elivelton Reis dos Santos; Meirielli Vieira Buratti; Sandra de Souza Eich
Suzana Carstensen

Faculdade Educacional Araucária

RESUMO

A crescente preocupação do consumidor em utilizar produtos naturais ou menos agressivos, vem exigindo a busca por ingredientes naturais. Na indústria cosmética a maior dificuldade é a aplicação de tais produtos na conservação dos mesmos. Este trabalho tem por objetivo avaliar a ação antimicrobiana do extrato glicólico de própolis em uma formulação de creme hidratante, comparando os resultados deste com uma formulação sem conservante e outra com parabenos. Realizou-se uma verificação inicial para certificar que os cremes estavam livres de contaminantes, após este processo foram feitas análises semanais para realizar a contagem total de bactérias, fungos e leveduras. Em seguida efetuou-se um teste de sensibilidade com as formulações de cremes produzidas frente as bactérias *Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa e Escherichia coli.* Nas amostras de creme sem conservante 4/10 apresentaram crescimento de bactérias, mas o maior índice de crescimento foi de fungos 8/10. Nas amostras de creme com parabenos houve crescimento de bactérias em 3 das 10 amostras e em 4 amostras houve crescimento de fungos. E o creme com extrato de própolis, 3 apresentou crescimento de bactérias e 2 amostras houve crescimento de fungos. No teste de sensibilidade não houve formação de halos nas três formulações analisadas.

Palavras chave: Extrato de própolis, agente antimicrobiano, creme hidratante

ABSTRACT

The growing concern of consumers to use natural or less harsh products, has demanded the search for natural ingredients. In the cosmetic industry, the biggest difficulty is the use of such products in conservation. This work aims to evaluate the antimicrobial action of glycolic propolis extract in a moisturizing cream formulation compared with the results of a formulation without preservative and with other parabens. Performed an initial verification to ensure that the creams were free of contaminants, after this process analyzes were performed weekly to make the total count of bacteria, fungi and yeasts. Then, a test is made with a sensitivity cream formulations front produced *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Escherichia coli*. In samples without preservative cream 4/10 showed growth of bacteria, but the highest rate of growth of fungi was 8/10. In cream samples was parabens growth of bacteria in 3 of 10 samples and 4 samples was no growth of fungi. And the cream with propolis extract, showed growth 3 2 samples of bacteria and fungi grew. Sensitivity test in no formation of halos in the three formulations analyzed.

Key Words: Propolis extract, antimicrobial agent, moisturizer

1. INTRODUÇÃO

A classe de conservantes mais utilizados nas indústrias cosméticas, são os parabenos, que incluem o metilparabeno, etilparabeno, propilparabeno entre outros devido ao seu amplo espectro de atividade antimicrobiana, a possibilidade de combinação entre esta classe e o baixo custo (PINTO; KANEKO E OHARA, 2003).

Nos estudos de Packer e Luz (2006) na crescente busca por produtos naturais tem se adotado as tecnologias limpas, econômicas e ambientalmente corretas com busca de ingredientes diferenciados, naturais e competitivos. No mercado praticamente todos os conservantes utilizados nas formulações de cosméticos são químicos.

A Própolis é amplamente utilizada como fitoterápico no tratamento de infecções e também em problemas de pele. Ela estimula o sistema imunológico tendo atividade cicatrizante e antibiótica frente a bactérias gram positivas. Além de ações antisséptica, antifúngica, antipirética e adstringente, anti-inflamatória e anestésica (LUSTOSA, *et al*. 2008).

Esse estudo possibilita a avaliação da ação antimicrobiana do extrato de própolis, a partir de análises microbiológicas e físico químicas em amostras de creme hidratante produzidas sem conservante, com conservante químico e com o extrato de própolis, com o objetivo de avaliar as várias propriedades benéficas do extrato glicólico de própolis em um creme hidratante corporal, visando o aumento da vida útil do creme, com a utilização de um produto natural que não traz riscos à saúde ou ao meio ambiente.

2. DESENVOLVIMENTO

2.1. HISTÓRIA DA PRÓPOLIS

Os primeiros relatos de sua utilização são no Egito antigo, onde era utilizada no embalsamamento dos cadáveres no processo de mumificação. Sendo comum também pelos assírios, gregos, romanos e incas (PINTO; PRADO e CARVALHO, 2011).

