

CROMATOGRAFIA PREPARATIVA EM CAMADA DELGADA: COMPARATIVO ENTRE PLACA DE SÍLICA GEL E GIZ

PREPARATIVE CHROMATOGRAPHY IN THIN LAYER: COMPARISON BETWEEN SILICA GEL PLATE AND CHALK

CROMATOGRAFÍA PREPARATIVA EN CAPA FINA: COMPARACIÓN ENTRE PLACA DE GEL DE SÍLICE Y TIZA

Pedro Henrique Fonseca Veloso

Doutorando em Biotecnologia pelo Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia. Universidade Estadual de Montes Claros (Unimontes). E-mail: pedrofonsecambc@gmail.com | orcid.org/0000-0003-2802-1244

Veronica de melo Sacramento

Doutorando em Biotecnologia pelo Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia. Universidade Estadual de Montes Claros (Unimontes). E-mail: veronica.sacramento.2014@gmail.com | orcid.org/0000-0002-5956-1457

Vanessa de Andrade royo

Docente do Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia. Universidade Estadual de Montes Claros (Unimontes). E-mail: vanroyo31@gmail.com | [Orcid.org/0000-0002-4842-3569](https://orcid.org/0000-0002-4842-3569)

RESUMO:

A cromatografia preparativa é um método empregado na purificação de substâncias, no qual, com o uso de uma fase móvel compatível com o que se espera separar, purifica-se substâncias, ou separam-se compostos de uma classe. O uso de materiais alternativos, como o giz pode proporcionar uma experiência investigativa no ensino de ciências, por possuir pouco valor agregado o giz pode ser usado como fase estacionária e com o emprego de fases móveis adequadas, pode proporcionar a experiência científica para alunos dos mais variados graus de ensino. O objetivo do presente trabalho foi realizar a técnica da cromatografia preparativa de pigmentos vegetais comparando o giz e a sílica, comparando os resultados obtidos. Para realizar a pesquisa, utilizou-se o extrato de folhas de goiaba, que foram cromatografadas, os pigmentos isolados e novamente eluídos em uma placa de cromatografia em camada delgada. Os resultados obtidos revelam que a sílica possui melhor separação dos compostos, contudo o giz possui uma boa separação, e pode ser aplicado em sala de aula como atividade exploratória e interativa. Concluímos que a atividade é eficiente no que ela se propõe, demonstrando os fundamentos básicos da técnica e como pode ser aplicado no ambiente acadêmico.

PALAVRAS-CHAVE: Cromatografia preparativa; Pigmentos vegetais; Purificação

ABSTRACT:

Preparative chromatography is a method employed in the purification of substances, in which, with the use of a mobile phase compatible with what is expected to separate, substances are purified, or compounds of a class are separated. The use of alternative materials, such as chalk can provide an investigative experience in science teaching, because it has little added value chalk can be used as a stationary phase and with the use of appropriate mobile phases, can provide scientific experience for students of the most varied levels of education. The objective of the present work was to perform the technique of preparative chromatography of plant pigments comparing chalk and silica, comparing the results obtained. To carry out the research, we used the extract of guava leaves, which were chromatographed, the pigments isolated and again eluted in a thin layer chromatography plate. The results obtained reveal that silica has better separation of compounds, however chalk has a good separation, and can be applied in the classroom as an exploratory and interactive activity. We conclude that the activity is efficient in what it proposes, demonstrating the basic fundamentals of the technique and how it can be applied in the academic environment.

KEYWORDS: Preparative chromatography; Plant pigments; Purification

RESUMEN:

La cromatografía preparativa es un método empleado en la purificación de sustancias, en el que, con el uso de una fase móvil compatible con lo que se espera separar, las sustancias se purifican o se separan compuestos de una clase. El uso de materiales alternativos, como la tiza puede proporcionar una experiencia investigativa en la enseñanza de la ciencia, ya que tiene poco valor agregado la tiza puede ser utilizada como una fase estacionaria y con el uso de fases móviles apropiadas, puede proporcionar experiencia científica para estudiantes de los más variados niveles de educación. El objetivo del presente trabajo es realizar la técnica de cromatografía preparativa de pigmentos vegetales comparando tiza y sílice, comparando los resultados obtenidos. Para llevar a cabo la investigación, utilizamos el extracto de hojas de guayaba, que fueron cromatografiadas, los pigmentos aislados y nuevamente eluidos en una placa de cromatografía de capa delgada. Los resultados obtenidos revelan que la sílice tiene una mejor separación de los compuestos, sin embargo, la tiza tiene una buena separación, y se puede aplicar en el aula como una actividad exploratoria e interactiva. Concluimos que la actividad es eficiente en lo que propone, demostrando los fundamentos básicos de la técnica y cómo se puede aplicar en el entorno académico.

