

Controle de qualidade microbiológico de amostras de própolis: revisão

Microbiological quality control of propolis samples: review

RESUMO

Guilherme dos Santos
guilhermesnt@gmail.com
Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Toledo, Paraná, Brasil

Tatiana Shioji Tiunan
tatianatiunan@utfpr.edu.br
Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Toledo, Paraná, Brasil

A própolis é uma substância com capacidades biológicas e farmacológicas como antiinflamatória e antimicrobiana. Minas Gerais é o estado que mais produz própolis. Paraná, apesar de produzir grandes quantidades de mel, produz pouco própolis. Este trabalho buscou realizar uma revisão de literatura sobre própolis, as metodologias microbiológicas empregadas no controle de qualidade, e avaliar amostras de própolis do oeste do Paraná e compará-las com uma de Minas Gerais, para incentivar os apicultores da região à sua produção. Foram adquiridas três amostras de própolis: duas do município de Santa Helena, Paraná e uma de Caxambu, Minas Gerais. As amostras foram armazenadas em sacos sob vácuo em freezer a -8°C . O preparo das amostras seguiu a metodologia de diluições seriadas (1:10). As análises de controle de qualidade não foram conclusivas devido a pandemia do COVID-19. Pela revisão da literatura, foram analisadas as características da própolis e elaborados os seus protocolos de análises microbiológicas de controle de qualidade. A revisão mostrou que o estado do Paraná deveria demonstrar mais interesse na própolis, para obter um produto de alto valor sem a necessidade de grandes mudanças na produção.

PALAVRAS-CHAVE: Microbiologia. Pesquisa bibliográfica. Alimentos-análise.

Recebido: 19 ago. 2020.

Aprovado: 01 out. 2020.

Direito autoral: Este trabalho está licenciado sob os termos da Licença Creative Commons-Atribuição 4.0 Internacional.

ABSTRACT

The propolis is a substance with biological and pharmacological capabilities as anti-inflammatory and bacteriostatic. The state of Minas Gerais produces the most propolis in Brazil. Paraná, despite producing large amounts of honey, its propolis production is lacking. This research aimed to do a literature review on propolis, the microbiological methodologies used in quality control, and evaluate samples of propolis from western Paraná and compare them with one from Minas Gerais, in order to encourage beekeepers in the region to their production. Three samples were acquired: two from the city of Santa Helena, Paraná; and the third one from Caxambu, Minas Gerais. The samples were stored in vacuum bags in freezer at -8°C . The preparation of the samples followed the methodology of serial dilutions. The quality control analyzes were not conclusive due to the COVID-19 pandemic. Through the literature review, the characteristics of propolis were analyzed and protocols for microbiological analysis of quality control of this product were elaborated. The theoretical analysis shows that Paraná should show more interest in



the propolis to obtain a high-value product without major changes in production.

KEYWORDS: Microbiology. Bibliographic research. Food-analysis.

INTRODUÇÃO

A própolis é definida como uma substância resinosa cuja origem se dá por fontes diferentes de vegetais, sendo utilizada pelas abelhas para selar frestas e reparar danos da colmeia (MARCUCCI, 1995, 1996; DE VARGAS *et al.*, 2004). A composição da própolis pode variar conforme a região da qual se coleta assim como a época do ano (BANKOVA *et al.*, 1998). De um modo geral, é composta por resinas, bálsamos, óleos aromáticos, pólen e outros materiais orgânicos, sendo que as resinas e bálsamos correspondem a maior parte (BURDOCK, 1998). A própolis se torna de fato completa quando recebe, já dentro da colmeia, saliva das abelhas e ceras, completando sua composição (MARCUCCI, 1996).

Ao todo, já foram identificados mais de 200 componentes presentes na própolis, como por exemplo: ácidos graxos; ésteres; flavonoides; vitaminas; e traços de metais e minérios, encontrando-se flavonoides em maiores quantidades que os outros compostos. Importante dizer que é essa vasta relação de substâncias que concede à própolis suas capacidades biológicas e farmacológicas (DE VARGAS, 2004; MARCUCCI, 1995; BURDOCK, 1998; PEREIRA *et al.*, 2002).