Há relatos de uso da própolis desde 300 a.C, conforme descreve Castro *et al*, (2007), devido as suas propriedades biológicas como: anti-inflamatória, antimicrobiana, cicatrizante, anestésica, antitripanossomal, anticariogênica, antiviral, anticarciogênica e antioxidante, tendo sua aplicação em grande escala nas indústrias farmacêutica e de alimentos.

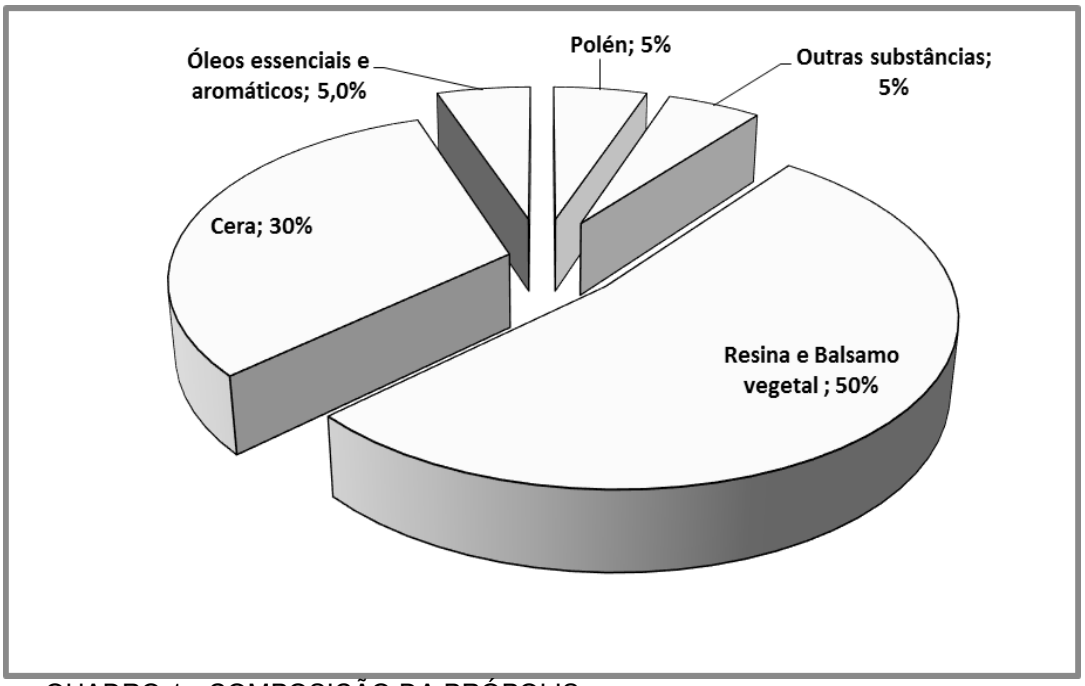
2.2. COMPOSIÇÃO

A própolis é composta por substâncias resinosas e balsâmicas. É coletada pelas abelhas de várias partes das plantas (flores, brotos, ramos), além de conter secreções salivares, enzimas, cera e pólen acrescentados pelas abelhas (LUSTOSA, *et al*. 2008).

As abelhas utilizam a própolis para vedar frestas, protegendo a colmeia contra insetos invasores, para mumificar os mesmos e como antisséptico no local onde a abelha rainha realiza a postura dos ovos (PINTO; PRADO e CARVALHO, 2011).

A composição da própolis (Quadro 1) em geral é composta de 50 - 60% de resina e balsamo vegetal, 30 - 40 % cera, 5 -10 % de óleos essenciais e aromáticos, 5 % de pólen e 5 % de outras substâncias coletadas pelas abelhas, além de micro-elementos como alumínio, cálcio estrôncio, ferro, cobre, manganês e pequenas quantidades de vitaminas B1,B2,B6,C e E (PINTO; PRADO e CARVALHO, 2011).

Segundo laudo da empresa AQIA QUÍMICA INDUSTRIAL, que cedeu o extrato de própolis para o desenvolvimento deste trabalho a própolis é uma resina de origem vegetal segregada pela abelha Apis melífera, contém pólen, resinas, ceras, álcool benzílico, éter fenilvinílico, éster benzóico do ciclo-hexanol, flavonóides e outras substâncias por identificar.