Palabras clave: Cromatografía preparativa; Pigmentos vegetales; Purificación

INTRODUÇÃO

A cromatografia em camada delgada (CCD) é uma técnica usada para separação de misturas, que pode ser executada em placas de vidro, plástico ou alumínio, revestida com uma fase estacionária adsorvente, como sílica, óxido de alumínio ou celulose (BELE; KHALE, 2011). É amplamente utilizada na análise de alimentos, composição química e detecção de diversas classes de metabólitos secundários (CABEZUDO et al., 2022). É uma técnica de adsorção líquido-sólido, em que a separação ocorre por meio da migração diferencial em uma camada de adsorvente (fase estacionária) por meio de um solvente (fase móvel) (AMORIM, 2019). A separação pode ocorrer por partição ou troca iônica, guiada pela diferença da afinidade dos componentes da mistura pela fase estacionária. É uma técnica econômica, realizada com pequenas quantidades de amostras, costumeiramente em miligramas ou microgramas. A revelação dos componentes eluidos pode ser realizada de forma física (luz UV) e química (reagentes específicos) (BELE; KHALE, 2011).

A cromatografia em camada delgada preparativa, é uma metodologia semelhante a CCD tradicional, com diferença nas concentrações da fase estacionária depositada na placa cromatográfica. Comumente o material de adsorção mais utilizado é a sílica, mas pode ser óxido de alumínio, celulose, sílica gel modificada com ciano, C-18, entre outros, e uma base planar como vidro ou alumínio (RABEL; SHERMA, 2017).

A técnica se baseia na aplicação da amostra, concentrada em menor ou maior volume, com auxílio de um capilar, pipeta pasteur de vidro ou aplicadores diversos já relatados por Hayward, Mader e Trant (2022). A

amostra deve ser depositada de forma uniforme, em linha reta em toda extensão inferior da placa, evitando o alargamento da linha de aplicação.

O solvente ou mistura de solventes que vão compor a fase móvel devem ser direcionados a eluição dos componentes da amostra em questão. Em plantas por exemplo, a escolha deve ser direcionada ao tipo de metabólito, primário ou secundário, e a classe que a substância pertence. No qual leva-se em considerações características específicas do analito que irá eluir com base na polaridade da fase móvel ou outras características atribuídas aos solventes (POOLE, 2023).

Desta forma após a eluição é possível visualizar, em luz visível ou ultravioleta (UV), as bandas das substâncias, bem como removê-las com cuidado para posterior isolamento e análises. É uma técnica de purificação comum em química orgânica, amplamente utilizada em laboratórios, além de possibilitar um processo altamente educativo e visualizável, útil para aulas práticas e teóricas mais avançadas, no qual é possível colocar o ensaio em prática (PRIMDAHL et al., 2022).

É amplamente utilizada em aulas práticas de graduação, nas áreas das ciências biológicas, químicas e farmacêuticas, devido a diversidade de usos e aplicações. O que possibilita pesquisas básicas e rápidas, bem como complexas e direcionadas, como a separação de pigmentos ou isolamento de substâncias puras em misturas ou extratos vegetais. Devido ao número de materiais bibliográficos disponíveis, como atlas e livros, algumas análises não precisam necessariamente de padrões, uma vez que as metodologias são direcionadas ao isolamento e detecção de substâncias conhecidas e fatores de retenção já relatados.

Além das informações já relatadas acima, a técnica em si necessita do preparo da placa tanto para a metodologia preparativa, bem como da própria cromatografia em camada delgada, e os materiais utilizados, nem sempre estão a disposição para alunos e professores. Parte disso relacionado diretamente aos recursos financeiros, uma vez que a sílica e a sílica com detecção UV não possuem valores acessíveis a todos os públicos. Desta forma, elaborar uma metodologia que compreenda o princípio da técnica com materiais alternativos, pode possibilitar a realização de atividades práticas nessa temática, em conjunto com amostras ou analitos que podem ser observados sem a necessidade de luz UV e reveladores químicos.

O objetivo do presente estudo é propor o uso de giz escolar como material alternativo para o ensaio da cromatografia em camada delgada preparativa, utilizando o extrato da folha da goiaba como fonte dos pigmentos vegetais. Comparar os resultados alcançados com o giz e a sílica, abordando os resultados obtidos após a eluição.

METODOLOGIA

Obtenção do extrato vegetal

Cerca de 25 g de folhas de goiaba (*Psidium guajava* Linnaeus) adultas e saudáveis foram lavadas em água corrente e secas com papel toalha. Em seguida o material vegetal fresco foi triturado com auxílio de graal e pistilo. Adicionou-se uma mistura de 25mL de hexano: acetona: acetato de etila (60:40:5) por duas vezes, para a extração máxima dos pigmentos. O extrato obtido foi concentrado até a alíquota de 15mL.