O cultivo de abelhas é uma prática que remonta tempos antigos, sendo os seus produtos muito utilizados devido a diversas propriedades interessantes de aplicações humanas. Anestésico, antiinflamatório, antifúngico, bacteriostático, antioxidante e antisséptico, são algumas das várias capacidades da própolis (BURDOCK, 1998). Além disso, estudos já comprovaram a eficiência da própolis como antibiótico (TOSI *et al.*, 1996) e como agente antiviral (AMOROS *et al.*, 1992; MAKSIMOVA-TODOROVA *et al.*, 1985).

Gregos e Romanos, desde tempos antigos, já utilizavam a própolis uma vez descoberto suas propriedades medicinais (propriedade cicatrizante, antisséptico e desinfetante bucal). Atualmente muitos cosméticos e inclusive alimentos fazem uso de própolis a fim de se beneficiar de suas propriedades (CASTALDO & CAPASSO, 2002). A variedade de produtos à base de própolis é imensa: sabonetes, xampus, condicionadores, protetor solar, creme, pomada, batom, bala, chás, gel pós barba e afins (DOS SANTOS *et al.*, 2003).

A presença de microrganismos em alimentos, salvo exceções que haja necessidade dos mesmos, é algo indesejável. Esses organismos utilizam os alimentos e produtos como veículo ou substrato para se multiplicarem deteriorando-os e diminuindo a sua vida útil. Durante esse processo são capazes de produzirem toxinas as quais causam danos a saúde dos consumidores. O controle de qualidade objetiva por garantir que o processo produtivo, em todas as suas etapas, seja feito sob exigentes diretrizes a fim de garantir um produto de qualidade e minimizar efeitos negativos posteriores (CARVALHO *et al.*, 2005).

O Brasil é um país que possui uma diversidade invejável no que se refere a flora e fauna. Uma vez que a composição da própolis depende das flores de cada região, dada a grande variedade brasileira, há também uma variedade de própolis disponível, gerando um grande interesse internacional (RICARDO, 2020). No Brasil, a variedade que mais chama a atenção devido a suas propriedades é a

própolis verde. É estimado em 100 toneladas a produção de própolis verde no país sendo que 80% desse volume vem do estado de Minas Gerais (MATIAS, 2020). O Japão é considerado um dos maiores consumidores dessa própolis. Estima-se que 92% da própolis consumida no Japão é de origem brasileira (RICARDO, 2020). Com relação a Minas Gerais, a produção que antes estava restrita a 250 gramas por ano por colmeia passou para 1,5 quilogramas por ano por colmeia, devido a cada vez maior demanda nacional e internacional. Esse aumento só foi possível graças ao desenvolvimento de novas técnicas e novos conhecimentos a respeito do processo produtivo (EMATER, 2020).

O estado do Paraná, por sua vez, apesar de também produzir a própolis verde (APISBRASIL, 2020), seu nível não se assemelha ao de Minas Gerais, mesmo que o Paraná seja o segundo maior produtor de mel do Brasil, com cerca de 7,4 mil toneladas anuais, de acordo com o Departamento de Economia Rural (Deral) (PARANÁ, 2020). Esse dado é um indicativo de que apesar da grande produção de mel, e pela própolis ser um produto produzido em conjunto com o mel, o Paraná ainda não dá a devida atenção a própolis, apesar do alto valor agregado.

Com esse pensamento, o presente trabalho teve como objetivo realizar uma revisão de literatura sobre própolis e metodologias microbiológicas empregadas no controle de qualidade, assim como avaliar amostras de própolis da região oeste do Paraná e compará-las com uma amostra de Minas Gerais, a fim de verificar a sua qualidade de modo que haja um incentivo aos produtores de mel da região para darem mais atenção a própolis e suas propriedades de interesse.

