

UNILEÃO  
CENTRO UNIVERSITÁRIO DOUTOR LEÃO SAMPAIO  
CURSO DE GRADUAÇÃO EM BIOMEDICINA

YASMIN THIALLY BENTO DA SILVA VITORINO

**COMPARAÇÃO DE MÉTODOS DE EXTRAÇÃO DE DNA EM AMOSTRAS  
BIOLÓGICAS EXPOSTAS A DIFERENTES CONDIÇÕES AMBIENTAIS EM  
FUNÇÃO DO TEMPO: aplicações em genética forense**

JUAZEIRO DO NORTE – CE  
2025

YASMIN THIALLY BENTO DA SILVA VITORINO

**COMPARAÇÃO DE MÉTODOS DE EXTRAÇÃO DE DNA EM AMOSTRAS BIOLÓGICAS EXPOSTAS A DIFERENTES CONDIÇÕES AMBIENTAIS EM FUNÇÃO DO TEMPO: aplicações em genética forense**

Trabalho de Conclusão de Curso – Artigo científico, apresentado à Coordenação do Curso de Graduação em Biomedicina do Centro Universitário Leão Sampaio, em cumprimento às exigências para a obtenção do grau de bacharel em Biomedicina.

**Orientador:** Me. Matheus Moura dos Santos

YASMIN THIALLY BENTO DA SILVA VITORINO

**COMPARAÇÃO DE MÉTODOS DE EXTRAÇÃO DE DNA EM AMOSTRAS BIOLÓGICAS EXPOSTAS A DIFERENTES CONDIÇÕES AMBIENTAIS EM FUNÇÃO DO TEMPO: APLICAÇÕES EM GENÉTICA FORENSE**

Trabalho de Conclusão de Curso – Artigo científico, apresentado à Coordenação do Curso de Graduação em Biomedicina do Centro Universitário Leão Sampaio, em cumprimento às exigências para a obtenção do grau de bacharel em Biomedicina.

**Orientador:** Me. Matheus Moura dos Santos.

**Data de aprovação:** \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

**BANCA EXAMINADORA**

Prof.º Orientador: Me. Matheus Moura dos Santos

Prof.ª Examinador 1: Dra. Priscilla Ramos Freitas Alexandre

Prof.ª Examinador 2: Dr. Plinio Bezerra Palácio

**COMPARAÇÃO DE MÉTODOS DE EXTRAÇÃO DE DNA EM AMOSTRAS BIOLÓGICAS EXPOSTAS A DIFERENTES CONDIÇÕES AMBIENTAIS EM FUNÇÃO DO TEMPO: aplicações em genética forense**

Yasmin Thially Bento da Silva Vitorino<sup>1</sup>  
Matheus Moura dos Santos<sup>2</sup>

**RESUMO**

O presente estudo tem como objetivo comparar diferentes métodos de extração de DNA aplicados a amostras biológicas expostas a distintas condições ambientais e avaliadas em diferentes intervalos de tempo, considerando parâmetros de quantidade do material genético obtido. Para isso, foi realizado um estudo experimental laboratorial do tipo *in vitro*, de abordagem quantitativa e caráter comparativo, através de análises laboratoriais de extração e quantificação dos ácidos nucleicos, oriundos de amostras de sangue, sêmen e músculo suíno. Foram escolhidas as metodologias de Dodecil sulfato de sódio (SDS), *Salting out* com proteinase K e Kit comercial da *Invitrogen*. A avaliação do grau de pureza e quantificação do material genético isolado foi obtida no espectrofotômetro de microvolume *NanoDrop*. Os resultados obtidos ao longo dos 45 dias de exposição das amostras biológicas evidenciaram de forma clara o impacto do tempo e das condições ambientais sobre a quantidade de DNA. Em todas as matrizes analisadas, observou-se uma tendência de redução progressiva da concentração de DNA, especialmente nas amostras mantidas em ambiente externo, onde fatores como radiação ultravioleta, variações térmicas e umidade aceleram o processo de degradação molecular. Além disso, em relação à eficácia dos protocolos escolhidos, foi observado que o método de *Salting out* apresentou melhor desempenho nas amostras de sangue e músculo, enquanto o método SDS mostrou-se mais eficiente na extração de DNA proveniente de sêmen. Logo, estes resultados corroboram achados da literatura, que apontam que a estabilidade do DNA está diretamente relacionada às condições de armazenamento e ao tipo de amostra biológica.

**Palavras chave:** Ácidos nucleicos. Espectrofotômetro. Protocolos. Quantificação.

**ABSTRACT**

The present study aims to compare different DNA extraction methods applied to biological samples exposed to distinct environmental conditions and evaluated at different time intervals, considering parameters related to the quantity of genetic material obtained. To achieve this, an *in vitro* experimental laboratory study with a quantitative and comparative approach was conducted through laboratory analyses of nucleic acid extraction and quantification from blood, semen, and porcine muscle samples. The methodologies selected were Sodium Dodecyl Sulfate (SDS), *Salting Out* with proteinase K, and a commercial kit from *Invitrogen*. The assessment of purity and quantification of the isolated genetic material was performed using a *NanoDrop* microvolume spectrophotometer. The results obtained over the 45-day exposure period of the biological samples clearly demonstrated the impact of time and environmental conditions on DNA quantity. In all analyzed matrices, a progressive reduction in DNA concentration was observed, particularly in samples kept in outdoor environments, where factors such as ultraviolet radiation, temperature fluctuations, and humidity accelerate molecular degradation

---

<sup>1</sup> Discente do curso de Biomedicina, yasminvitorinox@gmail.com - Centro Universitário Leão Sampaio

<sup>2</sup> Docente do curso de Biomedicina, matheusmoura@leaosampaio.edu.br - Centro Universitário Leão Sampaio

processes. Additionally, regarding the efficiency of the selected protocols, the Salting Out method showed superior performance in blood and muscle samples, whereas the SDS method proved more effective for extracting DNA from semen. Thus, these findings corroborate previous literature, which indicates that DNA stability is directly related to storage conditions and the type of biological sample.

**Keywords:** Nucleic acids. Spectrophotometer. Protocols. Quantification.

## 1 INTRODUÇÃO

A biologia molecular é a ciência que estuda a estrutura e a função do material genético, especialmente as proteínas, que são os produtos de sua expressão. Essa área tem como principal objetivo investigar todas as interações que ocorrem com o ácido desoxirribonucleico (DNA), desde a formação do ácido ribonucleico (RNA) até a síntese de proteínas. Além disso, a biologia molecular é um campo de estudo bastante abrangente, pois integra conhecimentos de bioquímica, biologia celular e genética (Fruehwirth; Delai; Folha, 2015).

Diante dos princípios da biologia molecular, uma de suas principais aplicações encontra-se na subárea das ciências forenses, a genética forense. Esta, por sua vez, dedica-se ao estudo de amostras e vestígios biológicos com finalidade judicial, utilizando técnicas como a extração do DNA, a Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) e a eletroforese. Esta última técnica permite a comparação de moléculas de DNA, com o objetivo de identificar similaridades e possíveis relações de parentesco (Cardoso *et al.*, 2021).

Os vestígios biológicos presentes em uma cena de crime são elementos fundamentais para a resolução dos casos que estão sendo investigados. Esses vestígios podem incluir sangue, ossos, dentes, cabelo, saliva, tecidos mumificados, tecidos congelados e líquido amniótico. Em alguns casos, essas amostras são encontradas em quantidades mínimas, por isso, é necessário adotar medidas corretivas a fim de evitar o desperdício do material, o que poderia comprometer sua posterior análise (Silva; Frangiosa, 2018).

Tendo isso em vista, o DNA deve ser coletado, acondicionado e manipulado com critérios rigorosos e restritos, a fim de que, em análises posteriores, sejam produzidos resultados desejados e fidedignos. Isso se deve ao fato de que se trata de um material de fácil degradação e contaminação, o qual pode sofrer alterações provocadas por interferentes, como a exposição à luz solar, temperaturas elevadas, umidade e reagentes químicos (Silva; Ventura, 2020).

Em virtude das inúmeras amostras que são fontes de material genético, não existem protocolos fixos para a extração de DNA, uma vez que o isolamento de material genético com qualidade e em quantidade adequada exige uma escolha criteriosa do método de extração. Isso

ocorre porque esses métodos sofrem variações de acordo com o tipo de amostra utilizada. Ademais, as adequações nessas metodologias visam à criação de protocolos menos dispendiosos, mais rápidos e que, ao mesmo tempo, mantenham a qualidade e o rendimento do material isolado (Martins; Barbosa, 2020).

Diante disso, o presente estudo objetivou comparar diferentes métodos de extração de DNA aplicados a amostras biológicas expostas a distintas condições ambientais e avaliadas em diferentes intervalos de tempo, considerando parâmetros de quantidade do material genético, bem como as características físicas observadas, a fim de identificar metodologias mais eficazes e aplicáveis à Genética Forense e à investigação pericial.

## **2 DESENVOLVIMENTO**

### **2.1 MATERIAIS E MÉTODOS**

#### **2.1.1 Tipo de estudo**

Trata-se de um estudo experimental laboratorial do tipo *in vitro*, de abordagem quantitativa e caráter comparativo, que visa avaliar a influência de diferentes condições ambientais e protocolos de extração na quantidade do DNA obtido a partir de diferentes amostras biológicas.

#### **2.1.2 Local e período dos testes**

As extrações foram realizadas no Laboratório Multidisciplinar do Centro Universitário Doutor Leão Sampaio (UNILEÃO), localizado no município de Juazeiro do Norte – CE, já as quantificações foram realizadas na Universidade Federal do Ceará (UFC), no período de Agosto a Outubro de 2025.

#### **2.1.3 Amostras biológicas**

Foram utilizadas três diferentes amostras biológicas: sangue, músculo de suíno e sêmen. A seleção dessas amostras se baseia em sua relevância na prática da genética forense, uma vez que são frequentemente encontradas em cenas de crime e possuem potencial para fornecer DNA de boa qualidade.