Preparo da placa para cromatografia preparativa

A placa cromatográfica preparativa foi preparada com sílica gel 60, dissolvida em água destilada na proporção estimada de 1,5g de sílica para 1mL de água em um béquer. Foram utilizadas placas de vidro planas nas proporções de 3 cm x 8 cm, previamente lavada com água e sabão, secas e banhadas em álcool etílico 70%, para remoção de gorduras e resíduos que poderiam interferir na aderência da sílica na placa. As placas do tamanho referido receberam cerca de 1,5g de sílica cada.

Etapa 1: eluição inicial

Com auxílio de um capilar foi depositado o extrato obtido sobre toda a extensão inferior da placa cromatográfica, a 0,5 centímetros da borda inferior, por três vezes. O mesmo procedimento foi realizado no giz. O sistema de fase móvel (FM) empregado foi hexano: acetona: acetato de Etila (60:40:5), em cuba cromatográfica previamente saturada com a FM.

Etapa 2: separação dos pigmentos

Após a primeira eluição foi observada a presença de regiões com cores distintas na placa e giz. Com auxílio de uma espátula retirou-se as áreas da placa e do giz que continham os pigmentos, os quais foram separados em erlenmeyers, cada qual identificado a origem (placa e giz) e cor.

Para os pigmentos que se encontravam mais distantes da base, foi utilizado 7,5 mL hexano como solvente para despendar o pigmento do adsorvente (sílica e gipsita) levando em consideração a baixa polaridade da FM. Em contrapartida, os que ficaram mais próximos da base, foi utilizado 7,5 mL de acetona como solvente. Os elenmayers foram agitados vigorosamente para promover a homogeneização do solvente e extração dos pigmentos adsorvidos nas fases estacionárias. Os sobrenadantes foram coletados, concentrados e acondicionados em microtúbulos de 2 mL.

Etapa 3: segunda eluição

Para avaliação do isolamento dos pigmentos, uma placa de alumínio pré-revestida com sílica gel 60, de 0,2 mm espessura, com um indicador

fluorescente F 254 (Macherey-Nagel/Düren-Alemanha) na proporção de 14x10 cm foi utilizada.

Com auxílio de capilares, foi depositado 30-50 uL do conteúdo das substâncias na parte inferior da placa, seguindo os códigos da parte superior, relativos os pigmentos foram isolados da placa com sílica e do giz. O extrato puro foi depositado na primeira marcação da placa, uma vez que este é a referência. A placa de sílica foi colocada na cuba cromatográfica, e eluída com a FM hexano: acetona: acetato de etila (60:40:5). Os resultados obtidos foram avaliados.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Etapa 1: eluição inicial

Foi possível a verificação da formação de bandas de pigmentos, com maior resolução na placa de cromatografia preparativa, que foi utilizada a sílica como fase estacionária. No giz foi possível observar a presença de bandas com menor resolução. Foi possível a observação de seis bandas na placa com sílica em ordem: amarelo-escuro, cinza, verde-azulado, verde folha, amarelo e amarelo. No giz foi observado as bandas, em ordem: amarelo-escuro, cinza, amarelo, amarelo e verde (Fig.1).

Figura 1 – Eluição inicial dos pigmentos das folhas de *Psidium guajava*.



(A) Placa cromatográfica com sílica; (B) Giz escolar.

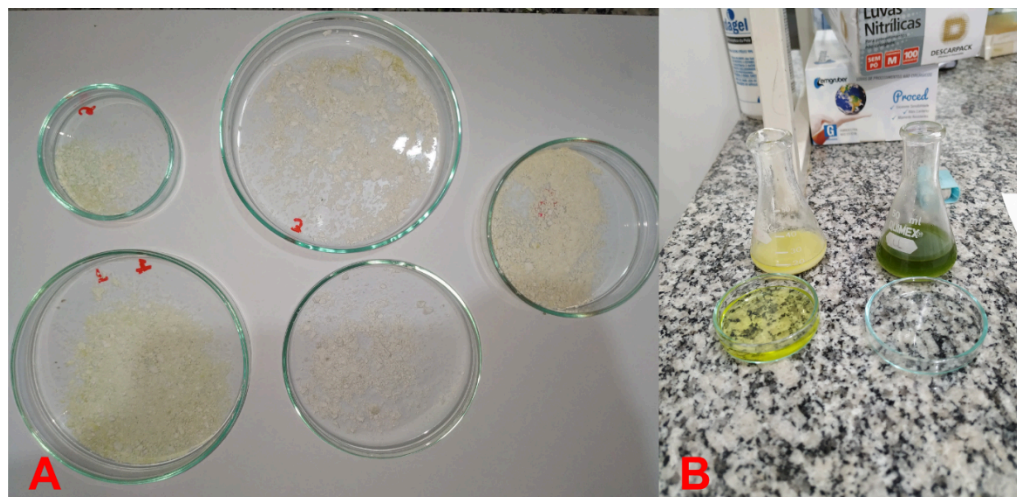
Fonte: Elaborado pelos autores

Etapa 2: separação dos pigmentos:

Após a eluição inicial foram raspadas as partes com os pigmentos adsorvidos, transferidos para elemayers, para melhor visualização foram colocadas as raspagens em placas de Petri (Fig. 2). Após a adição dos solventes as cores ascenderam revelando os pigmentos. O sobrenadante de cada elemayer

foi transferido para uma placa de Petri para que ocorresse a volatilização do solvente e consequentemente a concentração da amostra (Fig. 2).

