

Revisión del uso de técnicas de caracterización en la Arqueología Forense

Review of the use of characterization techniques in Forensic Archeology

S. Ruiz-Salgado ^a, V. Rodríguez-Lugo ^{a*}

^a Área Académica de Ciencias de la Tierra y Materiales, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, 42184, Pachuca, Hidalgo, México.

Resumen

Las tecnologías forenses en los últimos años han incrementado su capacidad lo que ha permitido que obtengan una mejor sensibilidad y la fuerza del potencial de investigación de los científicos forenses que amplían el campo e incorporan muchas tecnologías que van desde el reconocimiento de patrones hasta la composición química y su análisis. Numerosos campos dentro de la ciencia forense se han desarrollado considerablemente a lo largo de los años, y las nuevas tecnologías han permitido nuevas aplicaciones de la ciencia forense. Este trabajo es una revisión que comprende las técnicas que se utilizan habitualmente en los laboratorios forenses, los desarrollos que tienen lugar en las universidades y otras organizaciones de investigación, que pueden volverse habituales en la ciencia forense en el futuro. El avance en la ciencia forense digital y el mayor uso de evidencia digital en los tribunales requiere una formación constante para los jueces y los científicos forenses. Esto asegurará que estén familiarizados con las tecnologías existentes y emergentes aplicables en las investigaciones forenses. Por lo tanto, comprender adecuadamente el funcionamiento de las diferentes tecnologías forenses es fundamental para ayudar a la eficacia de los sistemas que deseen implementarse.

Palabras Clave:

Arqueología Forense, Tecnología, Investigación, Métodos Científicos.

Abstract

Forensic technologies in recent years have increased their capacity which has allowed them to obtain better sensitivity and the strength of the investigative potential of forensic scientists who broaden the field and incorporate many technologies ranging from pattern recognition to chemical composition, and its analysis. Numerous fields within forensic science have developed considerably over the years, and new technologies have enabled new applications of forensic science. This work is a review that includes the techniques that are commonly used in forensic laboratories, the developments that take place in universities and other research organizations, which may become common in forensic science in the future. Advancement in digital forensics and the increased use of digital evidence in court requires ongoing training for judges and forensic scientists. This will ensure that they are familiar with existing and emerging technologies applicable in forensic investigations. Therefore, a proper understanding of the operation of the different forensic technologies is essential to help the effectiveness of the systems that wish to be implemented.

Keywords:

Forensic Archaeology, Technology, Investigation, Scientific Methods.

1. Introducción

La arqueología forense es la aplicación de principios y metodologías arqueológicas para localizar y recuperar pruebas dentro de los límites del sistema de justicia penal o para su uso en juicios civiles. Hay tres objetos básicos de una investigación arqueológica forense: comprensión e interpretación del evento tafonómico (la historia de un sitio después de haber sido creado a través de la deposición de restos); reconstrucción de los eventos que precedieron y ocurrieron junto con la creación del sitio y la deposición del cuerpo; e interpretación informada de los hechos que rodearon la deposición de la persona fallecida. Las investigaciones arqueológicas forenses se llevan a cabo en tres etapas generales: reconocimiento, prospección y excavación (Wolstenholme., 2021, Ataliva *et al.*, 2021,

Saucedo., 2019). Una vez que el sitio ha sido localizado y mapeado, se puede comenzar la excavación. Las investigaciones arqueológicas forenses son parte integral de una diversa gama de contextos situacionales, con el objetivo singular de recuperar y resolver (recuperación de la evidencia física y eventual resolución de los problemas legales). Aunque hay escasez de literatura arqueológica forense, los arqueólogos pueden comenzar a familiarizarse con temas relacionados con las investigaciones forenses a través del *Journal of Forensic Sciences* y el *American Journal of Physical Anthropology*.

Los arqueólogos y los especialistas en esta disciplina pueden trabajar juntos de manera fructífera para resolver conflictos metodológicos y problemas sustantivos en la búsqueda y recuperación de víctimas de homicidio y en el examen del

*Autor para la correspondencia: venturar.rl65@gmail.com

Correo electrónico: ru467902@uaeh.edu.mx (Sinuhé Ruiz Salgado), venturar@uaeh.edu.mx (Ventura Rodriguez Lugo)

lugar del entierro. Este intercambio recíproco brinda la oportunidad, a través del enfoque del problema, de ir más allá del análisis descriptivo más o menos convencional de los sitios de entierro. Los datos generados a partir de la documentación caso por caso de las tasas variables y las características de la descomposición, en relación con el tratamiento del entierro post mortem, las condiciones de exposición y las características del suelo, son particularmente prometedores (Márquez *et al.*, 2011, Kumar & Sharma., 2018).

Sin embargo, es la identificación de una gama más amplia de preguntas de investigación metodológicas, sustantivas y técnicas generadas por un énfasis en la recopilación de datos lo que ampliará la contribución de la arqueología forense al campo más amplio de la arqueología, así como al sistema de justicia penal. Ciertamente, la antropología ya se ha beneficiado de las situaciones de retroalimentación con el análisis de la ciencia forense, que es una combinación de todas las ramas de las ciencias naturales y disciplinas afines, cuyo conocimiento es esencial y eficiente en la administración de justicia en contextos civiles, penales y sociales. El estado actual de la ciencia forense ha hecho hincapié en los problemas que enfrentan los expertos y también ha sugerido los remedios necesarios para superar estos problemas. Se enfatiza que, para lograr mejores resultados del análisis, las técnicas analíticas deben ser computables y correlacionadas con confianza estadística, con el fin de minimizar los errores. La Figura 1 muestra las diferentes áreas de la ciencia forense que utilizan los principios de la medición de componentes y características químicas conocida como quimiometría, así mismo la necesidad de emplear diferentes técnicas de caracterización estructural utilizada de manera convencional en ciencia de los materiales (Morse *et al.*, 1976, Ferlini., 2007, Dirkmaat & Cabo., 2016, Barone & Groen., 2018).

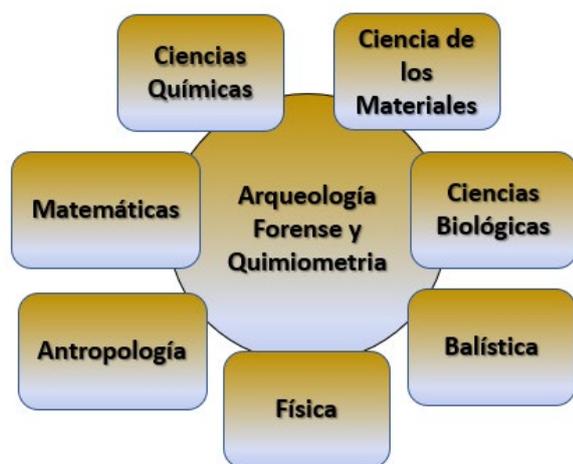


Figura 1. Esquema multidisciplinario de la Arqueología Forense.

Lo anterior permite identificar algunas consideraciones de la aplicación de la arqueología a las investigaciones forenses. Para el arqueólogo que contempla una participación incluso limitada en este aspecto de la antropología aplicada, es fundamental que considere las siguientes observaciones:

1) La utilidad de la participación arqueológica debe basarse en una división del trabajo tal que las tareas de campo del arqueólogo sean complementarias en lugar de superponerse con las realizadas por patólogos forenses, antropólogos físicos, investigadores policiales, etc. Es esencial que los arqueólogos conozcan los límites de su experiencia y deferir a otros investigadores cuando corresponda.

2) El cuerpo enterrado que el arqueólogo deberá investigar es a menudo, pero no siempre, una víctima de homicidio y puede estar enterrado recientemente (por ejemplo, en cuestión de días) y en varias etapas de descomposición. Aunque la muerte violenta no es desconocida en el registro arqueológico, su inmediatez en la arqueología forense puede comportar cierto desagrado. Por lo tanto, la sabiduría de la participación individual se pondrá a prueba caso por caso.

3) El arqueólogo tendrá la responsabilidad de obtener y reportar las pruebas físicas pertinentes, debidamente recolectadas, que probablemente lo involucrarán en un proceso penal. Los comentarios improvisados y los juicios preliminares que no están respaldados por la evaluación final de la evidencia pueden usarse para confundir y socavar la validez del informe final. El arqueólogo debe ser consciente de que su conocimiento, juicio arqueológico y evidencia de asociación serán evaluados, no por un arqueólogo, sino por un abogado cuyo interrogatorio del testigo experto puede carecer de las sutilezas incluso del arqueólogo más crítico. Se recomienda enfáticamente una conferencia previa al juicio con los abogados para quienes se presenta la evidencia.

4) Para que los arqueólogos participen en las investigaciones de la escena del crimen, sus servicios deben ser solicitados por las autoridades investigadoras, por ejemplo, la policía estatal y local, los fiscales estatales o los médicos forenses del distrito. Sin embargo, la mayoría de estos funcionarios desconocen la información que se puede obtener del registro arqueológico y su utilidad para reconstruir la secuencia de eventos en la escena del crimen. La participación arqueológica puede requerir esfuerzos de educación a través de conferencias públicas y talleres policiales para que se cree una red de colaboración y educación mutua.