QUADRO 1 - COMPOSIÇÃO DA PRÓPOLIS
FONTE: ADAPTADO DE (PINTO; PRADO e CARVALHO, 2011.

Na descrição de Vargas (2004) cerca de 200 componentes já foram identificados em amostras de própolis de origens variadas, tais como: ácidos graxos e fenólicos, ésteres fenólicos, flavonoides (flavonas, flavanonas, flavonóis, di-hidroflavonóis), terpenos, β-esteróides, aldeídos álcoois aromáticos, sesquiterpenos e naftaleno.

A própolis brasileira possui composição química e atividade biológica variada de acordo com cada região do país. Esse fato pode ser explicado pela vasta diversidade biológica brasileira e pela habilidade bioquímica que a as abelhas possuem em alterar ou adicionar componentes a própolis. (PINTO; PRADO e CARVALHO, 2011)

Há componentes que estão presentes em todas as amostras de própolis, no entanto há outros que são derivados de espécies particulares de plantas. (LUSTOSA *et al*. 2008). O local e a época de colheita podem variar a proporção e os componentes presentes na mesma. (JUNIOR *et al.* 2006).

2.3. PROPRIEDADE ANTIMICROBIANA

As propriedades antimicrobiana da própolis são atribuídas principalmente á flavona pinocembrina, ao flavonol galagina e ao éster feniletil do ácido caféico, sendo seu mecanismo de ação baseado provavelmente na inibição da RNA- polimerase bacteriana. (PINTO; PRADO e CARVALHO, 2011)

Segundo Lustosa *et al*. (2008) Outros componentes como os flavonóides, ácido caféico, ácido benzoico e ácido cinâmico agem na membrana ou parede celular do micro-organismo causando danos estruturais e funcionais.

Simões (2007) descreve que as bactérias Gram positivas são mais sensíveis do que as bactérias Gram negativas, sendo a ação antibacteriana da própolis espécie-dependente, os extratos de própolis atuam como inibidores de crescimento e da divisão celular, sendo que quanto maior a concentração do extrato de própolis maior será a sua ação sobre as bactérias (SIMÕES, 2007).

O flavonóide quercetina em conjunto com o Ácido caféico são os responsáveis pelo aumento da permeabilidade das membranas dos micro-organismos, e pela alteração bioenergética da célula. Já a quercetina, o ácido caféico e a naringenina possuem a eficácia na inibição da motilidade celular, sendo este um dos fatores de virulência de alguns micro-organismos (SIMÕES, 2007).

Segundo Longhini (2006) está comprovada sua ação antimicrobiana diante de vários agentes como, por exemplo, bactérias Gram positivas como *Streptococcus*

pyogenes, Staphylococcus aureus e Gram negativas *Escherichia coli* e leveduras, sobretudo *Candida albicans.*

Segundo Monzote et al. (2012) também avaliaram a atividade antifúngica dos extratos metanólicos, também nas concentrações entre 64 e 0,25 µg/mL, de vinte amostras de própolis cubanas contra *Trichophyton rubrum* e *Candida albicans*. Houve atividade contra o *T. rubrum* em baixas concentrações, já contra a *C. albicans* nem mesmo as mais altas concentrações testadas exerceram atividade.

2.4. AGENTES ANTIMICROBIANOS – CONSERVANTES

Os produtos cosméticos são muito suscetíveis ao crescimento de micro-organismos, por esse motivo a indústria usa em sua formulação conservantes químicos (FERNANDES *et.al*, 2013).

Estes antimicrobianos possuem efeito microbiostático, ou seja, inibe o crescimento dos micro-organismos, sua ação é mais lenta e por períodos mais longos, pois está relacionada ao tempo de prateleira dos produtos (EGUCHI, 2008).

Sem os conservantes os produtos perdem a vida útil, apresentam desenvolvimento de micro-organismos, que podem causar doenças ou alterar o aspecto do produto final (FERNANDES *et.al*, 2013).

Segundo Eguchi (2008) a designação “conservante” inclui, além dos antimicrobianos, os compostos antioxidantes, absorventes de UV, quelantes, entre outros, ou seja, nesta categoria se encaixam os ativos que de alguma forma auxiliam no processo de controle de contaminação.