Figura 2 – Processo de purificação dos pigmentos.

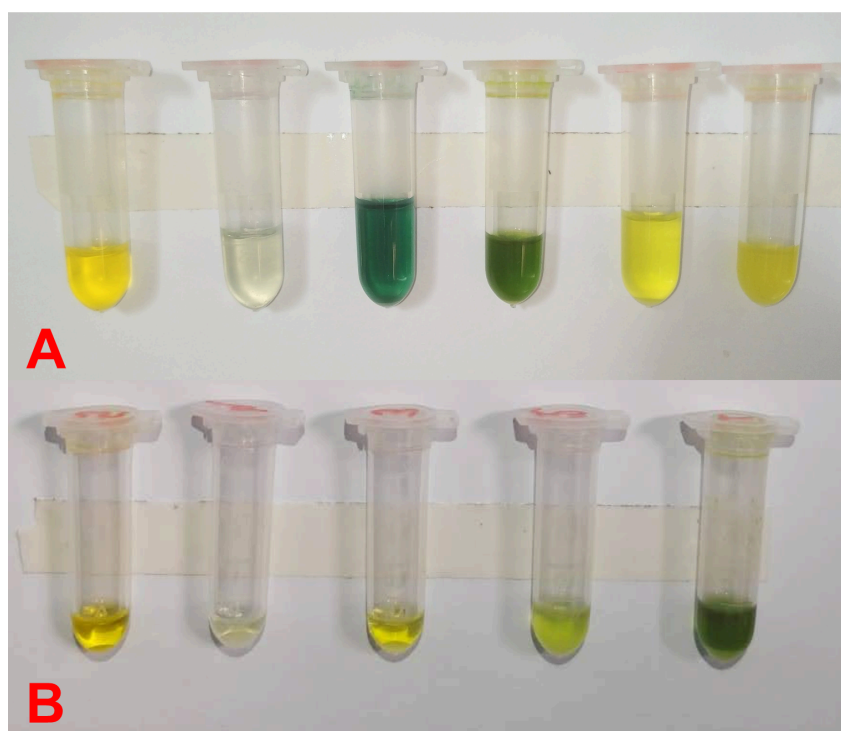


(A) Raspas dos pigmentos adsorvidos em fase estacionária; (B) Solubilização dos pigmentos em solvente.

Fonte: Elaborado pelos autores

Os pigmentos purificados e concentrados foram transferidos para microtúbulos previamente identificados (Fig. 3)

Figura 3 – Pigmentos purificados e armazenados em microtúbulos.



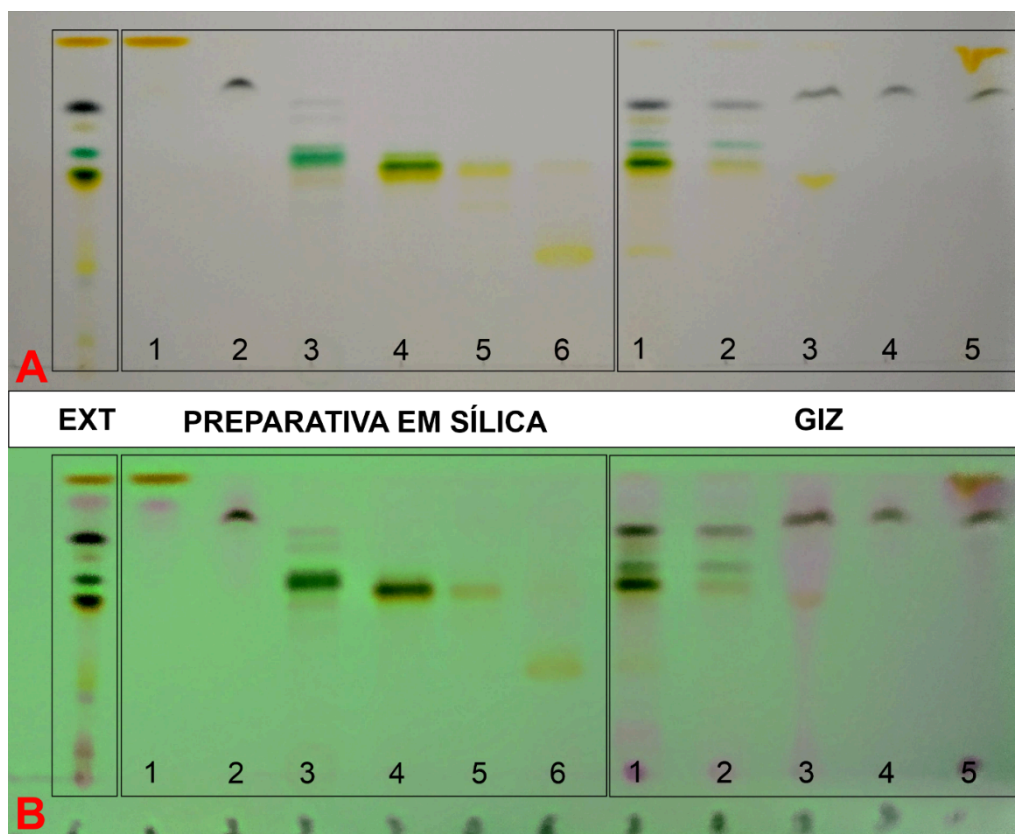
(A) Pigmentos isolados da sílica; (B) Pigmentos isolados do giz.