MATERIAL E MÉTODOS

A revisão de literatura sobre própolis e metodologias microbiológicas empregadas no controle de qualidade foi realizada utilizando como referências livros, artigos científicos e legislação pertinente.

Ao todo, foram adquiridas três amostras de própolis utilizadas para as análises microbiológicas. Duas foram coletadas no município de Santa Helena, Paraná, por meio da Cooperativa Coofamel. A terceira amostra (Lote 001/19) proveniente do município de Caxambu, Minas Gerais, foi cedida pela empresa Apis Global localizada na cidade de Piracaia, São Paulo. As amostras foram pesadas e acondicionadas em pequenos sacos de armazenamento, cada qual contendo aproximadamente 10 g, embalados a vácuo e armazenados em freezer a -8 °C.

A preparação das amostras seguiu a metodologia presente no Anexo I e Anexo V da Instrução Normativa SDA n. 62 de 26 de agosto de 2003 com algumas adaptações. A amostra, previamente congelada, foi retirada do freezer e deixada dentro de um recipiente protetor sobre a bancada até que a mesma atingisse temperatura ambiente. Em seguida, em outro recipiente, 5 g da amostra foram pesadas e diluídas com 45 mL de solução salina peptonada 0,1%, de modo que a diluição final da mistura seja de 1:10 ou 10^{-1} . Para realizar as diluições subsequentes, a um tubo de ensaio contendo 9 mL de solução salina peptonada 0,1% foi adicionada 1 mL da diluição de 10^{-1} , assim, a diluição final é de 10^{-2} . Para preparação da diluição de 10^{-3} repetiu-se o processo, porém tomando 1 mL da

diluição de 10^{-2} . Importante dizer que nem todos os testes exigiu preparação de três diluições, sendo essas feitas somente quando necessário (BRASIL, 2003).

Os protocolos para execução das metodologias foram elaborados conforme dados da literatura científica. As análises microbiológicas para a determinação do número de mesófilos, bolores e leveduras, coliformes totais e termotolerantes, pesquisa de *Escherichia coli*, *Salmonella spp*, *Pseudomonas spp* e *Staphylococcus aureus* não foram realizadas especialmente devido a pandemia do COVID-19, considerando que desde meados de março a Universidade começou a tomar medidas de restrição de acesso e foi gerada muita insegurança.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

REVISÃO DE LITERATURA SOBRE PRÓPOLIS

A própolis, desde tempos antigos, apresenta propriedades interessantes que o faz presente em diversas aplicações humanas. Antisséptico, antimicótico, bacteriostático, antiinflamatório, anestésico e antioxidante são algumas das propriedades que tornam a própolis tão interessante. Infelizmente, devido a crescente resistência dos microrganismos frente aos antibióticos, cada vez mais precisa-se de novos produtos com capacidade antimicrobiana. A própolis possui essa atividade como já foi comprovado em outros trabalhos (DOS SANTOS, 2003).

Além das características apresentadas, a própolis também é bem conhecida por algumas propriedades farmacológicas como por exemplo antisséptico, cicatrizante e desinfetante bucal. Diversos cosméticos possuem própolis em sua composição devido as propriedades que apresenta (CASTALDO & CAPASSO, 2002). A própolis tem ajudado na prevenção de doenças do coração, diabetes, câncer, etc. Alguns dos problemas tratados incluem mau hálito, infecções de garganta, úlceras e infecções urinárias. No mercado há uma vasta lista de produtos com própolis em sua composição: condicionadores, xampus, sabonetes, batons, balas, chás, protetores solar, gel pós-barba, pomada e afins (DOS SANTOS, 2003).