5) El informe estándar del sitio es un formato útil para informar los datos arqueológicos. Las categorías que deben incluirse son descripciones del medio ambiente, características del suelo, distancia al agua subterránea; descripciones y justificación de las técnicas y métodos empleados; evidencia de asociación entre material esquelético y no esquelético utilizando tanto manuscritos como mapas; y una interpretación de los hechos que no va más allá de la propia evidencia. La presentación ante el tribunal de la evidencia arqueológica contenida en el informe final también debe ser clara, concisa y convincente. Los mapas superpuestos son particularmente útiles en estos informes y son muy efectivos para ilustrar aspectos tridimensionales difíciles de la excavación durante el testimonio del juicio. Aunque la arqueología forense está en sus inicios, con un mayor apoyo y participación de arqueólogos y científicos profesionales con formación forense se harán contribuciones significativas al sistema de justicia penal.

1.1. El rol de la “Academia Científica” en la Arqueología forense

Existen una amplia variedad de técnicas analíticas utilizadas para los tipos de muestras que se encuentran en la ciencia forense, pero es sorprendente que muchas de estas técnicas no se utilizan en los laboratorios forenses. El elemento vital de las revistas científicas es la publicación de información nueva para la ciencia, incluidas formas novedosas o más rápidas de analizar muestras, que actualmente son de uso cotidiano en el área de ciencia de los materiales. Los laboratorios que llevan a cabo investigaciones que involucran técnicas que pueden ser aplicables en la ciencia forense a menudo no realizan análisis con miras a presentar pruebas ante los tribunales. Aunque necesitarán métodos robustos de análisis para su investigación, sus métodos no necesitarán someterse a la extensa validación requerida para fines judiciales. Un laboratorio forense que piense en adoptar dicho método incurrirá en costos significativos en la validación e implementación del método y no hay garantía de que sea adecuado para el uso de rutina. La instrumentación analítica utilizada en la ciencia forense también puede ser costosa (a menudo más de £ 100 000). El costo de la validación y el costo de la instrumentación analítica ha provocado un retraso en la adopción de lo que se consideran técnicas analíticas de "vanguardia" en algunos laboratorios forenses (Ferlini., 2017, Barone & Groen., 2018, Heron *et al.*, 2013).

El experto a menudo se considera el "intérprete" de evidencia científica compleja y tiene la tarea de presentar sus opiniones y conclusiones sobre dicha evidencia de una manera comprensible. La mayoría de los jueces y jurados no tienen el conocimiento suficiente para interpretar los hechos científicos de un caso y, por lo tanto, confían en el experto para presentar datos e interpretaciones confiables y válidos. Sin embargo, los tribunales requieren cierta medida de garantía antes de que el testimonio de expertos pueda considerarse científicamente válido y, por lo tanto, admisible. Debido a esto los protocolos de investigación y obtención de datos en la arqueología forense deberán de ser normados y clarificados mediante técnicas y manuales de operación regidos bajo el método científico, dando así una certeza en la investigación y manipulación de evidencia y sus datos.

Lo antes mencionado permitirá obtener argumentos suficientes para poder aplicar la evidencia encontrada mediante las directivas científicas establecidas al momento de la operación de recuperación de evidencias y la posterior manipulación para la colección de datos analizables científicamente. Respondiendo de manera positiva a las siguientes interrogantes con las cuales suele desacreditarse dicha información obtenida:

- ¿Existe bibliografía publicada y revisadas por pares sobre la metodología aplicada en la obtención y manipulación de la evidencia y sus datos?
- ¿La metodología presentada es usada de manera académica en universidades y reuniones científicas o comprende una metodología del estado del arte?
- ¿Existe una tasa de error conocida?, y de ser así; ¿Se puede probar la precisión de la metodología aplicada?

- ¿La metodología aplicada es generalmente aceptada en la comunidad científica relevante o posee una aceptación considerable en el estado del arte?

El análisis de una muestra forense y el informe de un resultado que este conlleva, como una concentración, parece al principio tan sencillo como informar un simple número. Sin embargo, llegar a ese resultado y poder confiar en él está lejos de ser trivial. La ciencia analítica, dentro de un contexto forense, necesita aplicar métodos analíticos que sigan estrictos procedimientos operativos estándar (SOP) para garantizar que el proceso de análisis pueda ser auditado y verificado, lo que lleva, por lo tanto, no solo a resultados consistentes y reproducibles, sino también a confianza cuantificable en estos resultados. Este trabajo se concentrará en la descripción de estos procedimientos, destacando algunos de los aspectos que es importante considerar al realizar un análisis, ya sea el análisis de una muestra forense o el diseño de un experimento específico de escenario. Los métodos de diseño experimental, particularmente relevantes para experimentos específicos de escenarios, son a menudo uno de los aspectos menos comprendidos y más complejos de los estudios científicos en muchas disciplinas, incluida la ciencia forense.

1.2. El Método Científico y la Arqueología Forense

El término "método científico" comenzó a utilizarse en el siglo XIX. Aunque los métodos utilizados en cada escenario científico varían, ciertamente hay algunos pasos que se pueden aplicar a la mayoría de los problemas. El primer paso es la formación de una pregunta, por ejemplo, ¿por qué la evidencia de la escena del crimen está distribuida de esta manera? Puede existir investigación disponible que ayude a responder la pregunta, pero, si no, se requiere nueva información. Antes de recopilar cualquier información nueva, el siguiente paso es formular una hipótesis que es una posible explicación para la pregunta planteada que también se puede probar para ver si es correcta. (En el análisis estadístico, las hipótesis vienen en pares como una hipótesis nula, H0, que dice que no hay efecto y la hipótesis alternativa, H1, que dice que el efecto predicho es verdadero). Luego, la consecuencia de la hipótesis se predice con base en la lógica. razonamiento, generalmente a partir de la evidencia existente, y posteriormente se diseña y lleva a cabo un experimento para observar si la predicción, en base a la evidencia disponible, es correcta o no. El paso final es analizar los datos obtenidos y determinar su significado, en algunos casos usando estadísticas.

Dentro de un contexto analítico, se pueden identificar cinco etapas, a saber, muestreo, almacenamiento/transporte, preparación, análisis instrumental y, finalmente, análisis de datos. Un protocolo de análisis deberá considerar las cinco etapas y definir sus parámetros para que el análisis no solo sea auditable, sino también para garantizar que los resultados de los diferentes análisis sean consistentes y comparables. Cada etapa contendrá una serie de pasos/acciones, que están constituidas por variables funcionales/experimentales. En la Figura 2, se dan algunos ejemplos prácticos de lo que podrían ser estas variables, para cada etapa (Oakley., 2005).

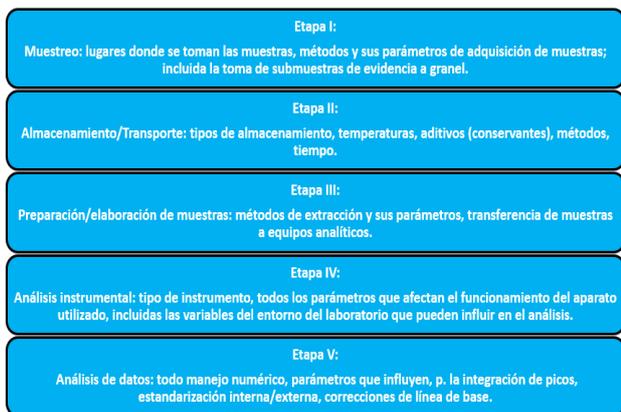


Figura 2. Etapas del protocolo de análisis de muestras

Cuando se ha demostrado que la hipótesis/predicción es falsa/no observada, los científicos deben seguir los pasos del método científico de forma iterativa, formulando nuevas hipótesis, predicciones y experimentos hasta que estén satisfechos de haber respondido a la pregunta original. Cabe señalar que la prueba absoluta es muy difícil de encontrar, en la mayoría de los casos, las conclusiones se extraen de una mayor confianza en las hipótesis en lugar de una prueba concreta (Robertson., 2010).

La calibración de los equipos de laboratorio es importante para asegurar que los equipos proporcionen lecturas precisas y exactas. La implementación de un sistema de calidad en el laboratorio es esencial para garantizar la precisión, confiabilidad y puntualidad de los resultados de las pruebas. Un buen programa de gestión de equipos ayuda a mantener un alto nivel de rendimiento del laboratorio, reduce la variación en los resultados de las pruebas y mejora la confianza del tecnólogo en la precisión de los resultados de las pruebas.

Así también es de gran importancia comprender que la calibración de los equipos de laboratorio es fundamental para asegurar que los equipos proporcionen lecturas precisas y exactas. La implementación de un sistema de calidad en el laboratorio es esencial para garantizar la precisión, confiabilidad y puntualidad de los resultados de las pruebas. Un buen programa de gestión de los equipos ayuda a mantener un alto nivel de rendimiento del laboratorio, reduce la variación en los resultados de las pruebas y mejora la confianza del tecnólogo en la precisión de los resultados de las pruebas, reduce los costos de reparación, mediante un mantenimiento adecuado, lo que contribuye en el incremento de la vida útil del instrumento, reduce la interrupción de servicios debido a averías y fallas.