O sangue é uma das principais fontes de DNA devido à facilidade de coleta e à elevada quantidade de células nucleadas presentes. O sêmen também é amplamente utilizado em investigações forenses, especialmente em casos de violência sexual, sendo rico em material

genético. Já o músculo de suíno foi escolhido como modelo por apresentar características fisiológicas semelhantes ao tecido muscular humano, sendo uma alternativa viável, ética e amplamente utilizada em estudos laboratoriais experimentais.

As amostras foram submetidas a dois ambientes distintos, um ambiente interno e um externo, com o objetivo de avaliar o impacto das condições ambientais na qualidade, integridade e quantidade do DNA extraído ao longo do tempo. Os intervalos definidos para análise foram de 0 (controle), 15, 30 e 45 dias.

As amostras destinadas ao ambiente interno foram mantidas em uma sala sem ventilação direta, com temperatura ambiente controlada e ausência de luz solar direta. Esse ambiente simula um cenário de crime em espaços internos, como residências, apartamentos ou estabelecimentos comerciais. Já as amostras alocadas no ambiente externo foram expostas diretamente à luz solar, variações de temperatura e umidade, vento e demais fatores ambientais. Esse ambiente visa simular cenas de crime em locais abertos, como ruas, terrenos baldios ou áreas de mata.

A quantidade utilizada para extração de cada amostra foi padronizada, sendo pipetados 50 µL das amostras de sangue e sêmen, e para o músculo foi pesado 0,1 gramas do tecido. A padronização foi feita para que a quantidade amostral não interferisse nos resultados de extração dos materiais, avaliando assim, somente a eficácia dos métodos em decorrência do nível de degradação das amostras.

## **2.1.4 Métodos de extração de DNA**

### *2.1.4.1 Método por Salting-out com proteinase K*

A metodologia baseou-se no procedimento descrito por Abrão *et al.* (2005).

### *2.1.4.2 Método Dodecil Sulfato de sódio (SDS)*

A metodologia baseou-se no procedimento descrito por Júnior *et al.* (2017).

### *2.1.4.3 Método Kit comercial Invitrogen*

A metodologia baseou-se no procedimento descrito pelo manual do fabricante.

## **2.1.5 Avaliação do DNA extraído**

### **2.1.5.1 Quantificação por Espectrofotometria**

A quantificação dos ácidos nucleicos isolados foi obtida no Nanoespectrofotômetro *NanoDrop*<sup>®</sup> 2000 da *Thermo Scientific* da Universidade Federal do Ceará (UFC). Para essa finalidade foram utilizados 2 µL de cada amostra. Sendo a pureza e concentração obtidas em  $A_{260}/A_{280}$  (Tabela 2, 3, 4 e 5).

### 2.1.6 Análise Estatística

As análises estatísticas foram conduzidas inicialmente por meio de estatística descritiva, com organização dos dados em tabelas e cálculo das médias das concentrações de DNA obtidas em cada combinação de amostra biológica, método de extração, ambiente e período de exposição. Os resultados foram apresentados em gráficos de tendência temporal, permitindo visualizar o comportamento do material genético ao longo dos 45 dias.

Para avaliar a dinâmica de degradação do DNA, foi aplicada uma modelagem de regressão exponencial decrescente, utilizando a equação:

$$y = a \cdot e^{-bx}$$

em que  $y$  corresponde à concentração de DNA (ng/µL),  $x$  ao tempo de exposição (dias),  $a$  à concentração inicial estimada e  $b$  à constante de degradação. A partir desse modelo foram calculados o coeficiente de determinação ( $R^2$ ) e a meia-vida forense ( $t_{\{1/2\}}$ ), obtida por:

Essa modelagem foi aplicada separadamente a cada tipo de amostra (sangue, sêmen e músculo suíno), em ambiente interno e externo, e para cada método de extração, respeitando-se os casos em que os dados permitiam ajuste matemático confiável. Todas as análises foram realizadas com abordagem quantitativa e foco comparativo para identificar padrões de degradação e desempenho dos protocolos de extração.

### 2.1.7 Aspectos éticos

O projeto de pesquisa foi submetido à Plataforma Brasil sendo avaliado e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Centro Universitário Doutor Leão Sampaio (UNILEÃO), conforme as diretrizes da Resolução nº 466/2012 do Conselho Nacional de Saúde.

## 2.2 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 2.2.1 Avaliação características físicas das amostras

A seguir, tabela dos resultados comparativos das características físicas observadas nas amostras de sangue, sêmen e músculo suíno, em função do tempo e condições ambientais em que foram expostas.

**Tabela 1:** Características físicas das amostras nos 45 dias de exposição em ambiente interno e externo.

Período de tempo	Sangue	Sêmen	Músculo suíno
<b>0 dias (controle)</b>	Aparência e aspecto normais.	Aparência e aspecto normais.	Aparência e aspecto normais.
<b>15 dias</b>	Externo: Início formação de coágulos. Interno: Aparência e aspecto normais.	Externo: Início de aparência amarelada. Interno: Aparência e aspecto normais.	Externo: Início de decomposição e odor desagradável. Interno: Aparência normal, mas odor desagradável.
<b>30 dias</b>	Externo: Presença de coágulos e oxidação da amostra. Interno: Presença de coágulos e oxidação da amostra.	Externo: Aparência amarelada e aspecto viscoso. Interno: Aparência normal e aspecto viscoso.	Externo: Amostra esverdeada, sugestivo crescimento fúngico e odor desagradável. Interno: Início decomposição, aspecto esverdeado e odor desagradável.
<b>45 dias</b>	Externo: Amostra totalmente coagulada e oxidada, aspecto arenoso. Interno: Presença de coágulos grandes e oxidação da amostra.	Externo: Aparência amarela escura e aspecto viscoso. Interno: Aparência amarela clara e aspecto viscoso.	Externo: Amostra esverdeada, gosmenta sugestivo crescimento fúngico e odor desagradável. Interno: Amostra esverdeada, gosmenta, sugestivo crescimento fúngico e odor desagradável.

**Fonte:** Própria da autora, 2025.

As amostras apresentaram alterações em suas características físicas ao decorrer do tempo em que foram expostas de 15, 30 e 45 dias, o que comprova a influência das condições

ambientais nas características extrínsecas destas amostras, e como estas podem influenciar nas propriedades organolépticas de materiais biológicos diversos.

O sangue apresentou formação de coágulos, devido à ausência de anticoagulante, que possibilitaram os elementos sanguíneos responsáveis pela coagulação fazerem seu papel natural. Além disso, devido a exposição a condições ambientais diversas, como o ar, ocorreu a oxidação do sangue, isso porque o ferro ( $\text{Fe}^{2+}$ ) da hemoglobina reage com o oxigênio, transformando-se em ferro ( $\text{Fe}^{3+}$ ) ou férrico, que não se liga mais ao oxigênio. É a mesma reação que acontece quando o sangue seca ou quando o sangue da veia, com menos oxigênio, fica mais escuro (Khushbu; Shalika; Rashmi, 2017).

Por sua vez, o sêmen apresentou alterações apenas na coloração e viscosidade, sendo esta última característica, um processo inerente ao material assim que ele é ejaculado e encontra-se fora do organismo. Já em relação a cor amarelada após os 45 dias de exposição, o sêmen fica amarelado quando exposto ao ambiente, principalmente devido à oxidação de uma proteína chamada espermina, essa reação química é desencadeada devido à exposição ao ar (Achetib *et al.*, 2024).

Em relação ao músculo suíno, características como odor desagradável, mudança de coloração, presença de substância pegajoso, alteração na textura, todas estas são indicativas de decomposição da amostra. E ainda, em função das condições as quais foram expostas, algumas dessas alterações são sugestivas de crescimento de microrganismos, especialmente fungos.

Estas mudanças observadas comprovam que o tempo é um fator que influencia constantemente todas as células dos organismos vivos, inclusive após a morte, e determina enormemente a qualidade do material genético testado. Segundo Żarczyńska, M.; Żarczyński, P.; Tomsia. (2023), alguns fatores externos afetam a integridade do material genético, como luz (UV), umidade, temperatura, fungos e microrganismos. Logo, é extremamente importante compreender a influência de diversos fatores sobre o material genético, pois a realização de uma análise correta de DNA é vital para os representantes do sistema judiciário ao decidirem sobre a culpa ou inocência de alguém.

### **2.2.2 Avaliação da quantificação das amostras**

Em seguida, estão dispostos os resultados da análise de quantificação em espectrofotômetro *Nanodrop*, das amostras de sangue, sêmen e músculo suíno em função dos ambientes externo e interno nos períodos de controle (Tabela 2), com 15 dias (Tabela 3), 30 dias (Tabela 4) e 45 dias (Tabela 5).

**Tabela 2:** Rendimento dos ácidos nucleicos extraídos das amostras controle (Dia 0)

<b>Amostra</b>	<b><i>Salting Out</i> (ng/μL)</b>	<b>SDS (ng/μL)</b>	<b>Kit Comercial (ng/μL)</b>
<b>Sangue</b>	66,44	9,54	32,01
<b>Sêmen</b>	0	152,57	0,83
<b>Músculo Suíno</b>	1084,12	250,5	208,72

**Fonte:** Própria da autora, 2025.

No momento inicial do experimento (Dia 0), correspondente ao controle das amostras biológicas recém-coletadas, observou-se variação significativa nos rendimentos de DNA entre os diferentes métodos de extração. O método *Salting Out* apresentou a maior média de concentração, com destaque para a amostra de músculo suíno, que atingiu 1084,12 ng/μL, enquanto o sangue apresentou 66,44 ng/μL e o sêmen não apresentou rendimento detectável. Essa diferença pode ser atribuída à maior quantidade de células nucleadas e à robustez do tecido muscular, que favorece a obtenção de material genético mais concentrado nesse tipo de protocolo.

O método SDS, baseado na lise com detergente aniônico e precipitação proteica, apresentou resultados intermediários, com o sêmen alcançando 152,57 ng/μL, o músculo suíno 250,50 ng/μL e o sangue apenas 9,54 ng/μL. Esses valores indicam que o SDS foi mais eficiente na extração de DNA espermático, possivelmente pela capacidade do detergente em romper estruturas celulares compactas e resistentes.