O Brasil se destaca na produção internacional de própolis, como sendo o terceiro país que mais produz, ficando atrás da Rússia e China. Devido as condições climáticas do país, a própolis brasileira é capaz de ser produzida o ano todo enquanto que em outros países a produção fica presa aos meses de primavera e verão (LISBOA & RECKZIEGEL, 2020). A própolis mais conhecida no Brasil é a própolis verde. Estima-se que 92% da própolis consumida no Japão é de origem brasileira (RICARDO, 2020). Estima-se que o Brasil produza cerca de 100 toneladas anuais de própolis verde, sendo que 80% desse volume vem do estado de Minas Gerais (MATIAS, 2020). Por outro lado, apesar do estado do Paraná também produzir própolis verde (APISBRASIL, 2020), seu nível não se assemelha ao de Minas Gerais, dando indicativo de que apesar do alto valor agregado do produto, esse não tem recebido a devida atenção na região.

PROTOSCOLOS PARA METODOLOGIAS MICROBIOLÓGICAS EMPREGADAS NO CONTROLE DE QUALIDADE

Controle de qualidade. A partir do momento que se deseja comercializar um determinado produto, é imprescindível que esse produto atenda aos requisitos de qualidade impostos pela legislação de modo que não apresentem riscos ao consumidor. Uma vasta gama de microrganismos é capaz de utilizar alimentos como substrato para se multiplicarem de modo que ao fazerem, produzem toxinas que causam riscos à saúde. As análises microbiológicas são utilizadas a fim de avaliar a qualidade de um alimento assim como mostrar contaminações indicando possíveis falhas no processo produtivo ou de armazenamento (RICARDO, 2020). Um dos métodos mais comuns para quantificar e verificar presença de microrganismos em dada amostrada é a contagem em placas. Essa técnica é capaz de verificar a presença de vários microrganismos como mesófilos aeróbios, bolores, leveduras e bactérias lácticas. O processo é simples e prático, consistindo na inoculação das amostras em meio sólido (ágar) presentes em placas de Petri, seguido de incubação em temperatura ideal até verificar crescimento. A técnica é versátil, uma vez que permite variar a composição do meio sólido a fim de selecionar qual microrganismo vai crescer (SILVA, 2017).

Mesófilos. Para verificar a presença de mesófilos nas amostras, é necessário inicialmente preparar Ágar PCA (*Plate Count Agar*) e esteriliza-lo em autoclave a 121 °C por 15 min. Em seguida, verte-se aproximadamente 15 mL do ágar em placas de Petri estéreis e as mesmas são deixadas para secar até solidificar o meio. Tendo solidificado, as placas vão para uma BOD sendo incubadas a 36 °C por 24 h a fim de verificar quaisquer possíveis contaminações que possam gerar um teste falso positivo. Após verificado nenhuma contaminação acidental, 1 mL de cada diluição é adicionado na superfície do ágar e semeado com alça de Drigalski. Por fim, as placas são incubadas de forma invertida a 36 °C por 48 h. Passado esse tempo é então verificado se houve crescimento nas placas (BRASIL, 2003). O processo deve ser realizado em triplicata para cada diluição.

Bolores e Leveduras. Inicialmente, se faz necessário preparar Ágar DG-18 conforme instruções do fabricante. Após ter sido preparado, o recipiente contendo o ágar é levado até autoclave a 121 °C por 15 min a fim de esterilizar o meio. Finalizado a esterilização, o meio é deixado esfriar até aproximadamente 46 °C para em seguida adicionar 1,5 mL de ácido tartárico 10% (para cada 100 mL) com objetivo de tornar o pH do meio 3,5. Em seguida, o conteúdo é despejado nas placas de Petri (estéreis) e deixadas para secar. Após solidificação, as placas são incubadas a 28 °C por 24 h para verificar quaisquer possíveis contaminações acidentais. Não havendo, 0,1 mL de cada diluição é pipetada sobre a superfície do ágar e espalhada pela placa utilizando uma alça de Drigalski. As placas são então incubadas a 28 °C por 5 a 7 dias (BRASIL, 2003).