1.3. “Química Analítica y La ciencia de los Materiales” en la Arqueología forense

Las técnicas espectroscópicas y espectrometrías se utilizan ampliamente en la ciencia forense. Los más utilizados son ultravioleta-visible (UV-Vis); espectroscopia infrarroja (IR) y espectrometría de masas (MS). Otras técnicas utilizadas incluyen la espectroscopia de fluorescencia, el infrarrojo cercano (NIR) y la espectroscopia Raman. Muchas de estas técnicas espectroscópicas, en particular IR y NIR, Raman, así también como técnicas de análisis de materiales que utilizan rayos X para determinar la composición elemental de una muestra como la fluorescencia de rayos X (XRF) y microscopía electrónica de barrido con espectrometría de rayos X por energía dispersiva (SEM-EDX), se pueden aplicar a muestras con una preparación de mínima o nula y se consideran no destructivas. Otro conjunto de técnicas analíticas químicas ampliamente utilizado son las "técnicas cromatográficas" de gran importancia en la detección de moléculas y compuestos de cadenas largas y cortas. La cromatografía se refiere a la separación de los componentes de la muestra que se analiza y los ejemplos de técnicas de separación comúnmente utilizadas en la ciencia forense incluyen la cromatografía de gases (GC), la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), la cromatografía iónica (IC) y la electroforesis capilar (CE). La separación cromatográfica de los componentes por sí sola es insuficiente para un análisis completo en la mayoría de los casos; es necesaria alguna forma de detección e identificación de los componentes separados. Por lo tanto, convencionalmente las técnicas cromatográficas se complementan con técnicas espectroscópicas. A menudo se las denomina técnicas con guion y las más utilizadas en ciencia forense son GC-MS y LC-MS (la abreviatura utilizada para HPLC acoplada a MS).

Existen también una gran cantidad de métodos menos explorados, pero no por ello, menos capaces de proveer información de gran valor en el diseño experimental y el tratamiento de datos, como lo son: espectrometría de absorción atómica (AAS); Microscopía de Fuerza Atómica (AFM); Redes Neuronales Artificiales (ANN); La espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier (FTIR) acoplada con la técnica de muestreo de reflectancia total atenuada (ATR) conocida como espectroscopia FTIR-ATR ; Regresión Logística Binaria (BLR); Análisis de Conglomerados (CA); Árboles de Clasificación y Regresión (CART); Red Neuronal Convolutiva (CNN); detector de ionización de llama (FID); Algoritmo Genético (GA); Cromatografía de gases acoplada a Espectrometría de masas (GC-MS); Análisis de Conglomerados Jerárquicos (HCA); imágenes hiperespectrales (HSI); Análisis de Componentes Independientes (ICA); Espectrometría de masas de plasma acoplado inductivamente (ICP-MS); k-vecino más cercano (kNN); espectrometría de masas de plasma acoplado inductivamente por ablación láser (LA-ICP-MS); Análisis Discriminante Lineal (LDA); espectroscopia de ruptura inducida por láser (LIBS); Razón de Verosimilitud (LR); Análisis de Regresión Lineal Múltiple (MLR); Espectroscopia de infrarrojo cercano (NIR); Análisis de Componentes Principales (PCA); análisis discriminante de mínimos cuadrados parciales (PLS-DA); Análisis Discriminante Regularizado (RDA); Espectroscopia Raman Mejorada en la Superficie (SER); Modelado Independiente Suave de la Analogía de Clases (SIMCA); espectrometría de masas de iones secundarios de tiempo de vuelo (ToF-SIMS).

Para el desarrollo nuevos protocolos de análisis, es necesario considerar las cinco etapas, así como el diseño de experimentos que identifiquen los parámetros y variables experimentales que tienen una influencia significativa en el resultado objetivo. El propósito para la optimización de métodos debe elegirse cuidadosamente al desarrollar y optimizar métodos de análisis tomando en cuenta los siguientes puntos en la programación de la prueba.

- **Precisión:** qué tan cerca está el resultado del análisis del valor conocido de una muestra de control de calidad.
- **Selectividad:** cuánta o poca interferencia hay de otros compuestos o especies presente en una mezcla.
- **Sensibilidad:** qué tan grande es la respuesta a cierta entrada.
- **Límites de detección:** qué tan bajo todavía se puede ver un nivel.
- **Recursos:** parámetros como el tiempo total de análisis, la cantidad de productos químicos utilizados, el costo, etc.

Hay muchos diseños experimentales disponibles, pero la mayoría se pueden asignar dos clases: factorial y superficie de respuesta. Por lo general, los diseños factoriales se usan para determinar qué variables tienen una influencia significativa en los resultados del análisis, mientras que los diseños de superficie de respuesta se usan para hacer un modelo cuantitativo de efectos significativos para optimizar los objetivos del análisis (variables dependientes). Por lo tanto, para desarrollar un procedimiento de análisis, tiene sentido analizar primero las variables importantes con un diseño factorial y luego solo optimizar aquellas con un diseño de superficie de respuesta. En la última década se ha desarrollado la aplicación de los métodos quimiométricos combinados con técnicas analíticas para la caracterización y discriminación de muestras, lo que lleva a los exámenes informativos y representativos de las muestras. La quimiometría, los métodos multivariados y la aplicación de la quimiometría en diversas disciplinas de la ciencia forense sugirieron que estas nuevas técnicas y métodos matemáticos/estadísticos deberían utilizarse en el trabajo de casos de la ciencia forense para obtener confianza estadística en los resultados (Wolstenholme., 2021, Saucedo., 2019, Kent *et al.*, 2022).

2. Ejemplos de aplicaciones

Así mismo es necesario dilucidar las aplicaciones de las técnicas y métodos científicos que nos brindan una nueva manera de abordar la arqueología forense debido a la cantidad de información que estos arrojan, representan la base racional sobre la que se cimienta el trabajo del investigador actual se denomina método científico, por tanto el objetivo de la presente revisión es ejemplificar y discutir las nuevas tecnologías y procedimientos que se han desarrollado para el descubrimiento y recuperación de datos que ayuden a la arqueología forense. Las investigaciones forenses deben basarse en los métodos científicos y técnicas de recolección de evidencia más avanzados disponibles. Se propone una metodología esquematizada en la Figura 2 donde se denota la estructura que incluye un equipo interdisciplinario de científicos forenses, expertos en aplicación de la ley y científicos analistas

para facilitar todos los aspectos del proceso legal y de investigación. Estos temas son de gran relevancia porque la mayoría de las jurisdicciones legales tienen una gran cantidad de casos cada año y los procedimientos operativos actuales no están estandarizados. Existe una clara necesidad de diálogo nacional para mejorar los esfuerzos de investigación y asegurar las mejores prácticas en ciencia y arqueología forense en todas las jurisdicciones legales y agencias de aplicación de la ley. A continuación, se abordan algunos ejemplos de la aplicación de técnicas analíticas en la arqueología forense que han sido seleccionadas por su entera relación con el campo académico de la caracterización de materiales y el método científico, con un enfoque a la arqueología forense, dándole entero reconocimiento y credibilidad a sus respectivos autores.

El propósito de esta sección es contribuir a un diálogo sobre la mejor manera de implementar métodos avanzados y técnicas de investigación que permitan encontrar fosas clandestinas y personas desaparecidas de manera más eficiente y efectiva. También se argumenta que una vez que se encuentran los restos humanos, se debe prestar atención a su recuperación, recopilando la mayor cantidad de evidencia posible utilizando métodos científicos mejorados, que no se emplean comúnmente en la actualidad. En términos generales, la ciencia contemporánea y la ciencia de los materiales se está volviendo cada vez más interdisciplinaria, uniendo a investigadores de campos relacionados con objetivos comunes para resolver problemas complejos. De manera similar, los equipos forenses que incluyen investigadores de homicidios, expertos en ADN, biólogos, químicos, geofísicos, antropólogos físicos, arqueólogos, profesionales de pruebas de rastro, expertos en la escena del crimen, entre otros, están uniendo sus conocimientos, experiencia y práctica en formas revolucionarias que sin duda cambiarán aplicación de la ley y procedimientos judiciales en el futuro. Se espera que las estrategias alternativas propuestas aquí mejoren las ciencias forenses de acuerdo con las recomendaciones publicadas

2.1. Espectroscopia de microsonda Raman

El fenómeno Raman, también conocido como efecto Raman, es la dispersión inelástica de fotones por la materia, lo que significa que hay tanto un intercambio de energía como un cambio en la dirección de la luz. Típicamente, este efecto implica que una molécula gana energía vibracional a medida que los fotones incidentes de un láser visible se desplazan a una energía más baja. La espectroscopia Raman es una técnica utilizada para caracterizar materiales. Al igual que con las moléculas individuales, un material sólido puede ser identificado por sus modos fonónicos característicos. Esta técnica es ampliamente utilizada en ciencia de materiales, química, física, ciencias de la vida y medicina, industrias farmacéuticas y de semiconductores, control de procesos y calidad y análisis forense.

En el campo forense, la espectroscopia Raman se ha utilizado para identificar una variedad de materiales diferentes químicamente, incluyendo tintas de bolígrafo, lubricantes de condones, sustancias controladas y telas. Para el análisis de fluidos biológicos, la espectroscopia Raman ha demostrado ser capaz de identificar sangre, semen y saliva. También se ha utilizado en la toxicología forense como una herramienta analítica para detectar y cuantificar drogas en especímenes biológicos.

Aunque la técnica analítica de la espectroscopia Raman se ha establecido como una herramienta útil para analizar una variedad de muestras durante casi cien años, solo se ha reconocido

seriamente su valor en la ciencia forense durante las últimas dos décadas. Uno de los principales "cambios de juego" ha sido el desarrollo de espectrómetros Raman portátiles, que permiten la recopilación de datos y la identificación de sustancias directamente en el campo, como una escena del crimen o puertos de entrada/salida como un aeropuerto o una frontera del país.