2.4.1. Ação dos antimicrobianos

Normalmente a ação dos antimicrobianos sobre os micro-organismos ocorre através de reação química com os componentes celulares como mostra a Figura 1 sendo os alvos principais são as enzimas e a parede ou membrana celular (EGUCHI, 2008).

Além de interferência no metabolismo celular, a destruição do ciclo bioquímico dos micro-organismos pode levar à morte, ou disfunção celular. Este fenômeno ocorre mais comumente com os compostos de oxidação ou redução, que através do fluxo de elétrons pode inviabilizar as reações bioquímicas e bioenergéticas (EGUCHI, 2008).

Os antimicrobianos podem causar vários danos ao micro-organismo entre eles os citados na Figura 1.

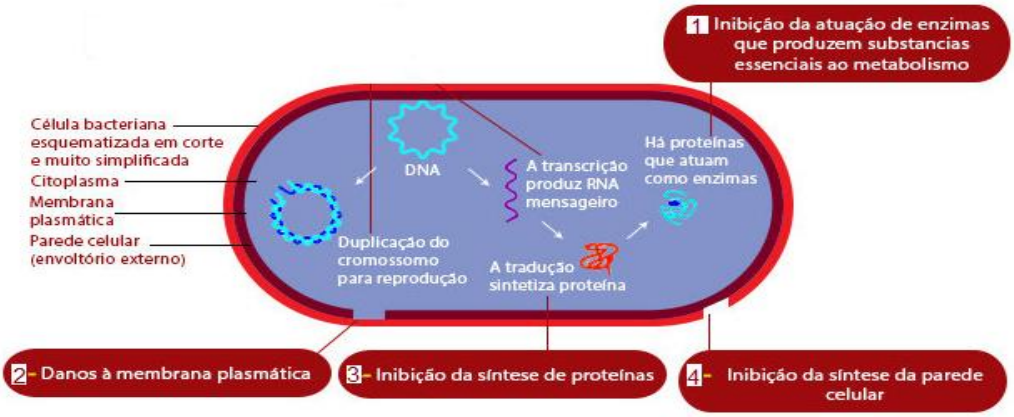


FIGURA 1- MECANISMOS DE AÇÃO DOS AGENTES ANTIMICROBIANOS
FONTE: ADAPTADO DE REVISTA NOVA ESCOLA, 2014

2.5. LEGISLAÇÃO

De acordo com a resolução - RDC nº 481, de 23 de setembro de 1999 (Quadro 2) os produtos cosméticos, de higiene pessoal e perfumes devem atender a parâmetros de controle microbiológico.

	ÁREA DE APLICAÇÃO E FAIXA ETÁRIA	**LIMITES DE ACEITABILIDADE**
TIPO - I	Produtos para uso infantil Produtos para área dos olhos Produtos que entram em contato com mucosas	a) Contagem de microorganismos mesófilos aeróbios totais, não mais que 10^2 UFC/g ou ml Limite máximo 5x 10^2 UFC/g ou ml
		b) Ausência de *Pseudomonas aeruginosa* em 1g ou ml
		c) Ausência de *Staphylococcus aureus* em 1g ou ml
		d) Ausência de *Coliformes totais e fecais* em 1g ou ml
		e) Ausência de Clostrídios sulfito redutores em 1 g (exclusivamente para talcos).
TIPO - II	Demais produtos Susceptíveis à Contaminação Microbiológica	a) Contagem de microorganismos mesófilos aeróbios totais, não mais que 10^3 UFC/g ou ml Limite máximo 5x 10^3 UFC/g ou ml
		b) Ausência de *Pseudomonas aeruginosa* em 1g ou ml
		c) Ausência de *Staphylococcus aureus* em 1g ou ml
		d) Ausência de *Coliformes totais e fecais* em 1g ou ml
		e) Ausência de Clostrídios sulfito redutores em 1 g (exclusivamente para talcos).

QUADRO 2 - PARÂMETROS DE CONTROLE MICROBIOLÓGICO
FONTE: ANVISA, 1999

2.6. METODOLOGIA

2.6.1. Preparo do creme hidratante

Para não alterar a qualidade dos cremes hidratantes, foi necessário fazer a seleção das matérias primas apropriadas para a produção base dos cremes. Sendo o extrato de própolis tipo hidroglicólico cedido pela empresa Áquia Química .