Pseudomonas spp. Seguindo a metodologia para preparo de amostra, é preparado uma diluição de 10^{-1} com a amostra de própolis. Em seguida, são preparados 100 mL de Caldo de Caseína-Soja de acordo com o fabricante. Em um recipiente separado, 10 mL da diluição preparada deve ser diluída em 90 mL do caldo. O conteúdo é então incubado a 32,5 °C por 24 h. Passado o tempo de incubação, uma alçada do seu conteúdo é inoculada em placa de Petri contendo Ágar Cetrimida (processo realizado em triplicata). As placas são então incubadas a 32,5 °C por 72 h. Passado o tempo, é verificado o crescimento. Se ocorreu crescimento, uma alçada de colônia bem definida é selecionada para realizar teste de oxidase a fim de confirmar a presença de *Pseudomonas*. Para isso, a colônia deve ser espalhada sobre uma tira para teste de oxidase e o resultado

verificado. Importante dizer que as placas de Petri, o ágar e o caldo devem ser esterilizados em autoclave a 121 °C por 15 min.

Teste presuntivo para coliformes totais. A partir da amostra de própolis são realizadas as três diluições conforme protocolo já detalhado. Em um frasco separado, prepara-se Caldo Lauril Sulfato Triptose (LST) e o autoclava por 15 min a 121 °C. Em seguida, o caldo deve ser colocado em tubos de ensaio e para cada tubo de ensaio um tubo de Durham. As diluições são então inoculadas, em triplicata, nos tubos contendo caldo LST. Os tubos são levados a incubadora por 24 h a 35 °C. Após o tempo de incubação, verifica-se formação de gás nos tubos de Durham (BRASIL, 2003).

Teste confirmatório de coliformes totais. Para o teste em questão, devem ser preparados tubos contendo Caldo Verde Brilhante Bile 2% (VB). O número de tubos preparados depende da quantidade de tubos com resultado positivo no teste presuntivo. De cada tubo com resultado positivo do teste anterior, inocula-se uma alçada desse em um tubo contendo Caldo VB. Os tubos são então incubados a 35 °C por 24 h a fim de verificar produção de gás nos tubos (BRASIL, 2003). Antes de ser colocado nos tubos de ensaio, o caldo deve ser autoclavado por 15 min a 121 °C.

Teste confirmatório de coliformes termotolerantes. De forma similar ao teste anterior, foi preparado tubos contendo Caldo *Escherichia coli* (EC). Para cada tubo dado como positivo no teste presuntivo, uma alçada foi inoculada em um tubo contendo o Caldo EC. Por fim, os tubos foram incubados a 45 °C por 24 h com objetivo de verificar turvação do meio e produção de gás nos tubos (BRASIL, 2003). Caldo EC foi autoclavado a 121 °C por 15 min.

Teste confirmativo para *E. coli*. Em um Erlenmeyer prepara-se Ágar L-EMB e seu conteúdo deve ser autoclavado por 15 min a 121 °C. Após, o ágar é despejado em placas de Petri (esterilizadas) e deixadas para secar. A partir de tubos com resultado positivo para teste confirmatório de coliformes termotolerantes, é inoculado uma alçada de cada tubo para cada placa contendo o ágar. As placas são incubadas a 35 °C por 24 h. Passado o tempo de incubação, verifica-se se houve crescimento do microrganismo em questão (BRASIL, 2003).

***Salmonella*.** Inicialmente, a partir da metodologia já descrita, prepara-se a diluição de 10⁻¹. A seguir, com objetivo de pré-enriquecer a amostra, a diluição já preparada é incubada a 36 °C por cerca de 16 h. Em seguida, é preparado Caldo Rapaport e o mesmo distribuído em tubos de ensaio previamente esterilizados. Depois, pipeta-se 0,1 mL da amostra pré-enriquecida para os tubos contendo o caldo. Os tubos são então incubados a 41 °C, em banho maria, por 24 h. Após passado a incubação, para dar continuidade, deve ser preparado Ágar XLD e distribuído em placas de Petri (esterilizadas) e deixadas para secar. Faz-se então o repique da amostra inoculada no caldo para as placas contendo o ágar. As placas são incubadas de forma invertida a 36 °C por 24 h (BRASIL, 2003). Importante dizer que tanto o caldo quanto o ágar devem ser autoclavados por 15 min a 121 °C.