2.1.1. Diferenciación de la raza por espectroscopía Raman de una mancha de sangre para fines forenses.

Teniendo en cuenta los propósitos forenses, se desarrolló un método no destructivo y rápido para la diferenciación racial de los donantes de sangre periférica. La sangre es una forma extremadamente valiosa de evidencia en investigaciones forenses, por lo que el análisis adecuado es crítico. Debido a que se pueden encontrar cantidades potencialmente rastros minúsculos de sangre en una escena del crimen, es ideal tener un método que no sea destructivo y proporcione una cantidad sustancial de información sobre la muestra. En este estudio, la espectroscopía Raman se aplicó con un análisis estadístico avanzado para discriminar entre donantes caucásicos (CA) y afroamericanos (AA) basados en trazas sanguíneas periféricas secas. Se recolectaron espectros de 20 donantes que varían en género y edad. El análisis discriminante de las máquinas de vectores de soporte (SVM-DA) se utilizó para la diferenciación de las dos razas. Un método de validación cruzada (CV) de bucle exterior evaluó el rendimiento del clasificador SVM para cada donante individual del conjunto de datos de capacitación. El rendimiento de SVM-DA, evaluado por el área bajo la métrica de la curva (AUC) Figura 3 (A), mostró una probabilidad del 83% de clasificación correcta para ambas razas y una especificidad y sensibilidad del 80%. Este estudio preliminar es prometedor para distinguir entre diferentes razas de sangre humana. El método tiene un gran potencial para la investigación real de la escena del crimen, proporcionando resultados rápidos y confiables, sin preparación de muestras, destrucción o consumo.

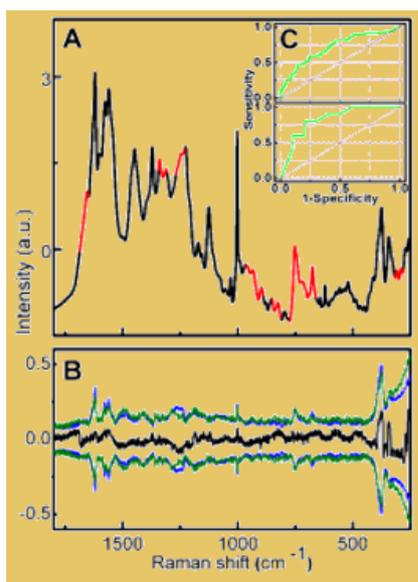


Figura 3. (A) El espectro de Raman corregido y normalizado (B) Diferencia del espectro medio (línea negra) y la desviación estándar (DE) de los espectros sanguíneos de donantes caucásicos (líneas azules) y afroamericanos (líneas verdes) (Místek et al., 2016)

Por primera vez, la espectroscopía Raman, combinada con quimiometría, se ha utilizado para diferenciar entre trazas de sangre seca de los donantes de CA y AA. Para validar los

resultados internos de CV, que lograron una clasificación correcta del 71% de los donantes en función de todos los espectros incluidos en un conjunto de datos de entrenamiento, se realizó CV externo. El resumen de las predicciones del sujeto CV de bucle exterior sirvió para 20 modelos SVM-DA diferentes demostró la probabilidad del 83% (AUC) de la clasificación de carrera correcta de donantes individuales después del análisis. Estos resultados son prometedores para la discriminación de la raza de sangre periférica humana que se encuentra en una escena del crimen. Dado que la composición sanguínea varía cuantitativamente para diferentes razas, estos cambios para las dos razas consideradas aquí pueden detectarse mediante espectroscopía Raman. Más importante aún, se aplicó quimiometría para apoyar y fortalecer la clasificación. Este enfoque permitió la detección no destructiva de diferencias menores que estaban presentes en los espectros sanguíneos entre dos razas (CA y AA). Mediante el uso de la espectroscopía Raman para el método de análisis, se conserva la integridad de la mancha de sangre y se puede examinar más a fondo para pruebas posteriores (por ejemplo, perfiles de ADN) sin cambios en la muestra. Las características del equipo utilizado en esta investigación corresponden a un espectrómetro Renishaw Via Raman para el análisis de muestras. El instrumento se equipó con un microscopio óptico Leica con objetivo de 20x y platina automática PRIOR. Se usó una luz láser de 785 nm (potencia = 4,0 mW) para la excitación; Se registraron 20 acumulaciones de 10 de cada punto de la muestra. Los espectros se registraron en el rango de 250-1800 cm^{-1} . Se recolectó un total de 180 espectros usando mapeo Raman con nueve puntos diferentes para cada muestra. El instrumento se calibró utilizando un estándar de silicio (pico a 520,6 cm^{-1}) antes de recolectar los espectros de una mancha de sangre.

2.1.2. Caracterización forense de fibras mediante espectroscopía Raman

Dentro de los hallazgos que en el campo forense ocurren generalmente se encuentran residuos de telas y prendas de vestir completas que están directamente ligadas a las escenas del crimen como potencial evidencia y fuente de información. Es por esto que el estudio y determinación de los materiales que componen las mismas es de gran importancia para la investigación forense. A continuación, se describe un método de espectroscopía Raman que permite su identificación precisa.

El análisis de un conjunto de fibras, principalmente sintéticas, mediante espectroscopía de microsonda Raman, arrojan espectros de alta calidad, para lo cual no se requiere preparación de la muestra, lo que facilita el estudio de fibras con diferente estructura molecular observando espectros Raman muy diferentes. La fluorescencia es ocasionalmente un problema con la excitación a 632,8 nm, pero se reduce significativamente mediante el uso de un láser semiconductor que emite a 780 nm. Las fibras del mismo tipo de polímero de diferentes fabricantes tienen espectros Raman que son solo ligeramente diferentes, pero es posible distinguirla mediante la técnica estadística multivariada de análisis de componentes principales (PCA). Las fibras teñidas generan espectros con bandas que corresponden a modos de vibración característicos de un polímero, y bandas intensas que pertenecen al tinte, debido a la alta sección transversal Raman de las moléculas del tinte. La extracción del colorante, seguida de un procedimiento de sustracción espectral, permitió obtener espectros separados del polímero y del colorante.

Los espectros Raman, en el rango de 3700 - 200 cm^{-1} se obtienen en un espectrómetro de microsonda Renishaw Modelo 1000. Los elementos principales del espectrómetro son un

microscopio Olympus para visualizar la muestra y dirigir la luz excitante sobre la muestra y recoger la luz dispersada, un filtro óptico para eliminar la línea de Rayleigh, una rejilla de difracción única y una cámara enfriada eléctricamente. para detectar la señal Raman. El microscopio está equipado con tres objetivos intercambiables con aumentos de 50, 20 y 10, respectivamente. Típicamente, se utilizó el objetivo de 50 aumentos dando un tamaño de punto teórico en la muestra de 0,8 mm de diámetro. Este dispositivo cuenta con dos láseres disponibles: uno de helio-neón (HeNe) Spectra-Physics Modelo 127 que emite a 632,8 nm y un láser semiconductor Renishaw que emite a unos 780 nm. Ambos láseres produjeron una potencia láser máxima de aproximadamente 20 mW en la muestra. Los tiempos de medición estuvieron generalmente en el rango de 1 a 10 s. Para un pequeño número de muestras fluorescentes, la muestra se dejó bajo iluminación láser durante aproximadamente 5 minutos antes de que se iniciara la recopilación de datos, obteniendo el espectro que se muestra en la Figura 4 donde se puede apreciar el cambio en las señales características de cada componente que conforma el tejido del material.

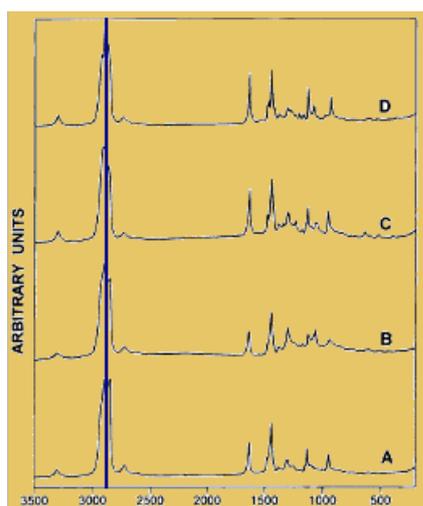


Figura 4. Espectros de microsonda Raman (excitación de 632,8 nm) de un conjunto de fibras de nylon de diferente estructura molecular. (A) nylon-6,12 (AO464); (B) nylon-6,11 (AO302); (C) nylon-6,6 (AO330); (D) nylon-6 (AO208) (Keen *et al.*, 1998).

La espectroscopia de microsonda Raman es útil para la caracterización forense de fibras. No se requiere preparación de muestra y la presentación de la muestra es simple. Se pueden examinar muestras extremadamente pequeñas como consecuencia de que es posible obtener un tamaño de punto láser de alrededor de 1 μm . Los espectros de alta señal/ruido de las fibras sintéticas se pueden obtener en cuestión de segundos, mientras que las fibras naturales como la lana y el algodón son dispersoras Raman más débiles y requieren tiempos de medición de alrededor de 2 min. Las fibras de diferente estructura muestran espectros Raman muy diferentes y se distinguen fácilmente (Keen *et al.*, 1998).