Foram produzidos três formulas de creme hidratante como mostra a tabela 1.

Matéria Prima	Fórmula 1 Creme sem conservante	Fórmula 2 Creme com parabenos	Fórmula 3 Creme com extrato de própolis
Fase A			
Monoestearato de glicerila	15g	15g	15g
Álcool Cetoestearílico	12g	12g	12g
Álcool Cetoestearílico Etoxilado	9g	9g	9g
2 – Octil dodecanol	9g	9g	9g
Óleo mineral	9g	9g	9g
Propilparabeno	----------	0,3g	----------
Fase B			
Água	246g	245,10g	216g
Metilparabeno	----------	0,6g	----------
Fase C			
Extrato de própolis	----------	----------	30g
Total	300g	300g	300g

TABELA 1 – FORMULAÇÕES
FONTE: MODIFICADO FARMATECNICA, 2014

Pesou-se os componentes da fase A e B, aqueceu-se ambos até 80 ºC, em seguida verteu-se a fase B sob a fase A com agitação constante até obtenção de uma consistência não muito espessa. Continuou-se a agitar vagarosamente com auxílio de uma espátula até que o mesmo resfriasse a aproximadamente 40 ºC. Até esta etapa o procedimento foi realizado da mesma maneira para os três cremes.

Para a fórmula 3 após o resfriamento do creme, foi adicionado a fase C, sendo composta pelo extrato de própolis e homogeneizado.

Após o preparo todas as fórmulas foram envasadas e separadas em 10 unidades em embalagem plásticas com aproximadamente 20g de creme e identificadas de 1 a 10 com nome das fórmulas. Para cada dia de análise foi utilizado uma unidade de cada formulação e descartada após o uso.

Em seguida foi realizado a verificação inicial dos mesmos de acordo com os itens

2.6.2 ao 2.6.4 conforme descrito no Guia ABC (2008). Após a verificação inicial completa realizou-se análises semanais dos itens 2.6.2 e 2.6.3

2.6.2. Preparo das amostras para análise

Pesou-se 10g da amostra (creme hidratante) e diluiu-se em 90mL de caldo diluente, a partir dessa diluição (10^{-1}) retirou-se uma alíquota de 10 mL e colocou-se em outro frasco contendo 90 mL do mesmo caldo, diluição 10^{-2}.

2.6.3. Contagem total de bactérias, bolores e leveduras

Transferiu-se 1 mL da diluição 10^{-2} para uma placa de petri esterilizada e previamente identificada, adicionou-se 17 mL do ágar TSA (Tryptic Soy Agar) previamente fundido e resfriado a aproximadamente 45ºC e homogeneizou-se. Repetiu-se o mesmo procedimento para o ágar sabouraud.

Após solidificação do meio de cultura incubou-se as placas de TSA em estufa a 35 ºC por 48 horas e as placas de sabouraud em estufa a 25ºC por 5 dias. Após o período de incubação efetuou-se a contagem das Unidades Formadoras de Colônias

2.6.4. Pesquisa de *Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*

Incubou-se o caldo da diluição 10^{-2} em estufa a 35 ºC por 24 horas. A partir do enriquecimento não seletivo com auxílio da alça de platina, transferiu-se o material para uma placa de petri contendo ágar Cetrimida para pesquisa de *Pseudomonas aeruginosa,* utilizando-se o método de estria por esgotamento. Incubou-se a placa em estufa a 35 ºC por 48 horas. Repetiu-se o procedimento com ágar Manitol para pesquisa de *Staphylococcus aureus* e com ágar Mac conkey para pesquisa de Escherichia coli.

2.6.5. Verificação do pH

As leituras dos valores de pH foram realizadas semanalmente após a realização das análises dos itens 2.6.2 e 2.6.3. Para este procedimento cortou-se a parte superior da embalagem e introduziu-se o eletrodo diretamente no creme.

Foi utilizado o pHmetro Q400M da marca Quimis para as medidas de potenciometria. Este equipamento foi previamente calibrado com soluções tampão de valores de pH 4,0 e 7,0.

2.6.6. Teste de sensibilidade

O procedimento do teste de sensibilidade foi adaptado conforme metodologia descrita por Vargas *et.al* (2004). Emulsionaram-se os inócuos previamente crescidos em ágar TSA, em Tampão cloreto de sódio peptona pH= 7 estéril, sendo a turvação ajustada à escala 0,5 Mac Farland.