Por sua vez, o kit comercial com colunas de sílica apresentou concentrações médias mais baixas em comparação aos demais métodos, embora tenha demonstrado desempenho mais equilibrado entre as matrizes. As concentrações foram de 32,01 ng/μL para o sangue, 0,83 ng/μL para o sêmen e 208,72 ng/μL para o músculo suíno. Apesar dos menores valores absolutos, esse método tende a fornecer DNA de maior pureza, uma vez que a etapa de ligação seletiva à sílica remove contaminantes que podem interferir em análises subsequentes.

De forma geral, os resultados do Dia 0 indicam que o método *Salting Out* proporcionou o maior rendimento total de DNA entre os protocolos testados, seguido pelo SDS e pelo kit comercial. Entretanto, a variabilidade entre os tipos de amostras reforça a importância de escolher o protocolo de extração mais adequado ao tipo de material biológico analisado, especialmente em contextos forenses, nos quais o DNA disponível pode apresentar quantidades e graus de integridade distintos.

**Tabela 3:** Rendimento dos ácidos nucleicos extraídos das amostras de 15 dias

Amostra	<i>Salting Out</i> (ng/uL)		SDS (ng/uL)		Kit Comercial (ng/uL)	
	Interno	Externo	Interno	Externo	Interno	Externo
<b>Sangue</b>	93,53	50,25	23,29	0	13,59	0,1
<b>Sêmen</b>	0	0	232,44	78,66	0	0
<b>Músculo Suíno</b>	383,18	287,8	2,67	119,3	126,01	29,85

Fonte: Própria da autora, 2025.

O método *Salting Out* manteve-se como o protocolo com os maiores rendimentos médios de DNA. Para o sangue, foram obtidos 93,53 ng/μL em ambiente interno e 50,25 ng/μL em ambiente externo. O músculo suíno apresentou valores superiores, com 383,18 ng/μL (interno) e 287,80 ng/μL (externo), reforçando a robustez do tecido muscular frente às condições ambientais. Já o sêmen não apresentou quantificação detectável, evidenciando a sensibilidade desse tipo de amostra à degradação e possíveis limitações do método para matrizes com baixa concentração inicial de células nucleadas.

No método SDS, os resultados mostraram maior rendimento para o sêmen interno (232,44 ng/μL), seguido pelo sêmen externo (78,66 ng/μL). Esse comportamento sugere que o SDS apresenta melhor desempenho na lise de células espermáticas, embora as condições externas tenham reduzido significativamente o rendimento. Para o sangue, as concentrações foram mais baixas (23,29 ng/μL no ambiente interno e ausência de DNA detectável no externo). O músculo suíno, por sua vez, apresentou 2,67 ng/μL internamente e 119,30 ng/μL externamente, indicando variação considerável entre as réplicas e possível influência de fatores ambientais, como umidade e temperatura.

O kit comercial com colunas de sílica resultou em valores modestos, com destaque para o músculo suíno interno (126,01 ng/μL), enquanto a mesma amostra em ambiente externo apresentou 29,85 ng/μL. O sangue apresentou 13,59 ng/μL (interno) e 0,10 ng/μL (externo), e o sêmen não apresentou quantificação detectável em ambos os ambientes. Esses resultados indicam que, embora o kit comercial seja eficiente em termos de pureza, seu rendimento é reduzido em amostras degradadas ou com baixa quantidade de material inicial.

**Tabela 4:** Rendimento dos ácidos nucleicos extraídos das amostras de 30 dias

Amostra	<i>Salting Out</i> (ng/uL)	SDS (ng/uL)	Kit Comercial (ng/uL)
---------	----------------------------	-------------	-----------------------

	Interno	Externo	Interno	Externo	Interno	Externo
<b>Sangue</b>	15,55	11,23	14,41	0	5,11	0
<b>Sêmen</b>	0	0	43,79	30,28	0	0
<b>Músculo Suíno</b>	75,64	196,1	2,64	250,1	13,52	55,2

**Fonte:** Própria da autora, 2025.

O método *Salting Out* apresentou desempenho moderado neste período. Para o sangue, foram observadas concentrações de 15,55 ng/μL (ambiente interno) e 11,23 ng/μL (ambiente externo), indicando perdas em relação aos 15 dias anteriores. As amostras de sêmen não apresentaram quantificação detectável, demonstrando degradação completa do DNA mensurável por este protocolo. No caso do músculo suíno, houve variação considerável entre os ambientes: 75,64 ng/μL em ambiente interno e 196,10 ng/μL em ambiente externo. Esse resultado sugere que, em determinadas condições, a ação de fatores ambientais pode facilitar a liberação de material genético, possivelmente pela lise celular promovida pela exposição à radiação solar e variações térmicas.

No método SDS, observou-se um comportamento distinto entre as matrizes. O sêmen manteve rendimentos detectáveis, com 43,79 ng/μL em ambiente interno e 30,28 ng/μL em ambiente externo, o que confirma que o SDS continua sendo o método mais eficiente para esse tipo de amostra, mesmo após 30 dias. O sangue apresentou valores mais baixos (14,41 ng/μL interno e 0 ng/μL externo), enquanto o músculo suíno revelou um contraste marcante entre ambientes: 2,64 ng/μL no interno e 250,10 ng/μL no externo. Essa discrepância na quantificação do DNA do músculo suíno pode ser atribuída à proliferação de microrganismos, especialmente fungos, observados visualmente na amostra externa, os quais podem ter contribuído para o aumento da concentração total de DNA detectada pelo espectrofotômetro. Nesse contexto, o valor elevado reflete não apenas o DNA do tecido original, mas também o DNA microbiano adicional, oriundo da decomposição ativa e da colonização fúngica.

Quanto ao kit comercial, as concentrações foram novamente menores que as observadas pelos métodos manuais. As amostras de sangue apresentaram 5,11 ng/μL (interno) e ausência de DNA detectável no ambiente externo. O sêmen não mostrou rendimento em nenhum dos ambientes, e o músculo suíno apresentou 13,52 ng/μL (interno) e 55,20 ng/μL (externo). Apesar dos baixos valores, a constância relativa entre as amostras sugere que o kit manteve uma recuperação estável, ainda que limitada pela quantidade e integridade do material disponível.

**Tabela 5:** Rendimento dos ácidos nucleicos extraídos das amostras de 45 dias

Amostra	<i>Salting Out</i> (ng/μL)		SDS (ng/μL)		Kit Comercial (ng/μL)	
	Interno	Externo	Interno	Externo	Interno	Externo
<b>Sangue</b>	10,36	0	9,68	0	2,76	0
<b>Sêmen</b>	0	0	37,52	0	0	0
<b>Músculo Suíno</b>	197,25	288,63	63,97	1146,09	111,9	291,29

Fonte: Própria da autora, 2025.

Após 45 dias de exposição, observou-se um declínio expressivo nas concentrações de DNA em praticamente todas as amostras e métodos, evidenciando o avanço do processo de degradação do material genético ao longo do tempo. A exceção mais notável ocorreu novamente nas amostras de músculo suíno expostas ao ambiente externo, nas quais foram detectadas concentrações elevadas de DNA, provavelmente associadas à intensa atividade microbiana e fúngica observada visualmente neste grupo.

O método *Salting Out* manteve resultados moderados para o sangue, com 10,36 ng/μL no ambiente interno e ausência de DNA detectável no externo. O sêmen não apresentou rendimento mensurável em ambos os ambientes, confirmando a completa degradação do material espermático após 45 dias. Já o músculo suíno apresentou valores consideráveis de 197,25 ng/μL (interno) e 288,63 ng/μL (externo), este último indicando novamente uma possível interferência da biomassa microbiana, que pode ter contribuído para o aumento aparente da concentração total de DNA, uma vez que o método *Salting Out* não diferencia o DNA do tecido original do DNA microbiano.

No método SDS, o comportamento foi semelhante. As amostras de sangue apresentaram 9,68 ng/μL no ambiente interno e ausência de DNA detectável no externo, enquanto o sêmen mostrou 37,52 ng/μL apenas em ambiente interno. O músculo suíno destacou-se com 63,97 ng/μL (interno) e um valor excepcionalmente elevado de 1146,09 ng/μL (externo), representando o maior rendimento observado em todo o experimento. Esse resultado, embora expressivo, é provavelmente decorrente da contaminação biológica intensa por fungos e bactérias, que adicionam DNA exógeno ao material extraído. Assim, o valor elevado não reflete a integridade do DNA original, mas sim uma soma entre DNA degradado e DNA de origem microbiana.

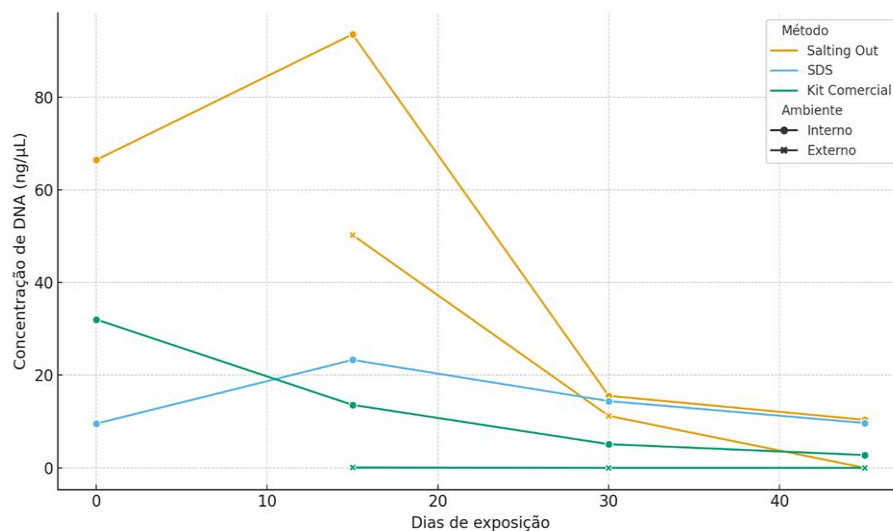
O kit comercial com colunas de sílica apresentou novamente os menores valores médios entre os métodos, com 2,76 ng/μL (sangue interno) e ausência de DNA nas demais amostras sanguíneas e de sêmen. Em contrapartida, o músculo suíno apresentou 111,90 ng/μL (interno) e 291,29 ng/μL (externo). Apesar da menor eficiência em amostras degradadas, o kit manteve um padrão de recuperação consistente e tende a gerar DNA de melhor pureza, o que o torna adequado para análises posteriores que demandam integridade molecular, como PCR.