Las características del equipo utilizado durante este análisis corresponden a un espectrómetro de microsonda Renishaw Modelo 1000 en el rango de 3700-200 cm^{-1} . Los elementos principales del espectrómetro son un microscopio Olympus para visualizar la muestra y dirigir la luz excitante sobre la muestra y recoger la luz dispersada, un filtro óptico para eliminar la línea de Rayleigh, una rejilla de difracción única y una cámara CCD enfriada eléctricamente. para detectar la señal Raman. El microscopio está equipado con tres objetivos intercambiables con

aumentos de 50, 20 y 10, respectivamente. Típicamente, se utilizó el objetivo de 50 veces dando un tamaño de punto teórico en la muestra de 0.8 mm de diámetro. Había dos láseres disponibles: un láser de helio-neón (HeNe) Spectra-Physics Modelo 127 que emite a 632.8 nm y un láser semiconductor Renishaw que emite a unos 780 nm. Ambos láseres produjeron una potencia láser máxima de aproximadamente 20 mW en la muestra.

2.2. Análisis térmico

El análisis termogravimétrico de una muestra está caracterizada por aportar información que esta intrínsecamente relacionada a la diferencia de temperatura entre la muestra y un material de referencia en función del tiempo y de la temperatura. Los cambios en la muestra ya sean exotérmicos o endotérmicos, pueden ser detectados en relación al material de referencia inerte. Un cambio exotérmico, como una cristalización o una reacción química, aumenta la temperatura de la muestra más que la del material de referencia, lo que resulta en un valor más negativo para la diferencia de temperatura. Por otro lado, un cambio endotérmico, como la fusión de un material cristalino o la pérdida de agua de hidratación, hace que la temperatura de la muestra se retrase respecto a la del material de referencia, lo que resulta en un valor más positivo para la diferencia de temperatura. En resumen, los cambios exotérmicos y endotérmicos presentes en el termograma proporcionan información sobre las transformaciones que han ocurrido en la muestra.

Las fibras, entre otros tipos de trazas de evidencia, pueden proporcionar muy buenas pistas de investigación ya que su caracterización aporta información sobre la fuente de la fibra y el objeto del que se desprendió. Como evidencia asociativa, las fibras pueden proporcionar vínculos o relaciones entre personas o entre personas y objetos después de identificar a los sospechosos. Por ejemplo, las fibras de un pasamontaña se pueden encontrar en el pelo de la cabeza del usuario (Ashcroft *et al.*, 1988). Las técnicas térmicas, como el análisis térmico diferencial, también conocido como calorimetría de barrido diferencial de flujo de calor (DSC) y, en menor medida, el análisis termogravimétrico (TGA), son útiles para caracterizar polímeros y fibras, así como una amplia gama de otras sustancias que incluyen combustibles, lubricantes, solventes, aditivos, minerales, adhesivos, productos alimenticios, productos farmacéuticos y cosméticos. Las características térmicas particulares de las muestras de fibra pueden proporcionar información de huellas dactilares para fines de caracterización forense (Summerscales & Gwinnett., 2017).

A medida que la constitución química de las fibras compuestas se vuelve más compleja y los fabricantes de telas o productos terminados buscan combinaciones óptimas de propiedades operativas, incluida la resistencia mecánica, la solidez de los tintes, la resistencia a las arrugas o la absorción de la transpiración, la respuesta ha sido desarrollar una amplia gama de productos químicos y procedimientos físicos para estudiar la composición de la fibra y caracterizar el rendimiento del tejido textil. Muchos de los métodos desarrollados también pueden proporcionar a los investigadores en criminalística la capacidad de vincular a los sospechosos con la escena del crimen.

Se pueden obtener muestras estándar de fibra de composición conocida de proveedores textiles o de una sociedad de tintoreros. Las muestras para la caracterización por análisis térmico se prepararon utilizando tijeras limpias y afiladas para cortar longitudes cortas (1 mm) de fibra textil de pruebas comerciales o muestras. Las hojas de tijera y las pinzas utilizadas para manipular las fibras se limpiaron con tejido empapado en acetona entre las

muestras para eliminar la transferencia durante el corte y la manipulación. Las fibras cortadas se transfirieron a bandejas de aluminio (DSC) o platino (TGA) y se sometieron a velocidades de calentamiento de 2,5-15 °C min⁻¹ y límites de temperatura entre -60 y 450 °C (DSC) o temperatura ambiente y 600 °C (TGA), como se ilustra en la Figura 5 donde se muestra las curvas correspondientes a la absorción de energía que presenta cada material cuando presenta sus cambios de fase y de degradación característicos.

Las masas de muestra se limitaron a aproximadamente 3 mg y las fibras se compactaron ligeramente en las bandejas para lograr un buen contacto térmico con la superficie interna. Uno de los desafíos en el análisis de fibras, particularmente en una situación forense consiste en que la masa de la muestra disponible puede ser muy pequeña. La falta de muestra suficiente puede hacer que el análisis sea imposible incluso con técnicas instrumentales extremadamente sensibles (Gray et al., 2011).

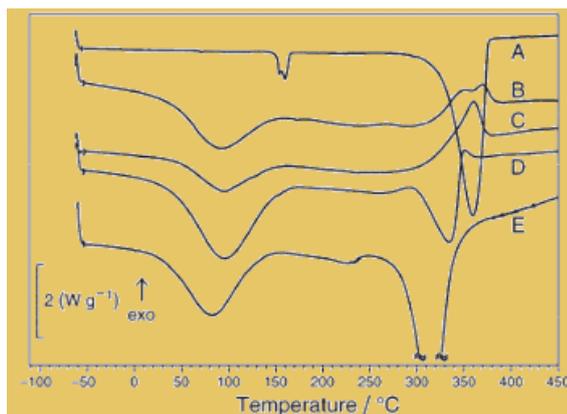


Figura 5. Termogramas normalizados de fibras naturales seleccionadas: (A) ácido poliláctico; (B) lino; (C) lana; (D) rayón; y (E) seda (Gray et al., 2011).

Hay muchos aspectos del análisis forense de trazas que son relevantes para la práctica normal en laboratorios analíticos comerciales o académicos. La experiencia con el enfoque descrito ha sido positiva en el sentido de que es un factor que contribuye a que quienes requieren este tipo de caracterización muestra mucho más interés en una mejor preparación de muestras, el análisis y la investigación posterior al laboratorio. Esto permite una mejora en su discusión sobre la aplicabilidad del método al análisis forense específico.

Este experimento tiene varios objetivos previstos; interpretar termogramas y reconocer la utilidad de estas técnicas para proporcionar información adicional sobre ciertas propiedades de los materiales sólidos. La elección de los materiales para este estudio estuvo motivada por la importancia comercial de los textiles y la amplia gama de aplicaciones basadas en fibras. También se espera que esta elección brinde la oportunidad de introducir o revisar temas relevantes en química textil y de polímeros (Gray et al., 2011).

Los cristales de polímeros metaestables, presentes en las fibras sintéticas semicristalinas, tienden a mostrar múltiples endotermas de fusión, ya que sufren fusión parcial, perfeccionamiento del cristal y recristalización a temperaturas cercanas a sus puntos de fusión. Este aspecto puede proporcionar evidencia útil para la comparación forense de prendas de vestir y fibras, ya que estas características son particularmente sensibles a la temperatura y el historial de procesamiento. Al igual que con las fibras naturales,

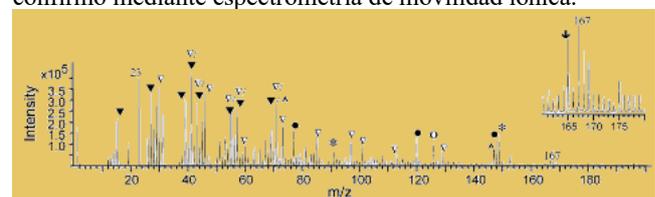
la información obtenida de TGA Figura 5 brinda un apoyo útil para atribuir eventos térmicos a procesos físicos que son de ayuda en la recopilación de las investigaciones forenses. Las características del equipo y proceso de estudio se hizo con fibras cortadas que se transfirieron a bandejas de aluminio para el caso del DSC y en platino para el TGA y se sometieron a velocidades de calentamiento de 2.5 - 15 C min⁻¹ y límites de temperatura entre -60° C y 450° C para el caso del DSC y temperatura ambiente y 600° C para el caso del TGA. Las masas de muestra se limitaron a 3 mg. Los instrumentos usados fueron un Mettler DSC 831e con una sonda de enfriamiento LabPlant y un Rheometric Scientific TGA 1000M.

2.3. Espectrometría de masas de iones secundarios ToF-SIMS.

La capacidad de identificar y cuantificar varios componentes orgánicos e inorgánicos contenidos en polvos negros y sin humo es importante para las aplicaciones forenses. En particular, se ha vuelto de gran interés diferenciar entre varias muestras de pólvora mediante la determinación de su composición aditiva. Existen muchas tecnologías que se pueden utilizar para determinar la composición de las muestras de pólvora, incluida la electroforesis capilar (CE), la espectroscopia de rayos X de energía dispersiva (EDX), la fluorescencia de rayos X (XRF), la microscopía Raman, la cromatografía de gases y la espectrometría de masas (GC-MS) (así como muchas otras técnicas de espectrometría de masas), espectrometría de movilidad iónica (IMS) y análisis infrarrojo. Debido a su sensibilidad superficial, bajos límites de detección y capacidades de imagen, la espectrometría de masas de iones secundarios de tiempo de vuelo (ToF-SIMS) es una técnica ideal para el análisis de residuos de pólvora.