Para o teste de sensibilidade, fez-se o estriamento com swab da suspensão bacteriana por placa. Em seguida fez-se 3 pocinhos em regiões diferentes do ágar e colocou-se o creme a testar em cada um. Incubou-se as placas a 35°C por 72 horas.

Utilizou-se neste teste as cepas de *Staphylococcus aureus (ATCC 6538), Escherichia coli (ATCC 8739) e Pseudomonas aeruginosa (ATCC 9027)*. E testou-se as três formulações de creme: sem conservante, com extrato de própolis e com conservante químico a base de parabenos (metilparabeno e propilparabeno).

2.7. RESULTADOS

2.7.1. Verificação inicial

As três amostras de creme apresentaram ausência de microorganismos como mostra o Quadro 3.

Análises	Creme sem conservante	Creme com parabenos	Creme com extrato de própolis
Contagem total de bactérias	<10UFC/g		
Contagem total de bolores e leveduras	<10UFC/g		
Pesquisa de *Pseudomonas aeruginosa*	Ausência		
Pesquisa de *Staphylococcus aureus*	Ausência		
Pesquisa de *Escherichia coli*	Ausência		

QUADRO 3 – RESULTADOS DA VERIFICAÇÃO INICAL
FONTE: AUTORES, 2014

2.7.2. Verificação semanal

Foram realizadas as análises com intervalo de 7 (sete) dias, para as três amostras, como mostra os resultados na tabela 2. Os resultados em ágar TSA (Tryptic Soy Agar) e ágar SAB (Sabouraud) estão expressos em UFC/g.

Dias	Sem Conservante			com extrato de própolis			com parabenos		
	pH	TSA	SAB	pH	TSA	SAB	pH	TSA	SAB
0	7,93	0	0	7,20	0	0	7,25	0	0
7	7,85	1	0	7,15	2	1	7,13	2	1
14	7,75	0	2	6,55	0	0	6,40	0	0
21	7,10	0	7	5,90	1	0	5,98	1	0
28	6,24	2	1	5,08	0	0	5,73	0	1
35	6,00	4	8	5,05	0	0	5,61	0	1
42	6,13	0	21	5,00	0	0	5,58	0	0
49	5,99	0	1	5,21	0	0	5,71	0	0
56	5,90	0	6	5,31	0	0	5,69	0	0
63	5,53	1	50	5,22	1	1	5,73	1	1
Média	6,64	0,8	9,6	5,76	0.4	0,2	6,08	0,4	0,4

TABELA 2 – RESULTADOS DAS ANÁLISES SEMANAIS
FONTE: AUTORES, 2014

A Tabela 3 mostra o percentual de crescimento de bactérias e fungos nas 10 amostras analisadas.

Formulações	**Total de amostras com crescimento bacteriano**	**Total de amostras com crescimento de fungos**
Com parabenos	30%	40%
Com extrato de própolis	30%	20%
Sem conservante	40%	80%

TABELA 3 – PERCENTUAL DE CRESCIMENTO MICROBIANO
FONTE: AUTORES, 2014

Nas amostras de creme sem conservante 4/10 apresentaram crescimento de bactérias, mas o maior índice de crescimento foi de fungos 8/10, a Figura 2 mostra o crescimento de fungos na amostra sem conservante. Nas amostras de creme com parabenos houve crescimento de bactérias em 3 das 10 amostras e em 4 amostras houve crescimento de fungos. Já o creme com extrato de própolis, 3 apresentaram crescimento de bactérias e 2 amostras houve crescimento de fungos.



FIGURA 2 - CREME HIDRATANTE SEM CONSERVANTE 42º DIA
FONTE: AUTORES, 2014

2.7.3. Teste de sensibilidade

Não houve formação de halos nas três formulações testadas frente as bactérias *Staphylococcus aureus (ATCC 6538), Escherichia coli (ATCC 8739) e Pseudomonas aeruginosa (ATCC 9027)*.

A Figura 3 representa os resultados do teste de sensibilidade do creme sem conservante.