Fonte: Elaborado pelos autores

Etapa 3: segunda eluição:

A eluição final em cromatografia em camada delgada, revelou que a placa de sílica possui melhor índice de separação, contudo mesmo que o giz não conseguiu separar todos os pigmentos de forma efetiva, separou o pigmento de cor cinza e o amarelo-escuro (Fig. 4). Quando submetida a luz UV 254 nm, a placa revelou pontos de substâncias indetectáveis a olho nu, essas mais bem definidas na cromatografia preparativa (sílica), do que no giz, no qual houve um arraste da base da placa até o topo da placa, sem regiões concentradas e com boa resolução. As substâncias detectadas no UV 254 nm parecem estar mais concentradas nos pontos 1, 3 e 5, da eluição dos pigmentos do giz, quando comparadas com os pontos 1 e 2 da eluição com a sílica (Fig. 4).

Figura 4 – Cromatografia em camada delgada dos pigmentos isolados da sílica e giz.



(A) Visualização a olho nu; (B) Visualização em luz UV 254nm.

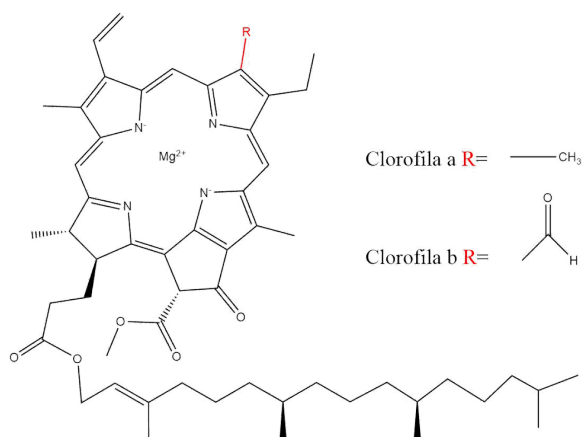
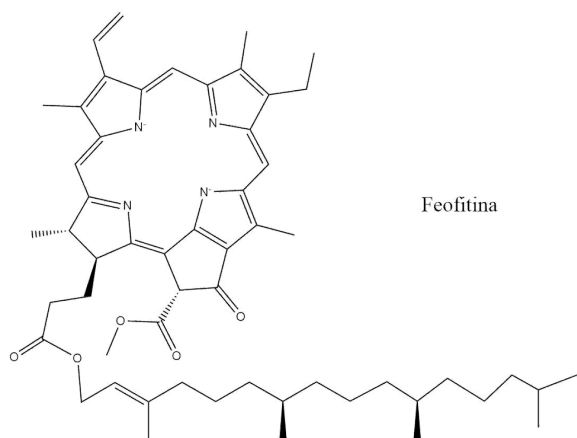
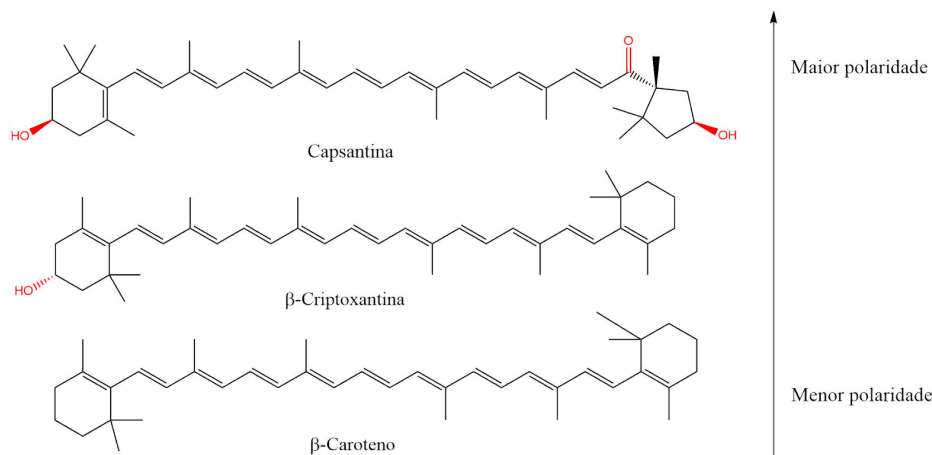
Fonte: Elaborado pelos autores