La técnica ToF-SIMS permite el análisis directo de partículas sólidas recolectadas mediante diversos métodos, incluyendo la detección IMS y la filtración al vacío. Mediante el análisis espectral de masa, es posible identificar y diferenciar entre distintos tipos de pólvoras. ToF-SIMS también se puede utilizar para obtener imágenes moleculares de rejillas de recolección de partículas y/o barridos para fines de conteo de partículas. Estas capacidades de formación de imágenes moleculares también serán útiles para la determinación de la distribución espacial de los diversos componentes explosivos y aditivos contenidos en las muestras de pólvora.

Todas las muestras de pólvora fueron suministradas por el laboratorio forense de la Oficina de Alcohol, Tabaco, Armas y Explosivos (Ammendale, MD). Se analizaron tres pólvoras sin humo diferentes con ToF-SIMS: (1) pólvora tipo bola Winchester Western 296, una pólvora de base doble que contiene nitrocelulosa y nitroglicerina, (2) pólvora sin humo tipo disco Alliant Bullseye1, también una pólvora de base doble, y (3) IMR 4320 Pólvora sin humo tipo varilla, que, a diferencia de las dos primeras pólvoras, es una pólvora de base única que consta únicamente de nitrocelulosa, como se aprecia en la Figura 6 que muestra las señales características del espectro de masas. La presencia o ausencia de nitroglicerina en estas muestras se confirmó mediante espectrometría de movilidad iónica.



Se utilizó espectrometría de masas de iones secundarios de tiempo de vuelo para caracterizar tres pólvoras sin humo diferentes y seis muestras de pólvora negra diferentes. Las características espectrales de masas de cada muestra de pólvora individual se obtuvieron con éxito y fueron consistentes con las composiciones de pólvora conocidas. Se determinó que con ToF-SIMS se podía distinguir entre las diferentes muestras mediante la comparación de la composición de los aditivos, así como la distribución espacial de los aditivos contenidos en las pólvoras. La presencia de imperfecciones o contaminantes únicos dentro de la pólvora también ayudó a diferenciar las muestras de pólvora.

La utilidad del análisis de componentes principales también se demostró con éxito como herramienta para analizar datos SIMS complejos para aplicaciones forenses. Con el análisis de componentes principales, permite extraer información de miles de espectros de masas muy rápidamente. Esta información se puede utilizar como medio de comparación entre muestras conocidas y desconocidas. En general, ToF-SIMS ha demostrado ser una tecnología útil para el análisis forense de muestras de pólvora. Se espera que, en el futuro, esta técnica se aplique en el análisis de otras formas de trazas de evidencia porque es una técnica de análisis de superficie altamente sensible que puede ayudar a reducir el campo de búsqueda de posibles fuentes de donde puede provenir la pólvora (Lucena *et al.*, 2023). Los experimentos TOF-SIMS se realizaron en un espectrómetro de masas de iones secundarios de tiempo de vuelo Ion-TOF IV (Munster, Alemania) equipado con fuentes de iones primarios de Ar^+ y Ga^+ , que bombardearon la superficie con un ángulo de incidencia de 458° a la superficie normal, las muestras se introducen en una cámara de ultra alto vacío mantenida a 1×10^{-10} Torr ($1,33 \times 10^{-8}$ Pa). A continuación, se enfoca un haz de iones primario sobre la superficie de la muestra (tamaño de punto de 0,1 mm para Ga^+ y tamaño de punto de 5 mm para Ar^+). Todos los experimentos de obtención de imágenes se realizaron con una pistola Ga^+ de 25 keV. La corriente objetivo se mantuvo en una corriente pulsada de 2 pA durante 294 s en un área rasterizada de 500 mm 500 mm.

2.4. Difracción de rayos X

Debido a las dificultades que representa el poder obtener información cuantitativa de huesos quemados, se describe la utilización de un método preciso para determinar la temperatura y la duración de la quema de restos humanos en contextos forenses. La aplicación del método de difracción de rayos X de polvo a una muestra de hueso y dientes humanos permitió determinar su comportamiento microestructural, en función de la temperatura (200 – 1000 °C) y la duración de la combustión (0, 18, 36 y 60 min). Los resultados experimentales de las 57 secciones de huesos humanos y los 12 molares determinan que el crecimiento de los cristales de hidroxiapatita es una función directa y predecible de la temperatura aplicada, que sigue una relación logística no lineal. Esto permitirá al investigador forense adquirir información útil sobre la temperatura de equilibrio provocada por el proceso de combustión y sugerir una duración razonable de la exposición al fuego (Thompson., 2005).

Los patrones de difracción son el resultado de la interferencia de ondas que se propagan a través de una apertura o alrededor de un objeto. Cada pico en un patrón de difracción representa una dirección en la que las ondas interfieren constructivamente, es decir, las ondas están en fase y se suman para producir una amplitud máxima. La posición y la intensidad de los picos en un patrón de difracción proporcionan información sobre la estructura del objeto o la apertura que está causando la difracción. En

términos más técnicos, los picos en un patrón de difracción son el resultado de la interferencia constructiva entre las ondas que se propagan a través de una apertura o alrededor de un objeto. La posición y la intensidad de los picos están determinadas por la estructura del objeto o la apertura, así como por las propiedades de las ondas incidentes.

El método es factible para poder estimar el efecto de la temperatura en función de la duración de un evento de quema forense, centrándose en los cambios microscópicos en los huesos y los dientes y usando XRD. La técnica es particularmente apropiada para eventos dentro del rango de temperatura de 200 a 1000 °C para una variedad de tiempos de combustión. Este rango incluye la mayoría de los escenarios forenses, aunque también se debe tener en cuenta que este rango también incluiría la mayoría de los escenarios arqueológicos y que esta metodología sería apropiada para esos contextos (Piga *et al.*, 2009).

El proceso de crecimiento que experimentan los cristales de Hap en la fase mineralógica de las muestras femorales sigue una tendencia sigmoide logarítmica con una temperatura característica de alrededor de 850°C, en la Figura 7 se aprecian las transformaciones de la fase cristalina correspondientes a la calcinación y las diferentes señales que se obtienen en relación a las temperaturas de exposición, como se determinó con cuatro tiempos de combustión adoptados para este caso. para determinar si los tejidos duros se han quemado, pero también para sugerir la temperatura y la duración de ese evento de quemadura. Antes del tratamiento térmico, el parámetro de tasa de crecimiento p parece ser mayor que en los resultados de mayores periodos de quema. Sin embargo, el tamaño promedio de los cristales de Hap en los dientes no tratados (224Å) es significativamente mayor que en los dientes no tratados de huesos esqueléticos (170Å), respectivamente. Alternativamente, el tamaño promedio de los cristales de Hap que se queman a más de 900 °C es mayor en los huesos que en los dientes. Esto sugiere que los dos tipos de bioapatita natural deben compararse con sus curvas de calibración específicas cuando la estimación precisa de la temperatura, y no se recomienda una curva para todos los tejidos duros.

El cambio en la estructura cristalina con el aumento de la temperatura se produce por la difusión de los átomos y cationes/aniones dentro de la red cristalina. El aumento de la temperatura genera un incremento en la cristalinidad, como se observa en los patrones de difracción debido a que reduce el espacio interatómico, permitiendo la formación de nuevas fases o la disminución de estas como en el caso del CaO. Esto significa que a medida que aumenta la temperatura, esta entropía le permite a los átomos o iones en la red cristalina tiene más energía para moverse y reorganizarse, lo que conlleva a cambios en la estructura cristalina.

Los patrones XRD se obtienen con un equipo Bruker D8 (Bruker AXS GmbH, Karlsruhe, Alemania), Philips PW-1050 (PANalytical, Almelo, Países Bajos), Siemens D-500 (Siemens AG, Múnich, Alemania) y Rigaku DMAX. (Rigaku Corporation, Tokio, Japón) difractómetros en la geometría Bragg-Brentano con $\text{CuK}\alpha$ radiation ($\lambda = 1.54178$). El goniómetro se equipó con un monocromador de grafito en el haz difractado y los patrones se obtienen con un tamaño de paso de 0.05° . El generador de rayos X trabajó a una potencia de 40 kV y 30 mA y la resolución de los instrumentos (rendijas divergentes y antidisipación de 0.5°) se determinó utilizando patrones de $\alpha\text{-SiO}_2$ y $\alpha\text{-Al}_2\text{O}_3$ libres del efecto de tamaño reducido de cristales y defectos de red. Los patrones de polvo se recolectaron en el rango angular de 15° a 120° en 2θ

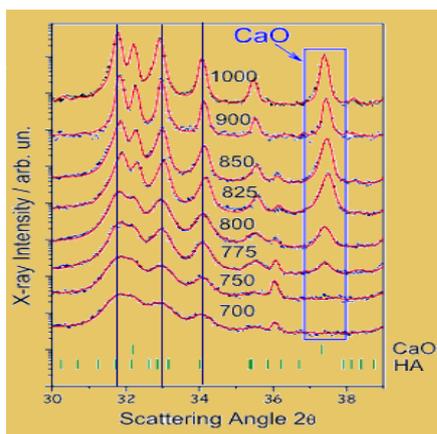


Figura 7. Una porción seleccionada de los patrones XRD de dientes tratados a las temperaturas citadas (puntos de datos) con el ajuste Rietveld correspondiente (líneas completas). La aparición de la fase cúbica de CaO se percibe después del tratamiento a 850 °C. La fracción de CaO con respecto a la hidroxiapatita es menor que para el caso de los huesos (Piga *et al.*, 2009).