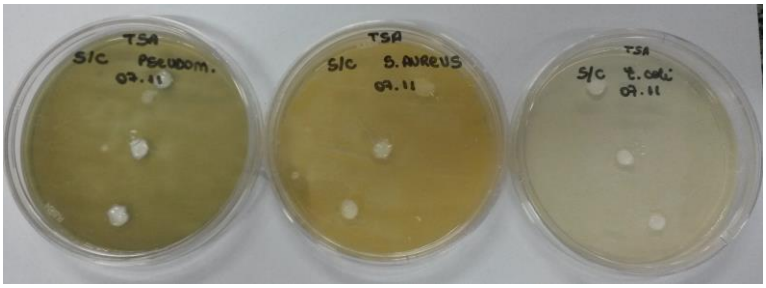


FIGURA 3 – TESTE DE SENSIBILIDADE CREME SEM CONSERVANTE
FONTE: AUTORES, 2014

Na Figura 4 estão expressos os resultados do teste de sensibilidade do creme com extrato hidroglicólico de própolis.



FIGURA 4 – TESTE DE SENSIBILIDADE CREME COM EXTRATO DE PRÓPOLIS
FONTE: AUTORES, 2014

A Figura 5 ilustra os resultados do teste de sensibilidade do creme com parabenos.



FIGURA 5 – TESTE DE SENSIBILIDADE CREME COM PARABENOS
FONTE: AUTORES, 2014

2.8. DISCUSSÕES

Na verificação inicial não houve crescimento de micro-organismos, demonstrando que os cremes estavam livres de qualquer contaminação e não ocasionaria interferência nos resultados das análises seguintes.

De acordo com os dados da Tabela 3 é possível perceber que o creme com extrato de própolis obteve resultados mais satisfatório em comparação as demais formulações. O mesmo inibiu o crescimento de boa parte das bactérias e fungos se comparado com a amostra sem conservante, e segundo a legislação RDC nº 481 o máximo permitido é 5 x 10^2 UFC/g, neste caso estando dentro do limite aceitável pois o valor máximo de crescimento foi 2 x 10^2 UFC/g.

No estudo, foi utilizado 10% de extrato de própolis na formulação do creme, valor máximo recomendado pelo fabricante, pois segundo Simões (2007) quanto maior a concentração maior será sua ação antimicrobiana. Devido à grande quantidade de extrato na formulação o creme apresentou coloração amarelada e odor característico do mesmo, permaneceu estável, não havendo separação de fases.

Verificou-se que o pH das três formulações acidificou ao longo dos dias, de acordo Pedro (2009) para evitar variações de pH na formulação são utilizados os agentes tamponantes ou tampões, que garantem estabilidade a formulação, pois a variação de pH pode reduzir o tempo de vida útil do produto e causar a inativação de ativos.

Segundo Pedro (2009) nas formulações cosméticas são utilizados os neutralizantes que podem ser ácidos ou bases utilizados para corrigir o pH em formulações Optou-se por não corrigir o pH dos cremes inicialmente para que pudesse ser avaliado se o extrato de própolis ocasionaria alguma variação, pode-se perceber que este apresentou pH mais ácido dentre as formulações. Esse fato pode ser explicado devido ao pH do extrato de própolis ser em torno de 4,0 – 6,0.

No teste de sensibilidade todas as formulações não apresentaram halos de inibição Figuras 3,4 e 5. Se por ventura a não inibição do crescimento fosse apenas nos

cremes sem conservante e no creme com extrato de própolis poderia se concluir que o extrato hidroglicólico de própolis não foi eficiente, porém mesmo no creme com parabenos não houve inibição dos micro-organismos. Não se tem estudos do teste de sensibilidade com produtos semissólidos como no caso do creme hidratante, sendo difícil avaliar a causa da não formação de halos, podendo ser um erro no procedimento, ou até mesmo que o procedimento não seja adequado para este tipo de produto.

3. CONCLUSÃO

Pelos resultados obtidos o extrato de própolis como agente antimicrobiano demonstrou ser eficiente em cremes hidratantes, apresentando resultados similares aos cremes com parabenos nas contagens totais de bactérias e fungos. Sugere-se complementar esse estudo com concentrações inferiores do extrato de própolis para reduzir a cor amarelada, odor característicos e avaliar a quantidade mínima inibitória do extrato na formulação, realizar um teste de contaminação proposital do produto com micro-organismos específicos com objetivo de verificar a carga de contaminação em períodos diferentes.

