

Método de pré-tratamento de amostras para a prática forense: limpeza de ossos via digestão enzimática.

Elisangela S. Santos¹ (PG)*, Eliani Spinelli² (PQ), Francisco Radler de A. Neto¹ (PQ)
*elisapharma_souza@yahoo.com.br

¹Instituto de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), ²Faculdade de Farmácia, Universidade Federal Fluminense (UFF).

Palavras Chave: ossos, subtilisina, análise forense.

Introdução

A possibilidade de detecção de substâncias orgânicas em ossos representa uma importante alternativa para as análises químicas com finalidade forense. Matrizes biológicas como sangue e vísceras são comumente utilizadas na prática forense, porém sofrem rápida decomposição tornando-se indisponíveis algumas semanas após a morte. A medula óssea, por seu conteúdo lipídico e alta vascularização, pode conter até o dobro da concentração sanguínea de fármacos. Por estar protegida pela matriz óssea, a medula tem seu conteúdo preservado por um tempo maior, de meses ou anos, dependendo da estabilidade de cada substância¹.

A análise química de substâncias em medula óssea utilizando métodos como a CG-EM exige um criterioso pré-tratamento da matriz óssea. A literatura relata algumas formas de pré-tratamento dessa matriz biológica para estudos antropológicos, análise de DNA, e museologia. Porém, em nenhum desses casos a medula óssea deixa de sofrer a ação das substâncias utilizadas nos processos de limpeza². Os métodos empregados para a remoção dos tecidos moles e ligamentos geralmente utilizam água quente, detergentes, alvejantes, peróxido de hidrogênio ou insetos necrófagos². A utilização de alvejantes e peróxido de hidrogênio promove o consumo do cálcio presente no osso, colocando em risco a integridade da medula óssea. Já o uso de insetos e da maceração em água quente são processos lentos e conferem à amostra um odor extremamente desagradável. A escolha das melhores condições experimentais varia com a finalidade analítica. Para fins de análise química forense é indispensável que a medula óssea mantenha-se preservada.

Assim sendo, este estudo objetivou apresentar um método para o pré-tratamento de ossos por meio de digestão enzimática, utilizando a enzima subtilisina.

Metodologia

Inicialmente, foi realizado um criterioso planejamento objetivando a otimização dos experimentos. As condições experimentais consistiram em deixar os ossos imersos em uma solução de subtilisina em

tampão alcalino, a 60°C, variando a concentração da enzima e o tempo de reação. Após cada experimento, os ossos foram lavados com água destilada, secos à temperatura ambiente e submetidos a um processo de corte e fragmentação para viabilizar a coleta da medula óssea.

Resultados e Discussão

Os resultados indicaram que o procedimento executado foi eficaz para a limpeza externa da peça óssea (Figura 1).



Figura 1. Osso antes e após o processo de limpeza.

A utilização de solução enzimática para essa finalidade tem como principais vantagens a preservação da medula óssea e o menor tempo de execução. A enzima subtilisina foi escolhida devido ao seu alto poder proteolítico. Sob condições ideais de atividade, hidrolisou rápida e eficientemente os tecidos moles e conectivos deixando o osso devidamente limpo.

Conclusões

A digestão enzimática mostrou-se uma ferramenta bastante eficaz no processo de pré-tratamento de ossos para a análise química forense.

Agradecimentos

CNPq, FAPERJ, FUJB, por apoio financeiro.

¹ Stepensky, D.; Kleinberg, L. e Hoffman, A. *Clin. Pharmacokinet.* **2003**, 42, 863.

² Rennick, S. L.; Fenton, T. W e Foran, D. R. *J. Forensic Sci.* **2005**, 50, 1016.