2.5. Cromatografía de Gases en la detección de colorantes en fibras

La identificación por métodos cromatográficos y espectroscópicos de fibras de poliéster teñidas con colorantes dispersos y fibras de algodón teñidas con colorantes reactivos (Śmigiel-Kamińska *et al.*, 2020) analizan los diferentes tipos de colorantes y brindan una descripción general de los procedimientos de extracción para el aislamiento, así como los métodos cromatográficos descritos en la literatura para la identificación de colorantes reactivos extraídos del algodón y colorantes dispersos extraídos de las fibras de poliéster, mediante el uso de microespectrofotometría y espectroscopia Raman. Smigiel-Kaminsky *et al.* desarrolló y validó dos métodos Cromatografía líquida de ultra alta presión (HPLC-DAD) acoplada a espectrometría de masas de tiempo de vuelo de cuadrupolo (UPLC-QTOF-MS) que se muestra en la Figura 8 correspondiente a las señales detectadas que son separadas por el cromatógrafo en diferentes tiempos para identificar colorantes dispersos en fibras de poliéster individuales. Se probaron diferentes agentes de extracción y se encontró que el clorobenceno era el más efectivo. Gora *et al.* confirman el uso de cromatografía en capa fina (TLC) para la diferenciación de tintes después de una extracción enzimática de fibras de algodón (Góra & Was., 2019). Eligieron 21 muestras de algodón rojo y combinaron la visualización con un comparador espectral de video (VSC). Descubrieron que esta técnica es más efectiva en la diferenciación de las fibras rojas de algodón que la microscopía de luz óptica y Raman (Lepot *et al.*, 2023).

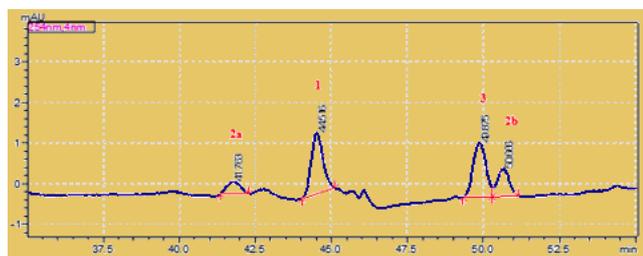


Figura 8. Los cromatogramas ejemplares registrados por HPLC-DAD para una solución estándar de tres colorantes dispersos caracterizados por el color rojo (A) a una concentración de $2,5 \mu\text{g mL}^{-1}$.

En este estudio se analizó la utilidad de dos sistemas cromatográficos, HPLC-DAD y UPLC-QTOF-MS, para la identificación de fibras de poliéster teñidas con colorantes dispersos. La cuantificación muy alta de los métodos desarrollados permite un análisis de tinte con un valor probatorio de los exámenes forenses de fibra de mayor calidad, ya que es posible distinguir los textiles que son diferentes en términos de química de tinte y tienen un color similar. La cuantificación muy alta permite revelar la presencia de colorantes adicionales (junto a los principales colorantes presentes) en cantidades que son demasiado pequeñas para inducir una diferencia de color notable en las fibras. Las medidas de HPLC-DAD se realizaron en un cromatógrafo (Shimadzu, Duisburg, Alemania), equipado con un diodo SPD-M20A detector de matriz, una bomba LC-20AD, un muestreador automático SIL 20AHT, un horno de columna CTO10ASvp y un desgasificador DGU-20A5R. Las separaciones HPLC-DAD de los analitos se llevaron a cabo en una columna Gemini NX-C18 ($150 \times 4,6 \text{ mm}$, Phenomenex, Torrance, EE. UU.) a 40°C . El volumen de inyección de las muestras fue de $20 \mu\text{L}$.

2.5.1. Cromatografía de Gases para la determinación de heroína

Se utilizó una técnica que involucra la espectrometría de masas de cromatografía de gases bidimensional respaldado por espectrómetros de masas de alta resolución de cromatografía de gases unidimensionales, para rastrear y confirmar impurezas químicas características a través de una heroína ilícita auténtica. Los compuestos menores y trazas presentes en la heroína ilícita que resultan del opio usado y el proceso de fabricación generan un perfil de impurezas específico de cada lote. En base a lo cual es posible el análisis comparativo de las muestras de heroína, lo que puede contribuir, entre otras cosas, a descubrir los vínculos entre las muestras incautadas. Por lo tanto, los procesos de fabricación ilícitos se describen vagamente en la literatura. Los compuestos neutros y ácidos de los perfiles de impurezas sin adulterar en diferentes etapas durante un proceso auténtico de fabricación de heroína se analizaron mediante cromatografía de gases bidimensional integral: masa de tiempo de vuelo.

Se examinan 44 compuestos, en su mayoría productos de acetilación, que se encuentran en la base de la heroína, incluidos cuatro alcaloides de opio inalterados y 18 compuestos objetivo utilizados dentro del Programa Alemán de Análisis de Heroína en el Bundeskriminalamt (Oficina Federal de Policía Criminal; BKA). Se encontró que 12 compuestos se conservaron inalterados durante el proceso de fabricación. En el caso de 21 compuestos acetilados, el alcaloide original se conoce o podría asignarse, i.e. por análisis de estándares acetilados por separado. La temperatura inicial del horno GC se ajustó a 90°C durante 2 min seguido de un aumento de $10^\circ \text{C}/\text{min}$ a 240°C y de $4^\circ \text{C}/\text{min}$ a 350°C . El tiempo de modulación se ajustó a 5 s. Se realizaron inyecciones de $1 \mu\text{L}$ a 300°C utilizando helio como gas portador. La presión de cabeza se elevó paralelamente al programa del horno de 247 kPa a 488 kPa . El rango de masas se fijó en 40-550 unidades a una tasa de adquisición de 100 Hz como se muestra en la Figura 9 donde se ilustran las principales señales características de cada componente. Los parámetros adicionales de temperatura y modulación se describen de manera detallada en la investigación de Schäffer *et al.*, 2012, donde se indica que la temperatura inicial del horno GC se fijó en 90°C durante 2 min, seguida de $10^\circ \text{C}/\text{min}$ hasta 340°C . Se fijó una compensación de temperatura de 100°C en el modulador. El tiempo de modulación se ajustó a 2 seg. Se realizaron inyecciones de un microlitro a 300°C en modo split less

con helio como gas portador y con una presión de cabeza de 434 kPa, que se redujo a 303 kPa después del tiempo de transferencia (120 s). A continuación, la presión se elevó paralelamente al programa de temperatura del horno hasta 434 kPa. Las temperaturas de la línea de transferencia y de la fuente de iones se fijaron en 300 °C y 250 °C, respectivamente. El rango de masas se ajustó a 40–500 m/z a una tasa de adquisición de 100 Hz.

Durante este estudio, las muestras se analizaron en un cromatógrafo de gases acoplado a un sistema de espectrómetro de masas de tiempo de vuelo de alta resolución (GC-HRToF-MS). La ausencia de un ion molecular observable para algunos compuestos es el principal inconveniente de la ionización por impacto de electrones (EI). Para evitar la fuerte fragmentación de las moléculas, se deben aplicar técnicas de ionización suave, como la fotoionización (Eschner *et al.*, 2010) o la ionización química a presión atmosférica (APCI), que fue introducida en 1973 por Horning *et al.* y se basa en la nebulización presurizada en una descarga de corona a presión atmosférica (Horning *et al.*, 1973). Los clústeres de agua y nitrógeno ionizado generados provocan la protonación de los analitos. Para el trabajo presentado, se acopló un cromatógrafo de gases a un espectrómetro de masas de resonancia de ciclotrón de iones por transformada de Fourier (FTICRMS) utilizando APCI como interfaz.

La resolución de masa ultra alta proporcionada por los sistemas FTICRMS combinada con la separación cromatográfica (GC) y la ionización suave (APCI) es una herramienta eficiente para la caracterización de una muestra y la elucidación de la composición elemental/fórmula molecular basada en la molécula observada. En este estudio se utilizó la combinación de GC×GC y GC unido a espectrometría de masas de alta resolución para caracterizar las impurezas ácidas y neutras en muestras tomadas de los diferentes pasos durante un proceso auténtico de fabricación de heroína para obtener información básica sobre la composición y el origen de la heroína. las impurezas resultantes de una síntesis tan controlada.

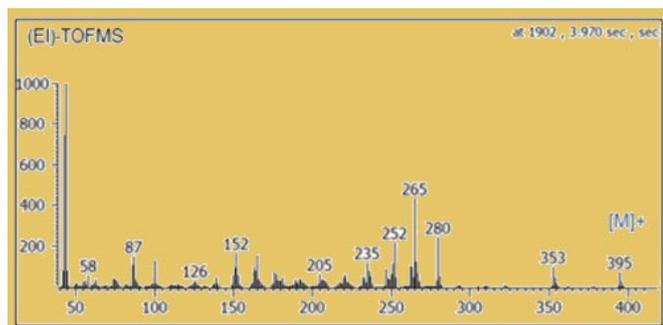


Figura 9. Espectros de masas adquiridos de N-acetilnarcotina (izquierda) y 3,6-dimetoxi-4-acetoxi-5-(2-(N-metilacetamido)) etilfenantreno (derecha) adquiridos con (EI)-TOFMS (Schwemer *et al.*, 2017).