Os resultados obtidos ao longo dos 45 dias de exposição das amostras biológicas evidenciaram de forma clara o impacto do tempo e das condições ambientais sobre a quantidade de DNA. Em todas as matrizes analisadas, observou-se uma tendência de redução progressiva da concentração de DNA, especialmente nas amostras mantidas em ambiente externo, onde fatores como radiação ultravioleta, variações térmicas e umidade aceleram o processo de degradação molecular.

Esses resultados corroboram achados da literatura, que apontam que a estabilidade do DNA está diretamente relacionada às condições de armazenamento e ao tipo de amostra biológica. De acordo com Naqvi *et al.* (2024) e Khorwal *et al.* (2024), tecidos mais densos, como músculo e ossos, oferecem maior proteção ao material genético, enquanto fluidos biológicos, como sangue e sêmen, sofrem degradação acelerada devido à ação de enzimas nucleases e microrganismos ambientais. Além disso, estudos forenses destacam que métodos manuais como *Salting Out* podem fornecer DNA em maior quantidade, porém com maior risco de coextração de contaminantes, enquanto kits comerciais geram DNA mais puro, mas em menor concentração (Barbaro, 2024).

A seguir, estão dispostos os gráficos de análises estatísticas, com a tendência temporal de concentração de material genético nas amostras analisadas, em função do ambiente e metodologia.

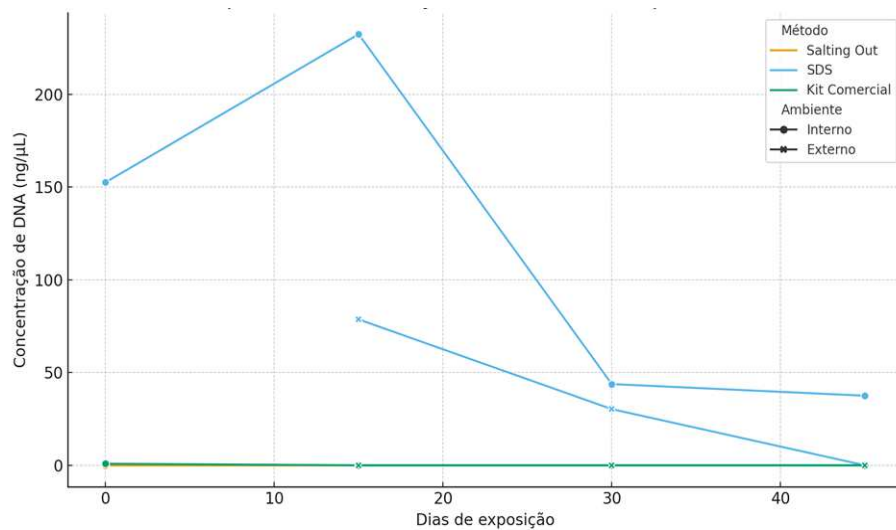
**Gráfico 1:** Tendência temporal da concentração de DNA no sangue por método e ambiente



**Fonte:** Própria da autora, 2025.

O método *Salting Out* apresentou os maiores rendimentos iniciais (Dia 0 e 15), com queda progressiva até o Dia 45. O método SDS teve desempenho intermediário, com valores estáveis até o Dia 30, mas perda total no ambiente externo a partir do Dia 15. Já o kit comercial manteve as menores concentrações, mas com comportamento mais regular. As amostras externas mostraram redução mais acentuada, chegando a valores nulos a partir de 30 dias.

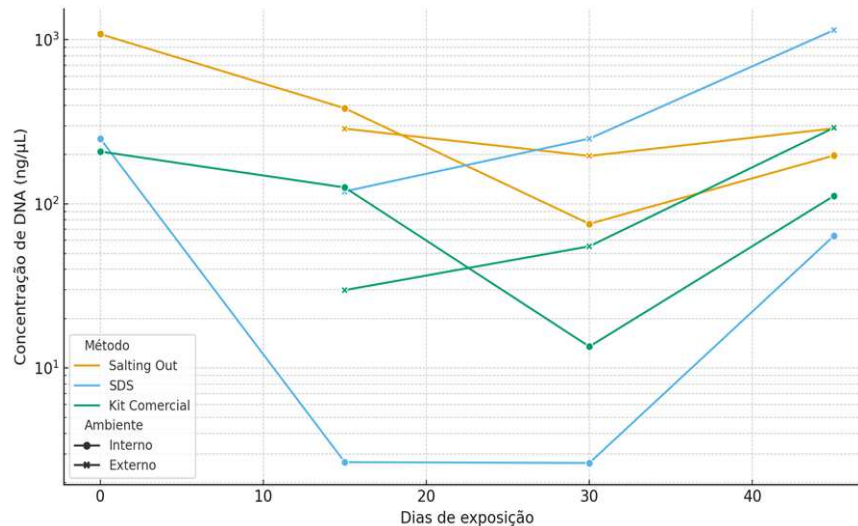
**Gráfico 2:** Tendência temporal da concentração de DNA no sêmen por método e ambiente



**Fonte:** Própria da autora, 2025.

O método SDS foi o único que apresentou rendimento significativo ao longo de todo o experimento, com pico em 15 dias no ambiente interno (232,44 ng/μL). O sêmen externo apresentou queda gradual, chegando à ausência total de DNA mensurável aos 45 dias, refletindo o impacto da exposição ambiental. O *Salting Out* e o kit comercial não apresentaram resultados detectáveis na maioria dos períodos, indicando baixa eficiência dessas metodologias para esse tipo de amostra. O comportamento do SDS confirma sua eficácia na lise de células espermáticas, mesmo em condições parcialmente degradadas.

**Gráfico 3:** Tendência temporal da concentração de DNA no músculo suíno por método e ambiente



**Fonte:** Própria da autora, 2025.

O músculo suíno apresentou as maiores concentrações de DNA em todo o experimento, sendo a matriz mais resistente à degradação. O método *Salting Out* teve o maior rendimento inicial (1084,12 ng/μL no Dia 0) e manteve valores expressivos até o Dia 45, especialmente no ambiente externo. O método SDS, embora mais variável, apresentou picos anormais em ambiente externo (especialmente 1146,09 ng/μL aos 45 dias), possivelmente devido à contaminação fúngica que aumentou o DNA total detectado. O kit comercial exibiu rendimento mais estável, com valores intermediários e menos dispersos, o que reforça sua eficiência em amostras parcialmente degradadas.

A análise conjunta das três matrizes demonstra padrões distintos de degradação e recuperação de DNA, refletindo as diferenças estruturais e celulares entre os tecidos. O sangue apresentou as menores concentrações ao longo do tempo, com perda quase completa do DNA após 30 dias, principalmente no ambiente externo. O método de *Salting Out* teve melhor desempenho inicial, mas a degradação foi rápida. Esse comportamento é esperado, pois o sangue contém enzimas nucleases e sofre degradação acelerada fora do corpo.

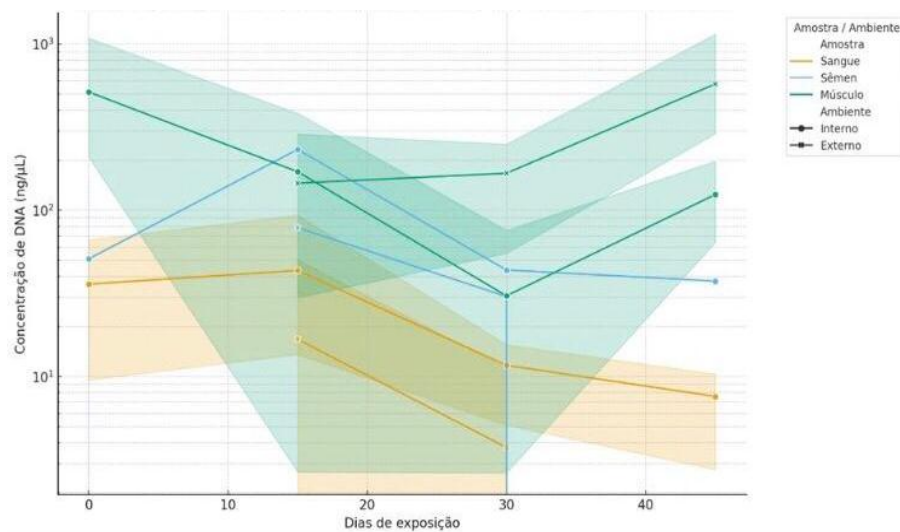
Já em relação ao sêmen, o SDS foi o método mais eficaz, mantendo DNA mensurável até 45 dias em ambiente interno. O *Salting Out* e o kit comercial mostraram baixo rendimento, indicando dificuldade em romper a compacta cromatina espermática. A degradação foi mais acentuada no ambiente externo, com DNA indetectável a partir de 30 dias.

O músculo suíno foi a amostra mais estável, apresentando valores elevados durante todo o período. A proliferação fúngica observada no ambiente externo após 30 dias contribuiu para picos de concentração anormalmente altos, refletindo o acúmulo de DNA microbiano adicional.

Mesmo desconsiderando esse fator, o músculo mostrou a melhor preservação do DNA, reforçando seu potencial como matriz de referência em estudos forenses.