4. REFERÊNCIAS

ABC, Associação Brasileira de Cosmetologia. **Guia ABC de Microbiologia** 3ª Edição. Pharmabooks. São Paulo, 2008

BRASIL. Resolução - RDC nº 481, de 23 de setembro de 1999. **Parâmetros de controle microbiológico para os produtos de higiene pessoal, cosméticos e perfumes** Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br> Acesso em: 16.02.14

CASTRO, Myrella Léssio; *et al*. - **Própolis do sudeste e nordeste do Brasil: Influência da sazonalidade na atividade antibacteriana e composição fenólica.** Química Nova, Piracicaba V.30, n. 7, 1512-1516, 2007, p.1512-1516 , nov.2007
Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/qn/v30n7/02.pdf> Acesso em: 24.02.14

EUGUCHI, Silvia Yuko**. Ativos antimicrobianos utilizados na indústria.**
Disponível em: <http://www.sbcc.com.br/revistas_pdfs/ed%2022/22Antimicrobianos.pdf> Acesso em: 04.10.14

FERNANDES, João Paulo dos Santos, et al. **Estudo das relações entre estrutura e atividade de parabenos: uma aula prática.**
Disponível em:< http://www.scielo.br/pdf/qn/v36n6/26.pdf> Acesso em: 17.03.14

FARMATECNICA, **Manual de Formulações Padrão.**
Disponível em: <http://www.farmatecnica.com.br> Acesso em: 17.05.14

JUNIOR, Ary Fernandes. *et al*. **Atividade antimicrobiana de própolis de Apis mellifera obtidas em três regiões do Brasil.**
Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/cr/v36n1/a47v36n1.pdf> Acesso em 04.03.14

LUSTOSA, Sarah R. *et al.* **Própolis: atualizações sobre a química e a farmacologia.**
Disponível em:< http://www.scielo.br/pdf/rbfar/v18n3/a20v18n3.pdf> Acesso em: 22.02.14

LONGHINI, Renata*. et al*. **Obtenção de extratos de própolis sob diferentes condições e avaliação de sua atividade antifúngica**
Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/rbfar/v17n3/14.pdf> Acesso em: 28.10.14

MONZOTE, L.; CUESTA-RUBIO, O.; FERNANDEZ, M. C. et al. In vitro antimicrobial assessment of Cuban propolis extracts. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**. v. 107, n. 8, p. 978-984, 2012.

PACKER, Janaina F; LUZ, Marisa M.S. da. **Método para avaliação e pesquisa da atividade antimicrobiana de produtos de origem natural**. Jan./Mar. 2007
Disponível em: < http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-695X2007000100019> Acesso em: 25.10.14

PINTO, Luciana de Matos Alves, PRADO, Ney Robson Taironi do, CARVALHO, Lucas Bragança de. **Propriedades, usos e aplicações da própolis**.
Disponível em:<http://revistas.ufg.br/index.php/REF/article/viewFile/15805/9701>
Acesso em: 04.03.14

PINTO, Terezinha de Jesus Andreoli, KANEKO, Telma Mary, OHARA, MitsukoTaba. **Controle biológico de qualidade de produtos farmacêuticos, correlatos e cosméticos**. 2ª Ed. Atheneu, São Paulo,2003.

REVISTA NOVA ESCOLA. **Humano x bactérias: como ambos se defendem?**
Disponível em: <http://www.gentequeeduca.org.br> Acesso em: 18.10.14

PEDRO, Ricardo. **Neutralizantes, alcalinizantes, acidulantes e tampões. Revista H&C – Household & Cosmético.**
Disponível em:< http://www.freedom.inf.br/artigos_tecnicos/hc53/ricardopedro.asp>
Acesso em: 15.11.2014

SIMÕES, Cinthia Coelho. **Estudo bioquímico da ação da própolis frente aos micro-organismos presentes na saliva de humanos**. Salvador fev. 2007
Disponível em: <https://repositorio.ufba.br> Acesso em: 21.03.2014

VARGAS, Agueda Castagna de; *et al*. **Atividade antimicrobiana "in vitro" de extrato alcóolico de própolis.** Ciência rural, Santa Maria V.36, n.1 p. 159-163, jan-fev. 2004
Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/cr/v34n1/a24v34n1.pdf> Acesso em: 22.03.14