Após realizado o procedimento anterior, se faz necessário realizar uma série de testes bioquímicos a fim de confirmar a presença de *Salmonella* na amostra. Inicialmente, as colônias que cresceram nas placas contendo Ágar XLD são repicadas em ágar não-seletivo e incubadas por 24 h a 36 °C com objetivo de

verificar a pureza (BRASIL, 2003). Posteriormente, devem ser realizados os testes de urease, TSI, lisina descarboxilase, motilidade e oxidase.

Staphylococcus aureus. Para realizar a contagem e verificação de *S. aureus* é inicialmente realizado, a partir da amostra de própolis, uma diluição de 10^{-1} conforme metodologia já descrita. Em seguida, adiciona-se o conteúdo da diluição a outro frasco contendo a mesma quantidade de Caldo Trypticase de Soja (TSB) previamente preparado e em concentração dobrada. O conteúdo é então incubado a 35 °C por cerca de 3 h. Passado esse tempo, são adicionados ao frasco anterior mais 100 mL de Caldo TSB contendo 20% de Cloreto de Sódio (NaCl) e seu conteúdo incubado a 35 °C por 24 h. Para dar sequência, é preparado Ágar Baird-Parker (BP) e esse distribuído por igual em placas de Petri previamente esterilizadas. As placas são então incubadas a 35 °C por 24 h a fim de verificar quaisquer contaminações. Passado esse tempo de incubação, são inoculadas 0,1 mL nas placas contendo Ágar BP e as mesmas são incubadas a 35 °C por 48 h. Em seguida, faz-se necessário preparar Caldo *Brain Heart Infusion* (BHI) e distribuir o conteúdo preparado em tubos de ensaio esterilizados. Então, são selecionadas colônias típicas crescidas no Ágar BP e tais colônias são inoculadas nos tubos contendo Caldo BHI. As placas são incubadas a 35°C por 6 horas. Importante dizer que todos os ágares utilizados e os caldos devem ser esterilizados em autoclave a 121 °C por 15 min. Para finalizar a análise é necessário a realização de dois testes adicionais: teste de coagulase e o teste de catalase.

Após o preparo das amostras, não foi possível dar continuidade às análises de controle de qualidade devido à pandemia do COVID-19.

CONCLUSÃO

A demanda pela própolis vem crescendo, uma vez que sua utilização nos mais diversos fins também, tornando-o um produto com alto valor agregado, atraindo cada vez mais atenção dos produtos de diversas regiões.

Pelas propriedades da própolis dependerem da época de coleta e principalmente da flora da região, essas variam em diversos locais do Brasil. Entretanto, apesar da diferente composição da própolis coletada nas regiões de Minas Gerais e das coletadas na região oeste do Paraná, ambos apresentam propriedades muitíssimas interessantes, incluindo, antibacterianas, antifúngicas, antioxidantes. O estado do Paraná, por possuir a maior produção nacional de mel, deveria, frente a tais informações e estudos, demonstrar mais interesse na produção da própolis, visto que ao o fazer estaria obtendo um produto de alto valor agregado sem a necessidade de grandes mudanças no processo produtivo. Tal produto poderia ser comercializado para o exterior, visto o grande interesse, ou até mesmo dentro no mercado nacional e ser assim utilizado nos mais diversos produtos. Além disso, novos estudos podem ser conduzidos visando descobrir novas aplicações ou aperfeiçoar as já existentes, contribuindo com vastos benefícios na saúde, estética e alimentação.

AGRADECIMENTOS

À Fundação Araucária pela bolsa concedida para realização deste projeto.

REFERÊNCIAS

AMOROS, M. et al. *In vitro* antiviral activity of propolis. **Apidologie**, v. 23, p. 231-240, 1992.

APISBRASIL. **Os principais tipos de própolis do Brasil**. Disponível em: <https://apisbrasil.com.br/2020/post/37/os-principais-tipos-de-propolis-do-brasil>. Acesso em: 08 jul. 2020.