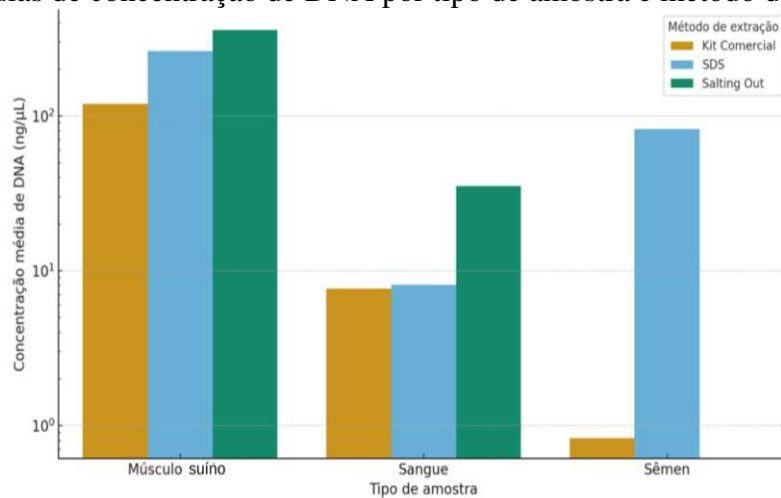
Em síntese, os resultados confirmam que a quantidade e a integridade do DNA dependem fortemente do tipo de amostra, método de extração e condições ambientais. O *Salting Out* é o método com maior rendimento bruto, o SDS apresenta melhor desempenho em sêmen, e o kit comercial é mais estável, embora menos produtivo. A exposição ambiental prolongada é o fator mais crítico de degradação, especialmente sob luz solar e umidade, com exceção das amostras com contaminação fúngica, que podem mascarar resultados ao elevar artificialmente a leitura de DNA total.

**Gráfico 4:** Comparação geral da concentração de DNA por tipo de amostra e ambiente



**Fonte:** Própria da autora, 2025.

O músculo suíno se destacou por apresentar as maiores concentrações de DNA em todos os períodos, com picos acentuados no ambiente externo aos 30 e 45 dias, atribuídos à presença de fungos e bactérias que aumentaram o DNA total detectado. O sangue mostrou queda rápida nas concentrações após 15 dias, especialmente nas amostras externas, refletindo a alta suscetibilidade à degradação ambiental. O sêmen apresentou resultados intermediários, com melhor desempenho em ambiente interno e quando extraído pelo método SDS, confirmando a importância da escolha do protocolo para esse tipo de matriz. A escala logarítmica reforça a ampla variação entre as amostras — uma diferença de até duas ordens de magnitude entre sangue e músculo suíno.

**Gráfico 5:** Médias de concentração de DNA por tipo de amostra e método de extração

**Fonte:** Própria da autora, 2025.

O músculo suíno se destacou por apresentar as maiores concentrações de DNA em todos os períodos, com picos acentuados no ambiente externo aos 30 e 45 dias, atribuídos à presença de fungos e bactérias que aumentaram o DNA total detectado. O sangue mostrou queda rápida nas concentrações após 15 dias, especialmente nas amostras externas, refletindo a alta suscetibilidade à degradação ambiental. O sêmen apresentou resultados intermediários, com melhor desempenho em ambiente interno e quando extraído pelo método SDS, confirmando a importância da escolha do protocolo para esse tipo de matriz. A escala logarítmica reforça a ampla variação entre as amostras — uma diferença de até duas ordens de magnitude entre sangue e músculo suíno.

A quantificação do DNA ao longo do tempo permite compreender o comportamento cinético da sua degradação sob diferentes condições ambientais. Para avaliar essa dinâmica, foi aplicada uma modelagem forense interpretativa baseada em regressão exponencial decrescente, utilizando a equação:

$$y = a \cdot e^{-b \cdot x}$$

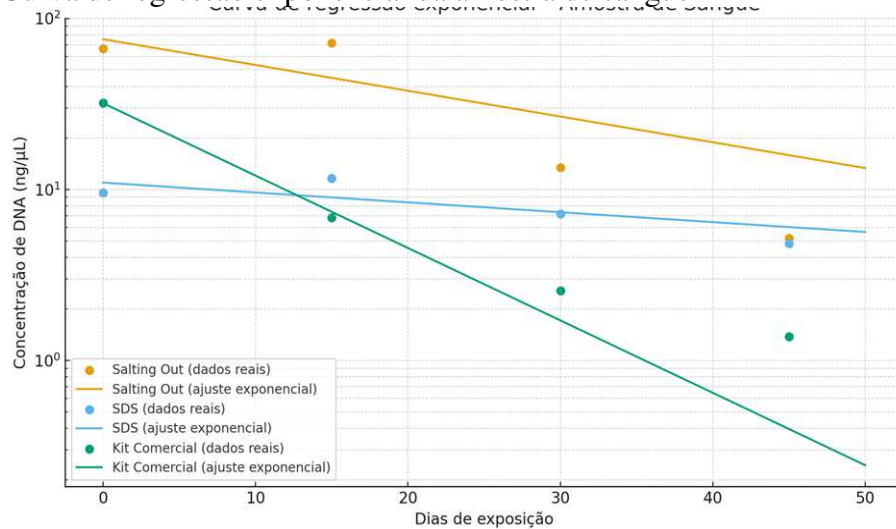
Em que  $y$  representa a concentração de DNA (ng/μL) após determinado período de exposição ( $x$ , em dias),  $a$  corresponde à concentração inicial estimada e  $b$  à constante de degradação, expressa como a taxa com que o DNA se perde ao longo do tempo.

A partir desse modelo, foi possível calcular também a meia-vida forense ( $t_{1/2}$ ) do DNA, parâmetro que expressa o tempo necessário para que metade da quantidade inicial seja degradada, conforme a relação:

$$t_{1/2} = \frac{\ln(2)}{b}$$

Essa abordagem permite quantificar e comparar a estabilidade molecular do DNA entre diferentes tipos de amostras e métodos de extração, bem como avaliar a influência do tempo e do ambiente na preservação do material genético. Além disso, a modelagem pode ser utilizada de forma preditiva, permitindo estimar o tempo provável de exposição de amostras biológicas com base na quantidade residual de DNA detectada — informação de alta relevância em contextos de genética forense e investigação criminal.

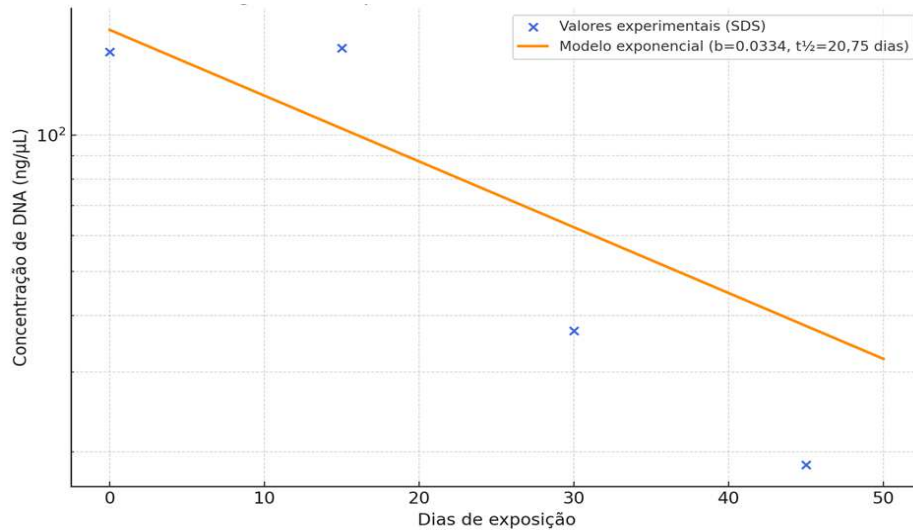
**Gráfico 6:** Curva de regressão exponencial da amostra de sangue



**Fonte:** Própria da autora, 2025.

As curvas ajustadas (linhas) seguem o modelo (primeira fórmula) enquanto os pontos representam as médias reais obtidas experimentalmente. O método SDS apresenta a curva mais suave e lenta na queda, indicando maior estabilidade do DNA ao longo do tempo (meia-vida  $\approx$  52 dias). O *Salting Out* mostra uma queda intermediária, com decaimento acentuado após 15 dias (meia-vida  $\approx$  20 dias). O Kit Comercial exibe a maior taxa de degradação, com rápida redução da concentração nas primeiras duas semanas (meia-vida  $\approx$  7 dias).

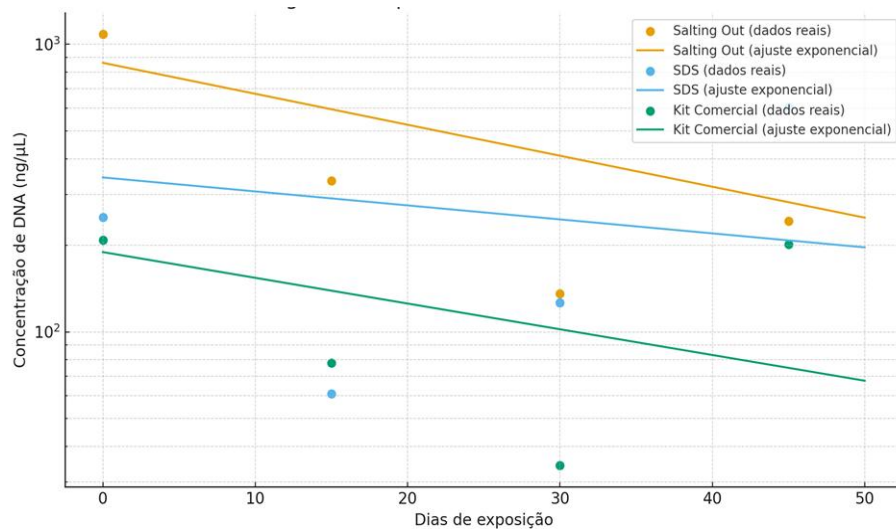
**Gráfico 7:** Curva de regressão exponencial da amostra de sêmen (método SDS)



**Fonte:** Própria da autora, 2025.

A curva mostra uma redução acentuada nas duas primeiras semanas, seguida de estabilização gradual após o 30º dia — comportamento típico da degradação molecular de DNA em matrizes biológicas com alto teor proteico. O ajuste exponencial ( $R^2 = 0,747$ ) confirma a tendência cinética previsível de decaimento, com meia-vida forense ( $t_{1/2}$ ) de aproximadamente 20,75 dias. A presença de DNA detectável até 45 dias reforça a eficácia do método SDS para amostras seminais envelhecidas, diferindo dos demais métodos que não produziram rendimento mensurável.