A investigação comparativa entre a sílica e o giz, se deu pela necessidade de explorar materiais alternativos que possam ser utilizados em sala de aula, contribuindo de forma efetiva para aulas práticas que buscam a investigação de elementos do cotidiano como peças-chave do ensino-aprendizagem. A busca por materiais alternativos que supram, pelo menos, parte da necessidade de materiais mais complexos, e financeiramente mais difíceis de serem adquiridos pode tornar ações práticas mais fáceis de serem reproduzidas. Além da possibilidade da melhor integração dos conhecimentos com elementos presentes no cotidiano social dos discentes, como exemplos visíveis e táteis, promovendo proximidade com a atividade realizada (VELOSO et al., 2022). Não há a necessidade real de promover um experimento complexo com múltiplos passos em busca da perfeição, mas sim de demonstrar para os espectadores e participantes quais são as ferramentas para que possa chegar em um resultado plausível, e ainda sim demonstrar que existem percalços e barreiras que devem ser superados.

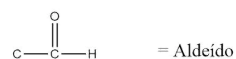
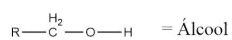
A atividade realizada buscou como foco principal a separação de pigmentos presentes nas folhas de goiaba, árvore presente na região norte do estado de Minas Gerais, próximo a realidade dos alunos da região. Então trabalhar com algo comum de forma investigativa pode gerar um maior interesse nos envolvidos na atividade. Possibilitando uma visão real do que é trabalhado em teoria, de forma prática.

Sabe-se que os pigmentos vegetais são essenciais para o desenvolvimento das plantas, possuindo como principal função a captação da luz solar que por meio de processos fotoquímicos e bioquímicos suprem a necessidade de energia (BLANKENSHIP, 2002; SIMKIN et al., 2022; DARKO et al., 2023). Esses pigmentos são separados em grupos, os mais importantes são as clorofilas e os carotenos, as clorofilas exercendo funções essenciais no processo fotossintético e os carotenos atuando como pigmentos acessórios (BUTNARIU, 2023; COOPERSTONE; SCHWARTZ, 2024). Essas classes de pigmentos ainda podem ser divididas em grupos mais específicos como a clorofila A e B, e os carotenoides entre carotenos e xantofilas. Além dos compostos já descritos, a feofitina, molécula de clorofila sem o núcleo de magnésio (TSBEKMITOVA; FEDOROV, 2022), foi separado durante o processo de eluição. Mudanças estruturais definem as características básicas destes pigmentos, sejam eles radicais metila (-CH₃) ou até mesmo a presença de grupos funcionais como álcoois, aldeídos e cetonas na estrutura. Como nos carotenoides que a simples presença de hidroxilas (OH) é capaz de aumentar a polaridade de uma molécula que originalmente possui baixa polaridade, como os carotenos que são hidrocarbonetos e as xantofilas que são derivados oxigenados dos carotenos (KISPERT; FOCSAN et al., 2023). Essas características descritas acima podem ser visualizadas na figura 5.

Figura 5 – Carotenoides, carotenoides oxigenados, feofitina e clorofilas.



Funções orgânicas presentes nas moléculas

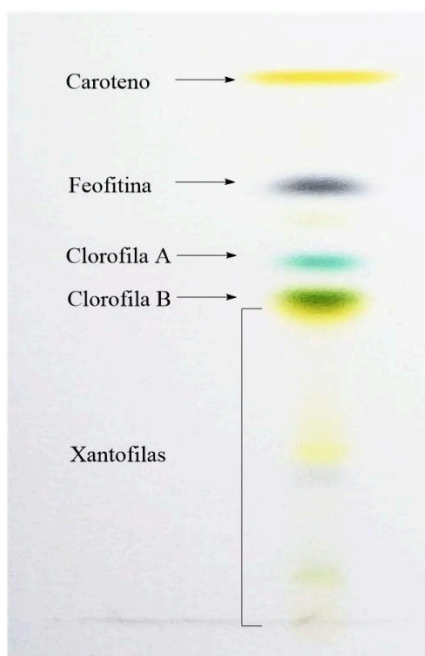


Fonte: Elaborado pelos autores

No experimento realizado, evidenciado no presente trabalho, foi empregado uma fase móvel composta pela mistura de solventes hexano, acetato de etila e acetona, respectivamente em ordem de menor polaridade para maior polaridade, o que propiciou a eluição eficiente na separação dos

pigmentos. Os pigmentos com menor polaridade foram eluídos até o topo, enquanto os mais polares ficaram adsorvidos mais próximos da base. Já em relação aos pigmentos amarelos, citados anteriormente nos resultados, a hipótese é que esses pigmentos pertencem a classe dos carotenoides, e que as bandas situadas em diferentes posições na placa podem indicar a presença de funções orgânicas oxigenadas, como álcool e cetona, o que consequentemente deixa a substância com maior polaridade. O pigmento cinza, feofitina, presente em ambos os materiais, e já relatado na literatura em cromatografia em camada delgada de extratos vegetais (SJURSNEs; KVITTINGEN; SCHMID, 2014). Seguido dos pigmentos verde azulado correspondente a clorofila A, e o verde correspondente a clorofila B. A indicação de cada grupo de pigmentos pode ser observada na imagem apresentada na figura 6.