BANKOVA, V., KRASSTVA, G. B., POPOV, S., SFORCIN, J.M., FUNARI, S. R. C. Seasonal variations of the chemical composition of Brazilian propolis. **Apidologie**, v. 29, n. 4, p. 361-367, 1998.

BRASIL. **Instrução Normativa SDA n. 62 de 26 de agosto de 2003**. Anexo I – Métodos analíticos oficiais para análises microbiológicas para controle de produtos de origem animal e água. 26 ago. 2003.

BRASIL. **Instrução Normativa SDA n. 62 de 26 de agosto de 2003**. Anexo V – Procedimentos para preparo, pesagem e descarte de amostras. 26 ago. 2003.

BURDOCK, G. A. Review of the Biological Properties and Toxicity of Bee Propolis. **Food and Chemical Toxicology**, v. 36, p. 347-363, 1998.

CARVALHO, A. C. F. B. et al. Presença de microrganismos mesófilos, psicrotróficos e coliformes em diferentes amostras de produtos avícolas. **Arquivos do Instituto Biológico**. São Paulo, v. 72, n. 3, p. 303-307, 2005.

CASTALDO, S., CAPASSO, F. Propolis, an old remedy used in modern medicine. **Fitoterapia**, v. 73, p. 1-6, 2002.

DE VARGAS, A. C. et al. Atividade antimicrobiana “in vitro” de extrato alcóolico de própolis. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 34, n. 1, p.159-163, 2004.

DOS SANTOS, C. R. et al. Otimização do processo de extração de própolis através da verificação da atividade antimicrobiana. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Curitiba, v. 13, p. 71-74, 2003.

EMATER. **Própolis verde: produto mineiro atrai mercado internacional**. Disponível em: <https://summitagro.estadao.com.br/propolis-verde-produto-mineiro-atrai-mercado-internacional/>. Acesso em: 08 jul. 2020.

LISBOA, S., RECKZIEGEL, T. **Própolis: benefícios de um remédio promissor.** Disponível em: <https://saude.abril.com.br/alimentacao/o-que-e-propolis-beneficios/>. Acesso em: 08 jul. 2020.

MAKSIMOVA-TODOROVA, V. et al. Antiviral effects of some fractions isolated from propolis. **Acta Microbiologica Bulgarica**, v. 17, p. 79-85, 1985.

MARCUCCI, M. C. Propolis: chemical composition, biological properties and therapeutic activity. **Apidologie**, França, v. 26, p.83-99, 1995.

MARCUCCI, M. C. Propriedades biológicas e terapêuticas dos constituintes químicos da própolis. **Química Nova**, São Paulo, v. 19, n. 5, p. 529-536, 1996.

MATIAS, I. **Agricultores investem em planta nativa com propriedades terapêuticas.** Disponível em: <http://g1.globo.com/economia/agronegocios/noticia/2015/07/agricultores-investem-em-planta-nativa-com-propriedades-terapeuticas.html>. Acesso em: 08 jul. 2020.

PARANÁ (Estado). AGRICULTURA. **Mel do Paraná se destaca pela qualidade na produção.** Disponível em: <http://www.aen.pr.gov.br/modules/noticias/article.php?storyid=105037>. Acessado em: 08 jul. 2020.

PEREIRA, A. dos S. et al. Própolis: 100 anos de pesquisa e suas perspectivas futuras. **Química Nova**, São Paulo, v. 25, n. 2, p. 321-326, 2002.

RICARDO, P. **O aquecido mercado de própolis no Brasil.** Disponível em: <https://www.diariox.com.br/economia/o-aquecido-mercado-de-propolis-no-brasil/18875/>. Acesso em: 08 jul. 2020.

SILVA, N., JUNQUEIRA, V. C. A., SILVEIRA, N. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e água.** São Paulo: Blucher, 2017. 560 p.

TOSI, B. et al. Antimicrobial Activity of Some Commercial Extracts of Propolis Prepared with Different Solvents. **Phytotherapy Research**, v. 10, n. 4, p. 335-336, 1996.