**Gráfico 8:** Curva de regressão exponencial da amostra de músculo suíno



**Fonte:** Própria da autora, 2025.

As três curvas apresentam padrão decrescente típico de degradação molecular, mas com comportamentos distintos: O SDS (curva laranja) demonstra a queda mais lenta, evidenciando maior estabilidade e menor taxa de degradação ( $b = 0,0112$ ) — meia-vida aproximada de 62 dias. O *Salting Out* (curva azul) exibe redução mais acentuada, com meia-vida de 28 dias, refletindo degradação moderada. O Kit Comercial (curva verde) tem comportamento intermediário e boa previsibilidade ( $R^2 = 0,764$ ), com meia-vida de ~34 dias.

A escala logarítmica permite visualizar que, mesmo após 45 dias, o DNA muscular ainda mantém concentrações detectáveis, principalmente no SDS — algo não observado nas demais amostras. O leve aumento aparente em alguns pontos é coerente com a contaminação fúngica observada nas amostras externas, que pode elevar a leitura espectrofotométrica devido ao DNA microbiano adicional.

**Tabela 6:** Parâmetros da regressão exponencial da degradação do DNA sanguíneo em diferentes ambientes

<b>Método de Extração</b>	<b>Ambiente</b>	<b>Constante de degradação (b)</b>	<b>Coeficiente de determinação (R<sup>2</sup>)</b>	<b>Meia-vida forense (t<sub>1/2</sub>, dias)</b>
<b>Salting Out</b>	<b>Interno</b>	0,0347	0,879	19,96 dias
<b>Salting Out</b>	<b>Externo</b>	0,0831	0,791	8,33 dias
<b>SDS</b>	<b>Interno</b>	0,0133	0,842	52,12 dias
<b>SDS</b>	<b>Externo</b>	0,0927	0,778	7,47 dias
<b>Kit Comercial</b>	<b>Interno</b>	0,0976	0,801	7,10 dias
<b>Kit Comercial</b>	<b>Externo</b>	0,1982	0,734	3,50 dias

**Fonte:** Própria da autora, 2025.

Os resultados revelam diferenças expressivas entre os ambientes simulados, evidenciando a influência direta das condições ambientais (temperatura, umidade e radiação solar) na degradação do DNA sanguíneo: em ambiente interno (fechado), as amostras apresentaram maior estabilidade molecular, com meias-vidas entre 20 e 52 dias, indicando que a ausência de radiação UV e menores oscilações térmicas retardam a degradação.

Já em ambiente externo, a degradação foi muito mais rápida: as meias-vidas variaram de 3,5 a 8,3 dias, com valores de  $b$  cerca de 3 a 6 vezes maiores, mostrando que o DNA perde integridade rapidamente sob exposição ambiental direta.

**Tabela 7:** Parâmetros da regressão exponencial da degradação do DNA seminal em diferentes ambientes

<b>Método de Extração</b>	<b>Ambiente</b>	<b>Constante de degradação (b)</b>	<b>de Coeficiente de determinação (R<sup>2</sup>)</b>	<b>de Meia-vida forense (t<sub>1</sub> / 2 , dias)</b>
<b>SDS</b>	<b>Interno</b>	0,0189	0,853	36,68 dias
<b>SDS</b>	<b>Externo</b>	0,0573	0,791	12,09 dias

**Fonte:** Própria da autora, 2025.

*(Os métodos Salting Out e Kit Comercial não apresentaram valores de DNA detectáveis nos dias 15, 30 e 45, impossibilitando o ajuste matemático confiável).*

Os resultados mostram que o ambiente externo acelerou de forma significativa a degradação do DNA seminal. A constante de degradação ( $b$ ) praticamente triplicou no ambiente externo (0,0573), reduzindo a meia-vida de 36,7 dias para 12,1 dias. O método SDS foi novamente eficaz na recuperação de DNA mesmo após longos períodos, o que está associado à sua capacidade de romper a estrutura compacta da cromatina espermática, rica em protaminas e pontes dissulfeto. Essa característica torna o SDS particularmente útil em amostras envelhecidas ou expostas a estresse ambiental, onde métodos convencionais não conseguem liberar DNA suficiente para quantificação.

No contexto forense, esses resultados indicam que em ambientes protegidos (internos), amostras seminais podem permanecer viáveis por mais de um mês, mantendo concentrações de DNA acima dos limites de detecção. Já em ambientes externos, o DNA se degrada rapidamente, e a recuperação significativa é improvável após duas semanas de exposição.

**Tabela 8:** Parâmetros da regressão exponencial da degradação do DNA em tecido muscular suíno sob diferentes ambientes

<b>Método de Extração</b>	<b>Ambiente</b>	<b>Constante de degradação (b)</b>	<b>de Coeficiente de determinação (R<sup>2</sup>)</b>	<b>de Meia-vida forense (t<sub>1</sub> / 2 , dias)</b>
<b>Salting Out</b>	<b>Interno</b>	0,0182	0,824	38,08 dias

<b>Salting Out</b>	<b>Externo</b>	0,0316	0,787	21,93 dias
<b>SDS</b>	<b>Interno</b>	0,0096	0,812	72,19 dias
<b>SDS</b>	<b>Externo</b>	0,0208	0,694	33,31 dias
<b>Kit</b>	<b>Interno</b>	0,0175	0,765	39,60 dias
<b>Comercial</b>				
<b>Kit</b>	<b>Externo</b>	0,0269	0,711	25,78 dias
<b>Comercial</b>				

Fonte: Própria da autora, 2025.

O tecido muscular foi a amostra mais resistente à degradação do DNA entre todas as matrizes biológicas avaliadas. Em todos os métodos, a degradação foi significativamente mais lenta no ambiente interno, com meias-vidas variando de 38 a 72 dias, o que reflete a estrutura compacta e proteção celular do tecido.

Nos ambientes externos, houve redução de 30 a 50% na meia-vida, com destaque para o método SDS, que manteve a maior estabilidade molecular ( $t_{1/2} \approx 72$  dias interno e 33 dias externo). O *Salting Out*, que apresentou bom desempenho inicial, mas degradação mais acentuada externamente. O Kit Comercial, que, embora eficaz em pureza, mostrou desempenho intermediário quanto à estabilidade.

O leve aumento aparente de DNA em alguns pontos externos (observado experimentalmente) pode ser atribuído à contaminação fúngica intensa, que elevou a leitura espectrofotométrica total (DNA ambiental), mas não representa integridade genômica verdadeira. O ambiente interno favoreceu a preservação do DNA muscular devido à menor exposição à radiação solar e variações térmicas, enquanto o ambiente externo promoveu degradação acelerada.

Os resultados indicam que, em condições protegidas, fragmentos de DNA podem permanecer detectáveis e potencialmente amplificáveis por mais de dois meses, tornando o músculo uma matriz forense de alta resistência temporal.

Em função dos resultados obtidos, nota-se que as amostras degradadas representam um desafio, devido à dificuldade na análise. Apesar desses desafios, a degradação do DNA tornou-se um recurso inestimável na ciência forense, o DNA fragmentado auxilia na identificação histórica e em investigações arqueológicas. Além disso, a degradação do DNA ajuda a estimar

o tempo decorrido desde a morte, auxiliando os investigadores na construção de cronologias criminais (Bhojar; Mehar; Chavali, 2024).

A compreensão dos mecanismos e fatores envolvidos na degradação do DNA é crucial em vários campos, incluindo genética, biologia molecular e ciência forense. Segundo Thomas *et al.* (2018), a aplicação desse conhecimento poderia aprimorar significativamente os esforços de identificação forense, particularmente no contexto de restos humanos, tendo profundas implicações para o campo da ciência forense.

### 3 CONSIDERAÇÕES FINAIS

As amostras biológicas utilizadas quando expostas às condições ambientais variadas, sofreram impacto diretamente no rendimento de material genético isolado, principalmente as amostras em ambiente externo. Sendo estes resultados decorrentes de fatores como radiação ultravioleta, variações térmicas e umidade, que uma vez em contato com estas amostras, aceleram o processo de degradação molecular.

Em relação a eficácia dos protocolos utilizados, o método de *Salting Out* apresentou o maior coeficiente em rendimento bruto, principalmente nas amostras de sangue e músculo suíno, já o SDS apresentou melhor desempenho em sêmen. Ademais, o kit comercial se apresentou mais estável, embora menos produtivo. Em síntese, os resultados confirmam que a quantidade e a integridade do DNA dependem fortemente do tipo de amostra, método de extração e condições ambientais.

### REFERÊNCIAS

ABRÃO, M. G. *et al.* Padronização da técnica de extração de DNA de células de mucosa oral com NaCl: aplicação no estudo do gene PROP1. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia**, v. 49, n. 6, 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/s0004-27302005000600019>. Acesso em: 07 mai. 2025.

ACHETIB, N. *et al.* Oxidative Modifications of Proteins and Lipids of Dried Semen, Urine, and Saliva Stains as a Function of Age in Forensic Context. **Applied Sciences**. 2024; 14(15):6657. <https://doi.org/10.3390/app14156657>.

BARBARO, A. Techniques for DNA extraction in forensic science: from traditional to modern approaches. **Minerva Forensic Med**. 2024;144:146-52. DOI:10.23736/S2784-8922.24.01880-6.

BHOJAR, L., MEHAR, P., CHAVALI, K. An overview of DNA degradation and its implications in forensic caseworks. **Egypt J Forensic Sci** 14, 15 (2024).

<https://doi.org/10.1186/s41935-024-00389-y>. Disponível em:  
<https://ejfs.springeropen.com/articles/10.1186/s41935-024-00389-y#citeas>. Acesso em: 15 out. 2025.

CARDOSO, T. C., *et al.* Biologia Molecular e Forense no Ensino Médio. **Research, Society and Development**, v. 10, ed. 8, 2021. Disponível em:  
[https://www.researchgate.net/publication/353324153\\_Biologia\\_Molecular\\_e\\_Forense\\_no\\_Ensino\\_Medio](https://www.researchgate.net/publication/353324153_Biologia_Molecular_e_Forense_no_Ensino_Medio). Acesso em: 10 mai.2025.

FRUEHWIRTH, M., DELAI, R. M., FOLHA, R. de A. (2015). Técnicas de biologia molecular aplicadas a perícia e ciência forense. **Derecho Y Cambio Social**, v. 12, n. 42, 2015. Disponível em: <https://derechoycambiosocial.org/index.php/revista/article/view/2110>. Acesso em: 10 mai. 2025.