Figura 6 – Eluição dos pigmentos vegetais e a indicação dos grupos correspondentes.



Fonte: Elaborado pelos autores

A busca por materiais alternativos, tem sido explorada na tentativa de minimizar os custos associados as atividades educacionais, bem como na redução de materiais que podem causar impacto ambiental negativo caso não manuseadas de maneira correta. O giz escolar, por exemplo, uma mistura de sulfato de cálcio (CaSO_4), água (H_2O) e carbonato de cálcio (CaCO_3), já foi utilizado como estratégia similar, contudo com pré-processamento para transformá-lo em pó para posteriormente aplicação em suporte de alumínio, feito a partir de embalagem de refrigerante enlatado (ROCHA et al., 2020). Isso é, sustentabilidade em sala de aula.

Outros relatos do uso da CCD em aulas práticas, como separação de pigmentos de flores de *Papaver somniferum*, *Catharanthus roseus* e *Tecoma stans* como estratégia de ensino de química, junto a questionários de avaliação de aprendizagem, como forma de medir o conhecimento direcionado antes e após a aula prática (TRINDADE et al., 2021). Além disso, outros trabalhos que fazem o uso de videoaula instrutiva como ferramenta de aprendizagem, sobre a CCD aborda temas diretamente relacionados como o bom uso da técnica, associado a técnicas de revelação e erros mais comuns na realização da técnica (RIBEIRO et al., 2015).

Apesar do sucesso da prática, em termos de isolamento e visualização das substâncias, o processo pode ser demorado, necessitando de até 180 minutos para a realização, outro ponto, como disponibilidade de solventes podem impactar na realização da atividade, e respectivamente no resultado.

Com os dados obtidos, especialmente o isolamento de alguns pigmentos, a perspectiva esperada é a realização da cromatografia em coluna clássica, na busca da obtenção um volume maior de material isolado, para análise mais detalhada, como o volume em miligrama por grama de isolado por grama de folha fresca, e ensaios como avaliação da capacidade antioxidante.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Conclui-se que o material alternativo utilizado no experimento atende as necessidades previstas em aula prática, no qual é possível observar a migração dos pigmentos ao longo da estrutura do giz, além da separação de cores, que mesmo em baixa resolução é possível defini-las. Além de ser um produto encontrado facilmente em estabelecimentos de ensino e em locais que comercializam materiais escolares, junto a isso o baixo valor agregado faz deste, alternativa viável para aplicações educacionais, dentro da realidade de cada escola ou universidade.

Agradecimentos

À equipe de pesquisadores. Ao apoio recebido pelo Laboratório de Produtos Naturais (LPN-Unimontes) e a Universidade Estadual de Montes Claros.

Referências Bibliográficas

- AMORIM, Antônia Fádia Valentim. **Métodos Cromatográficos**. 1. Ed. Editora da Universidade Estadual do Ceará – EdUECE. Fortaleza. 2019.
- BELE, Archana A.; KHALE, Anubha. An overview on thin layer chromatography. **International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research**, v. 2, n. 2, p. 256, 2011.
- BLANKENSHIP, Robert E. **Molecular Mechanisms of Photosynthesis**. [S. l.]: Wiley, 19 Dec. 2002. DOI 10.1002/9780470758472.

BUTNARIU, Monica. **Metabolic Engineering for Carotenoids Enrichment of Plants**. Plants as Bioreactors for Industrial Molecules. [S. l.]: Wiley, 3 Feb. 2023. DOI 10.1002/9781119875116.ch7.

CABEZUDO, Ignacio; SALAZAR, Mario O.; RAMALLO, I. Ayelen; FURLAN, Ricardo L.E. Effect-directed analysis in food by thin-layer chromatography assays. **Food Chemistry**. [S. l.]: Elsevier BV, Oct. 2022. DOI 10.1016/j.foodchem.2022.132937.

COOPERSTONE, J.L.; SCHWARTZ, S.J. **Insights into the health benefits of carotenoids**. Handbook on Natural Pigments in Food and Beverages. [S. l.]: Elsevier, 2024. DOI 10.1016/b978-0-323-99608-2.00023-9.

DARKO, Eva; GONDOR, Kinga O.; KOVÁCS, Viktória; JANDA, Tibor. **Changes in the light environment: Short-term responses of photosynthesis and metabolism in spinach**. **Physiologia Plantarum**. [S. l.]: Wiley, Aug. 2023. DOI 10.1111/ppl.13996.