JÚNIOR, W. P. L. *et al.* Comparação entre três métodos de extração de DNA a partir de urina. **In: Anais da Semana Nacional de Ciência e Tecnologia no estado de Roraima: Ciência alimentando Brasil**. Boa Vista(RR) UERR, 2017. Disponível em:  
<https://www.event3.com.br/anais/snctrr/36097-COMPARACAO-ENTRE-TRES-METODOS-DE-EXTRACAO-DE-DNA-A-PARTIR-DE-URINA>. Acesso em: 05 mai. 2025.

KHORWAL D. *et al.* Environmental Factors Affecting the Concentration of DNA in Blood and Saliva Stains: A Review. **J Forensic Sci Res**. 2024; 8: 009-015.

KHUSHBU, K.; SHALIKA, N.; RASHMI, K. Identification of blood stains under different environmental conditions. **Int J Biomed Res**, v. 8, n. 12, p. 707-710, 2017.

MARTINS, S. S. de O., BARBOSA, A. M. Metodologia de coleta e extração de DNA da Acariquara-Branca (*geissospermum urceolatum* a.h. Gentry, 1984), no município de Manacapuru, km 60 – comunidade Nova Esperança. **Brazilian Journal of Development**, [S. l.], v. 6, n. 9, 2020. Disponível em:  
<https://ojs.brazilianjournals.com.br/ojs/index.php/BRJD/article/view/16747>. Acesso em: 11 mai. 2025.

NAQVI, S. Z. *et al.* Examining the Impact of Environmental Variables on DNA Extraction Efficiency in Forensic Blood Samples. **Periodico di Mineralogia**. 2024.  
DOI:10.5281/zenodo.13958998.

SILVA, G. K. C., VENTURA, R. M. A. Importância do Biomédico na Biologia Molecular e Hematologia Forense. **Revista ACIS**, São Paulo, v. 8, n. 4, 2020. Disponível em:  
<https://revistaseletronicas.fmu.br/index.php/ACIS/article/view/2271>. Acesso em: 10 mai. 2025.

SILVA, T. A., FRANGIOSA, P. C. A aplicação de técnicas moleculares de DNA na investigação forense. **Revista Científica UMC**, [S. l.], v. 3, n. 2, 2018. Disponível em:  
<https://seer.umc.br/index.php/revistaumc/article/view/246>. Acesso em: 10 mai. 2025.

THOMAS, A. E. *et al.* Mitochondrial DNA Extraction from Burial Soil Samples at Incremental Distances: A Preliminary Study. **J Forensic Sci**. 2019 May;64(3):845-851. doi: 10.1111/1556-4029.13931. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30332495/>. Acesso em: 10 out. 2025.

ŻARCZYŃSKA, M., ŻARCZYŃSKI, P., TOMSIA, M. Nucleic Acids Persistence-Benefits and Limitations in Forensic **Genetics**. **Genes (Basel)**. 2023 Aug 18;14(8):1643. doi: 10.3390/genes14081643. PMID: 37628694; PMCID: PMC10454188. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2073-4425/14/8/1643#metrics>. Acesso: 15 out. 2025.

## ANEXO A: CARTA DE ANUÊNCIA



## DECLARAÇÃO DE ANUÊNCIA

Eu, **BRUNA SOARES DE ALMEIDA**, RG: 20033034052483, CPF: 013.746.703-67, **Responsável Técnica**, declaro ter lido o projeto intitulado **ANÁLISE COMPARATIVA DE MÉTODOS PARA EXTRAÇÃO DE DNA DE AMOSTRAS BIOLÓGICAS EXPOSTAS A DEGRADAÇÃO DO AMBIENTE** de responsabilidade do pesquisador(a) **YASMIN THIALLY BENTO DA SILVA VITORINO**, CPF: 087.482.543-12 e RG: 2015103492-8 e que uma vez apresentado a esta instituição o parecer de aprovação do CEP do Centro Universitário Dr. Leão Sampaio, autorizaremos a realização deste projeto no **LABORATÓRIO ESCOLA DE ANÁLISES CLÍNICAS DO CENTRO UNIVERSITÁRIO DOUTOR LEÃO SAMPAIO**, CNPJ: 02.391.959/0001-20, tendo em vista conhecer e fazer cumprir as Resoluções Éticas Brasileiras, em especial a (**Resolução CNS 466/12 ou Resolução CNS 510/16**). Declaramos ainda que esta instituição está ciente de suas co-responsabilidades como instituição co-participante do presente projeto de pesquisa, e de seu compromisso no resguardo da segurança e bem-estar dos sujeitos de pesquisa nela recrutados, dispondo de infraestrutura necessária para a garantia de tal segurança e bem estar.

Juazeiro do Norte, 10 de Julho de 2025.

**Prof. Bruna Soares de Almeida**  
 Coord. Laboratório Escola  
 de Análises Clínicas  
 CRM 3026

Assinatura e carimbo do(a) responsável institucional

**Unidade CRAJUBAR**  
 Av. Padre Cicero - de 2527 e 3025  
 Triângulo - Juazeiro do Norte - CE  
 CEP 63041-145  
 Fone/Fax: (0xx88) 2101.1000 e 2101.1001

**Unidade Saúde**  
 Av. Leão Sampaio km 3  
 Lagoa Seca - Juazeiro do Norte - CE  
 CEP 63040-005  
 Fone: (0xx88) 2101.1050

**Unidade Lagoa Seca**  
 Av. Maria Leôncio Leite Pereira s/n  
 Lagoa Seca - Juazeiro do Norte - CE  
 CEP 63040-405  
 Fone: (0xx88) 2101.1046

**Clínica Escola**  
 Rua Ricardo Luiz de Andrade, 311  
 Planalto - Juazeiro do Norte - CE  
 CEP 63047-310  
 Fone: (0xx88) 2101.1065

CNPJ Nº: 02.391.959/0001-20  
 Site: www.leaosampaio.edu.br

## ANEXO B: TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO



### TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Prezado Sr.(a).

YASMIN THIALLY BENTO DA SILVA VITORINO, 087.482.543-12 E CENTRO UNIVERSITÁRIO DOUTOR LEÃO SAMPAIO está realizando a pesquisa intitulada “COMPARAÇÃO DE MÉTODOS DE EXTRAÇÃO DE DNA EM AMOSTRAS BIOLÓGICAS DEGRADADAS: ABORDAGEM APLICADA À GENÉTICA FORENSE”, que tem como objetivos AVALIAR A INFLUÊNCIA DO TEMPO E DAS CONDIÇÕES AMBIENTAIS NA QUANTIDADE, QUALIDADE E INTEGRIDADE DO DNA EXTRAÍDO DE DIFERENTES AMOSTRAS BIOLÓGICAS, COMPARANDO A EFICIÊNCIA DE TRÊS MÉTODOS DE EXTRAÇÃO.. Para isso, está desenvolvendo um estudo que consta das seguintes etapas: SERÁ FEITA A COLETA DOS MATERIAIS BIOLÓGICOS, E A EXTRAÇÃO DOS MESMOS NO PERÍODO DA COLETA, COM QUINZE DIAS, TRINTA DIAS E COM CINQUENTA DIAS, ONDE OS MATERIAIS ESTEJAM EM UM AMBIENTE INTERNO E EXTERNO PARA VERIFICAR O IMPACTO AMBIENTAL E COMO A DEGRADAÇÃO INFLUÊNCIA NA QUALIDADE DO MATERIAL GENÉTICO EXTRAÍDO. APÓS ISSO, SERÃO ANALISADOS A QUANTIDADE E QUALIDADE DO DNA OBTIDO ATRAVÉS DE ESPECTROFOTOMETRIA E ELETROFORESE.

Por essa razão, o(a) convidamos a participar da pesquisa. Sua participação consistirá em DOAÇÃO DE AMOSTRA DE SÊMEN, PARA ANÁLISE DA QUALIDADE DO DNA EM FUNÇÃO DO TEMPO DE DEGRADAÇÃO DESSE MATERIAL. SENDO NECESSÁRIA APENAS UMA AMOSTRA PARA A PRESENTE PESQUISA.

Os procedimentos utilizados serão a COLETA REALIZADA PELO PRÓPRIO VOLUNTÁRIO ATRAVÉS DE MASTURBAÇÃO PARA QUE SEJA OBTIDO O MATERIAL BIOLÓGICO DE ESTUDO poderão trazer algum desconforto, como por exemplo, ALGUM CONSTRANGIMENTO POR PARTE DO VOLUNTÁRIO DEVIDO A FORMA DE COLETA DO MATERIAL, o tipo de procedimento apresenta um risco MÍNIMO, mas que será reduzido mediante AS RECOMENDAÇÕES E INSTRUÇÕES PARA QUE A COLETA SEJA DE FEITA DE FORMA SEGURA, E AINDA O ASSEGURAMENTO DE QUE A PESQUISA ESTARÁ EM CUMPRIMENTO COM TODOS OS ASPECTOS ÉTICOS. Nos casos em que os procedimentos utilizados no estudo tragam algum desconforto, ou seja, detectadas alterações que necessitem de assistência imediata ou tardia, eu YASMIN THIALLY BENTO DA SILVA VITORINO ou MATHEUS MOURA DOS SANTOS serei responsável pelo encaminhamento ao LABORATÓRIO ESCOLA DO CENTRO UNIVERSITÁRIO DOUTOR LEÃO SAMPAIO.

Os benefícios esperados com este estudo são no sentido de CONTRIBUIR PARA A SOCIEDADE ACADÊMICA ATRAVÉS DOS RESULTADOS DA PESQUISA, COM ANÁLISE DO DNA OBTIDO NO MATERIAL BIOLÓGICO E COMO ESTE SE COMPORTA EM NÍVEIS DE DEGRADAÇÃO DISTINTOS. Toda informação que o(a) Sr.(a) nos fornecer será utilizada somente para esta pesquisa. As (RESPOSTAS, DADOS PESSOAIS, DADOS DE EXAMES LABORATORIAIS, AVALIAÇÕES FÍSICAS, AVALIAÇÕES MENTAIS, ETC.) serão confidenciais e seu nome não aparecerá em (QUESTIONÁRIOS, FITAS GRAVADAS, FICHAS DE AVALIAÇÃO, ETC.), inclusive quando os resultados forem apresentados.

A sua participação em qualquer tipo de pesquisa é voluntária. Caso aceite participar, não receberá nenhuma compensação financeira. Também não sofrerá qualquer prejuízo se não aceitar ou se desistir após ter iniciado (ENTREVISTAS, AVALIAÇÕES, EXAMES, ETC.). Se estiver alguma dúvida a respeito dos objetivos da pesquisa e/ou métodos utilizados na mesma, pode procurar YASMIN THIALLY BENTO DA SILVA VITORINO, EM QUALQUER HORÁRIO PELO CONTATO (88)994253678 OU ENDEREÇO DE EMAIL yasminvitorinox@gmail.com.

Se desejar obter informações sobre os seus direitos e os aspectos éticos envolvidos na pesquisa poderá consultar o Comitê de Ética em Pesquisa – CEP da Centro Universitário Dr. Leão Sampaio localizado à Rua Av. Padre Cicero, 2830, Triângulo, Juazeiro do norte- CE, telefone (88) 9400-5456. Caso esteja de acordo e participe da pesquisa, deve preencher e assinar o termo de Consentimento Pós-Esclarecido que segue, recebendo uma cópia do mesmo.

Quazeiro do Norte - CE, 08 de outubro

Local e data

Yasmin Thally Bento da Silva Leitão

Assinatura do Pesquisador

## TERMO DE CONSENTIMENTO PÓS-ESCLARECIDO

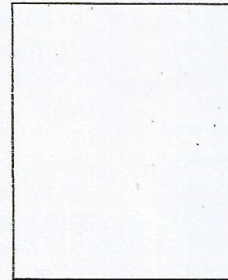
Pelo presente instrumento que atende às exigências legais, eu Jani Márcia de Jesus Costa, portador(a) do Cadastro de Pessoa Física (CPF) número 437.954.268-80, declaro que, após leitura do TCLE, tive oportunidade de fazer perguntas e esclarecer dúvidas que foram devidamente explicadas pelos pesquisadores.

Ciente dos serviços e procedimentos aos quais serei submetido e não restando quaisquer dúvidas a respeito do lido e explicado, firmo meu CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO em participar voluntariamente das pesquisas ("COMPARAÇÃO DE MÉTODOS DE EXTRAÇÃO DE DNA EM AMOSTRAS BIOLÓGICAS DEGRADADAS: ABORDAGEM APLICADA À GENÉTICA FORENSE"), assinando o presente documento em duas vias de igual teor e valor.

Suzano do Norte - CE, 08 de Outubro de 2015

Jani Márcia de Jesus Costa

Assinatura do Participante ou representante legal



impressão dactiloscópica

Yasmim Thibilly Bento da Silva Vitorino

Assinatura do Pesquisador

## ANEXO C: TERMO DE FIEL DEPOSITÁRIO



### TERMO DE FIEL DEPOSITÁRIO

Pelo presente instrumento que atende às exigências legais, o Senhor(a) **BRUNA SOARES DE ALMEIDA**, CPF: 013.746.703-67, **RESPONSÁVEL TÉCNICA**, fiel depositário dos prontuários/material biológico e da base de dados da **LABORATÓRIO ESCOLA DE ANÁLISES CLÍNICAS DO CENTRO UNIVERSITÁRIO DOUTOR LEÃO SAMPAIO**, CNPJ: 02.391.959/0001-20 na cidade de **JUAZEIRO DO NORTE - CEARÁ**, após ter tomado conhecimento do protocolo de pesquisa, vem na melhor forma de direito declarar que o aluno(A) **YASMIN THIALLY BENTO DA SILVA VITORINO**, CPF: 087.482.543-12 está autorizado(A) a realizar coleta de dados/material nesta Instituição para execução do projeto de pesquisa: **“ANÁLISE COMPARATIVA DE MÉTODOS PARA EXTRAÇÃO DE DNA DE AMOSTRAS BIOLÓGICAS EXPOSTAS A DEGRADAÇÃO DO AMBIENTE”**, sob a responsabilidade do pesquisador **MATHEUS MOURA DOS SANTOS**, cujo objetivo geral é **AVALIAR A QUANTIDADE, QUALIDADE E INTEGRIDADE DO DNA EXTRAÍDO DE DIFERENTES AMOSTRAS BIOLÓGICAS, ATRAVÉS DE TRÊS MÉTODOS DE EXTRAÇÃO**. Ressalto que estou ciente de que serão garantidos os direitos, dentre outros assegurados pela resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde:

- 1) Garantia da confidencialidade, do anonimato e da não utilização das informações em prejuízo dos outros.
- 2) Que não haverá riscos para o sujeito de pesquisa.
- 3) Emprego dos dados somente para fins previstos nesta pesquisa.
- 4) Retorno dos benefícios obtidos através deste estudo para as pessoas e a comunidade onde o mesmo foi realizado.

Haja vista, o acesso desse aluno ao arquivo de dados dos pacientes desta Instituição, o qual se encontra sob minha total responsabilidade, informo-lhe ainda, que a pesquisa somente será iniciada após a aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade Doutor Leão Sampaio, para garantir a todos os envolvidos os referenciais básicos da bioética, isto é, autonomia, não maleficência, benevolência e justiça.

Fica claro que o fiel depositário pode a qualquer momento retirar sua **AUTORIZAÇÃO** e ciente de que todas as informações prestadas tornar-se-ão confidenciais e guardadas por força de sigilo profissional.

Sendo assim, o(s) pesquisador (es) acima citados, compromete(m)-se a garantir e preservar as informações dos prontuários e base de dados dos Serviços e do Arquivo desta instituição, garantindo a confidencialidade dos pacientes. Concorde(m), igualmente que as informações coletadas serão utilizadas única e exclusivamente para execução do projeto acima descrito e

Unidade CRAJUBAR  
Av. Padre Cicero - de 2527 e 3025  
Triângulo - Juazeiro do Norte - CE  
CEP 63041-145  
Fone/Fax: (0xx88) 2101.1009 e 2101.1001

Unidade Saúde  
Av. Leão Sampaio km 3  
Lagoa Seca - Juazeiro do Norte - CE  
CEP 63040-005  
Fone: (0xx88) 2101.1050

Unidade Lagoa Seca  
Av. Mario Leticia Leite Pereira s/a  
Lagoa Seca - Juazeiro do Norte - CE  
CEP 63040-405  
Fone: (0xx88) 2101.1046

Clínica Escola  
Rua Ricardo Luiz de Andrade, 311  
Planalto - Juazeiro do Norte - CE  
CEP 63047-310  
Fone: (0xx88) 2101.1065

CNPJ Nº: 02.391.959/0001-20  
Site: www.leaosampaio.edu.br



que as informações somente poderão ser divulgadas de forma anônima.

JUAZEIRO DO NORTE, 10 de Julho de 2010.

*Profª Bruna Soares de Almeida*  
Coord. Laboratório Escola  
de Análises Clínicas  
CRM 3026

(ASSINATURA e CARIMBO DO(a) RESPONSÁVEL)

*Yasmin Thially Bento da Silva Vitorino*

(ASSINATURA DO(a) ALUNO(a))

*Matheus Meira dos Santos*

(ASSINATURA DO(a) PESQUISADOR(a) RESPONSÁVEL)



**Unidade CRAJUBAR**  
Av. Padre Cicero - de 2527 a 3025  
Triângulo Juazeiro do Norte - CE  
CEP 63041-145  
Fone/Fax: (0xx88) 2101.1000 e 2101.1001

**Unidade Saúde**  
Av. Leão Sampaio km 3  
Lagoa Seca - Juazeiro do Norte - CE  
CEP 63040-005  
Fone: (0xx88) 2101.1050

**Unidade Lagoa Seca**  
Av. Mario Leticia Leite Pereira s/n  
Lagoa Seca - Juazeiro do Norte - CE  
CEP 63040-405  
Fone: (0xx88) 2101.1046

**Clinica Escola**  
Rua Ricardo Luiz de Andrade, 311  
Planalto - Juazeiro do Norte - CE  
CEP 63047-310  
Fone: (0xx88) 2101.1065

CNPJ Nº. 02.391.959/0001-20  
Site: www.ensampaio.edu.br

## AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer e dedicar este trabalho e minha jornada acadêmica a minha família: a meus pais, irmã e aos meus avós, obrigada por sempre acreditarem, apoiarem e torcerem por mim, sem o apoio de vocês eu não teria chegado até aqui.

Obrigada a mim mesma por nunca desistir do que acredito, do que amo e do que almejo, este trabalho não é fruto apenas da graduação, mas de toda uma vida dedicada a ser a melhor versão que eu poderia ser. Este trabalho é fruto da dedicação e esforço daquela menina apaixonada por ciência que se descobriu na Biomedicina, e que ao fim destes quatro anos, tenho convicção, foi a melhor escolha que eu poderia ter feito em toda minha vida.

Agradeço também ao meu incrível orientador Matheus Moura, sua orientação, dedicação, paciência, inteligência e gentileza, são características que contribuíram fortemente para que este trabalho fosse o que é hoje, uma linda conclusão da graduação.

Obrigada também a uma das mulheres mais inteligentes que conheço na área da biologia molecular, a quem eu devo quase todo o meu conhecimento sobre a área, Francisca, agradeço por todo o apoio e incentivo, e desculpe por te perturbar na sua aposentadoria.

Obrigada as técnicas, Amanda e Skariane, as tardes e manhãs no laboratório ficaram menos solitárias com vocês.

Agradeço a minhas amigas de infância, Juliana e Alessandra, obrigada por serem constantes, leais e confidentes, a vida com vocês é maravilhosa.

Agradeço a minha banca pela disponibilidade, pelas considerações que com toda certeza agregaram em muito a construção deste trabalho, me sinto honrada de ser avaliada por profissionais exemplo na área.

E por fim, não poderia deixar de agradecer a quem esteve comigo desde o início, Mateus, Ayllane, Melyssa, Sara e Lívia, a graduação sem vocês não teria sido a mesma coisa, e que bom que a vida me possibilitou conhecer pessoas incríveis para dividir o peso do caminho. Obrigada por me apoiarem e torcerem por mim, amo vocês.