HAYWARD, John J.; TRANT, John F.; MADER, Lavleen. Giving Preparative Thin-Layer Chromatography Some Tender Loving Care. **Synthesis**. [S. l.]: Georg Thieme Verlag KG, 8 Feb. 2022. DOI 10.1055/a-1766-2416.

KISPERT, Lowell D.; FOCSAN, Ligia. Chemistry of Carotenoid Radicals and Complexes. [S. l.]: **WORLD SCIENTIFIC**, 26 Nov. 2023. DOI 10.1142/9789811278358_0001.

POOLE, Colin F. Solvent selection and method development for thin-layer chromatography. **Instrumental Thin-Layer Chromatography**. [S. l.]: Elsevier, 2023. DOI 10.1016/b978-0-323-99970-0.00006-5.

PRIMDAHL, Karoline Gangestad; HANSEN, Frederik André; SOLUM, Eirik Johansson; NOLSØE, Jens Mortansson Jelstrup; AURSNES, Marius. Introduction to Preparative Chromatography: Description of a Setup with Continuous Detection. **Journal of Chemical Education**. [S. l.]: American Chemical Society (ACS), 12 May 2022. DOI 10.1021/acs.jchemed.1c00917.

RABEL, Fred; SHERMA, Joseph. Review of the state of the art of preparative thin-layer chromatography. **Journal of Liquid Chromatography and Related Technologies**. [S. l.]: Informa UK Limited, 25 Feb. 2017. DOI 10.1080/10826076.2017.1294081.

RIBEIRO, Carlos Magno R; VALVERDE, Alessandra Leda; RIBEIRO, Mariana M. J.; SOUZA, Thiago S. G.; FAGUNDES, Thayssa S. F.; BITTENCOURT, Livia B.; DUTRA, Karen D. B.; EPIFANIO, Rosângela de A. A Videoaula “Cromatografia em Camada Delgada” e a Motivação da Aprendizagem nas Disciplinas Experimentais de Química Orgânica dos Cursos de Química, Engenharia Química e Farmácia da UFF. **Revista Virtual de Química**, v. 7, n. 3, p. 1030-1055, 2015.

ROCHA, L.P.; MARTINS, A.F.; LIMA, D.S.; SILVA, G.M.; SOUZA, R.M.; ROMANO, T.C.; FERNANDES, J.R.R.; REIS, J.D.D.; YAMAGUCHI, K.KL. Cromatografia: Uso de materiais alternativos para o ensino de separações Químicas. **Rev. Ens. Sa. Biotec. Amaz.**, v. 2, n.2, p. 10-20, 2020.

SIMKIN, Andrew J.; KAPOOR, Leepica; DOSS, C. George Priya; HOFMANN, Tanja A.; LAWSON, Tracy; RAMAMOORTHY, Siva. The role of photosynthesis related pigments in light harvesting, photoprotection and enhancement of photosynthetic yield in planta. **Photosynthesis Research**. [S. l.]: Springer Science and Business Media LLC, 22 Jan. 2022. DOI 10.1007/s11120-021-00892-6.

SJURSNES, B. J.; KVITTINGEN, L.; SCHMID, R. Normal and Reversed-Phase Thin Layer Chromatography of Green Leaf Extracts. **Journal of Chemical Education**. [S. l.]: American Chemical Society (ACS), 17 Oct. 2014. DOI 10.1021/ed400519v.

TRINDADE, Ívina Thayná Miranda; YAMASHITA, Elione Fernanda Ribeiro; SILVA, Larissa Pereira da; SOUZA, Elson Almeida de; CORREA, Geone Maia; CARMO, Dominique Fernandes de Moura do. APRENDENDO QUÍMICA NO ENSINO MÉDIO ATRAVÉS DA SEPARAÇÃO DE PIGMENTOS POR CROMATOGRAFIA EM CAMADA DELGADA /

LEARNING CHEMISTRY IN HIGH SCHOOL THROUGH SEPARATION OF PIGMENTS BY THIN-LAYER CHROMATOGRAPHY. **Brazilian Journal of Development**, 2021. DOI 10.34117/bjdv7n1-204.

TSYBEKMITOVA, Gazhit; FEDOROV, Igor. Photosynthetic activity of plankton in saline lakes under climatic fluctuations conditions. (A. Muratov & S. Khasanov, eds.). **E3S Web of Conferences**. [S. l.]: EDP Sciences, 2023. DOI 10.1051/e3sconf/202337101091.

VELOSO, Pedro Henrique Fonseca; FONSECA, Maria Cecília Afonso; DUARTE, Maria Eduarda Novais; RODRIGUES, Sara Emanuelle Ribeiro; CARDOSO FILHO, Otávio. Plano de Estudo Tutorado (Pet) como estratégia para o ensino não presencial: Uma avaliação na qualidade e aplicabilidade para o ensino de Ciências e Biologia. **Research, Society and Development**, 24 Apr. 2022. DOI 10.33448/rsd-v11i6.29124.