Los compuestos de impurezas obtenidos por extracción ácida de muestras tomadas en diferentes etapas del proceso de fabricación ilícita auténtico y documentado de heroína de Afganistán se analizaron mediante cromatografía de gases bidimensional integral. La técnica se beneficia de la mayor separación cromatográfica que, en combinación con la continuidad espectral y la alta tasa de adquisición del sistema TOF, mejora el rendimiento de la deconvolución y mejora la confiabilidad de los datos.

2.6. Microscopio Electrónico de Barrido

La microscopía, óptica como electrónica, juega un papel fundamental en el análisis forense. La microscopía óptica es una técnica rápida, accesible y no destructiva para metales preciosos, materiales pétreos y muestras irremplazables. Los especialistas de laboratorios forenses prefieren esta técnica para llevar a cabo análisis de primera línea en los campos de estudio e investigación, antes de hacer un uso subsecuente de otras técnicas. También se utilizan otras formas de microscopía, como la microscopía de luz polarizada para la identificación de las fibras y la microscopía de comparación para cotejar las marcas dejadas por herramientas, armas de fuego o la estructura de los cabellos. Por otro lado, la microscopía electrónica tiene una amplia variedad de aplicaciones en la investigación forense. Numerosas pistas de la escena del crimen, incluyendo fragmentos de vidrio y pintura, marcas de herramientas, drogas, explosivos y residuos de armas de fuego (RSG) pueden ser analizados visual y químicamente con el microscopio electrónico de barrido. Las conclusiones basadas en este análisis son cruciales, ya que pueden establecer la naturaleza del crimen, así como quién estuvo involucrado. En resumen, tanto la microscopía óptica como la electrónica son herramientas fundamentales en el análisis forense.

La microestructura 3D del hueso petroso mineralizado de un cerdo maduro se ha visualizado utilizando un microscopio electrónico de haz de iones enfocado (FIB-SEM). Se divide la parte superior en dos zonas según el grado de mineralización; La hipermineralización de la zona alta da como resultado que las bandas de colágeno se revelen poco en la zona de menor densidad mineral (LMD) y estén ausentes en la zona de alta densidad mineral (HMD). Por lo tanto, no fue posible usar bandas para descifrar la estructura 3D. En su lugar, se utiliza la opción de anisotropía en el software de procesamiento de imágenes Dragonfly para visualizar las fibrillas de colágeno menos mineralizadas y/o los nanoporos que rodean o se encuentran entre los haces de fibrillas de colágeno (CFB). Por lo tanto, este enfoque rastrea indirectamente las orientaciones de los CFB. Mostramos que el hueso HMD tiene una estructura similar a la del tejido óseo y el LMD está compuesto de hueso lamelar con un motivo estructural similar a la madera contrachapada. Esto concuerda con el hecho de que el hueso fetal y no está remodelado. La estructura lamelar del hueso más alejado de la cámara óptica es compatible con la remodelación. La ausencia de fibrillas y nanoporos de colágeno menos mineralizados puede contribuir a preservar el ADN en los fósiles.

Por lo que se emplea un FIB SEM para estudiar las estructuras 3D de los huesos petrosos internos y externos a una resolución de alrededor de 10 nm. Los estudios FIB SEM de varios tipos de huesos durante la última década han proporcionado información estructural en 3D primero sobre la organización de la matriz orgánica ósea después de que se eliminó el mineral (Reznikov., 2013), y más recientemente sobre el hueso mineralizado en sí (Raguin *et al.*, 2013) El tipo de hueso más común en los mamíferos, a saber, el hueso lamelar, se ha estudiado tanto después de la eliminación del mineral (Reznikov *et al.*, 2014) como sin eliminar el mineral. Otros tipos de huesos que se han estudiado en 3D incluyen el hueso fibrolamelar, tendón mineralizado, el hueso de furca en la mandíbula y también han comparado huesos de ratones normales y enfermos (Buss *et al.*, 2020).

Las muestras de hueso petroso extraídas se deshidrataron por liofilización durante un periodo de 12 horas. Se seleccionaron dos regiones con diferentes densidades minerales para el

análisis; (hueso con menor densidad mineral LMD, y hueso con alta densidad mineral HMD). Todas las muestras se cortaron con una sierra enfriada con agua (Isomet, Buehler Ltd. EE. UU.) y luego se incluyeron en Epon (VersoCit-2kit, Struers, EE. UU.). La superficie expuesta del espécimen desde el ápice petroso fue tallada y pulida. Las muestras del hueso HMD se obtuvieron a partir de secciones transversales realizadas a través de la mitad del hueso petroso. A continuación, todas las secciones para la formación de imágenes se trituraron manualmente comenzando con papel de cuadrícula 350 durante 3 minutos y aumentando gradualmente hasta papel de cuadrícula 600 durante 3 minutos cada uno. Luego, las secciones se pulieron con una suspensión de diamante de 1 μm durante 5 minutos. Las muestras de la capa petrosa interna se expusieron después de cortar la parte superior como se señala en la Figura 10 (A) en secciones transversales hasta la longitud máxima del hueso (Ibrahim *et al.*, 2022).

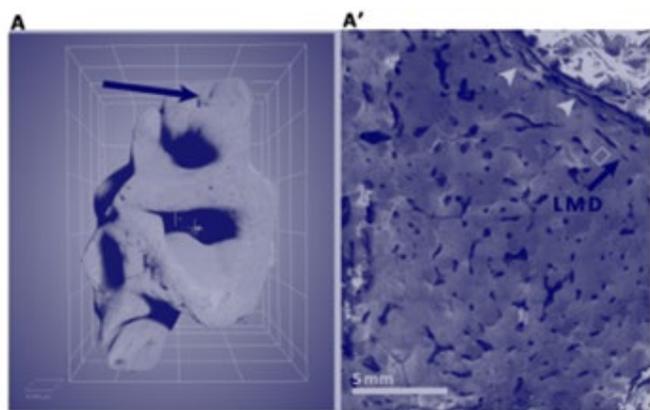


Figura 10. (A) Vista posterior de una microtomografía computarizada renderizada en 3D. Las muestras LMD se obtuvieron de una superficie aproximadamente 3 mm por debajo de la superficie natural en el vértice (flecha negra). A') Mapa de imagen BSE de la sección pulida desde el vértice petroso que muestra solo hueso LMD (Weiner & Rechav., 2023).

Se determinó que la estructura 3D utilizando FIB SEM del hueso petroso interno de alta densidad mineral se parece al hueso tejido como se muestra en la Figura 10 (A'). La estructura 3D del hueso petroso externo de baja densidad mineral está compuesta por haces de fibrillas de colágeno orientadas más o menos ortogonalmente como se observa en la Figura 10 (A') con las pequeñas flechas color blanco. Esta es la estructura básica del hueso lamelar. Determinado la estructura directamente utilizando un enfoque de segmentación de vectores de valores propios. Los nanocanales/fibrillas de colágeno escasamente mineralizadas están presentes en abundancia en la parte superior de menor mineralización, pero están casi ausentes en donde existe mayor mineralización. La ausencia de estos canales podría contribuir a una mejor conservación del ADN en los fósiles. Además, la vaina sin estructura alrededor de las lagunas en el hueso de alta densidad mineral también puede limitar la difusión de fragmentos de ADN (Weiner & Rechav., 2023). Las muestras pulidas se montaron en porta muestras de aluminio y se examinaron en un SEM (Phenom World, EE. UU.) usando un detector de electrones retrodispersados (BSE) (voltaje de aceleración de 10 kV y vacío de 10 Pa). La preparación para SEM de alta resolución incluyó cubrir todas las áreas sin imágenes con cinta de carbón conductor. Luego, las regiones expuestas de interés se recubrieron con iridio hasta un espesor de 8 nm.

2.7. Caracterización Termoquímica

Según el Departamento de Defensa, existe la necesidad de mejorar las capacidades forenses mediante el desarrollo de nuevas técnicas de medición para identificar firmas químicas y físicas de los explosivos caseros, así como características observables, metodologías para identificar fuentes de precursores de explosivos caseros, así como sus protocolos de formación y manejo, y herramientas para identificar los componentes químicos iniciales de las composiciones de residuos post voladura. Dos de los materiales para fabricar explosivos caseros más utilizados son el nitrato de amonio y el nitrometano. El comportamiento térmico del nitrato de amonio (AN) es importante tanto desde la perspectiva de la industria como de la seguridad nacional. En la agricultura, el nitrato de amonio se utiliza principalmente como fertilizante nitrogenado. También existe un uso industrial para el nitrato de amonio como material explosivo. Como cuestión de seguridad nacional, los extremistas suelen utilizar AN para fabricar explosivos caseros. Es por esta razón que se debe desarrollar y emplear una metodología que permita rastrear estos componentes y sus características químicas como se describe a continuación (Nazarian & Presser., 2014).

Las muertes relacionadas con explosiones son eventos poco comunes que requieren experiencia y confianza para poder realizar una investigación adecuada de la muerte. El presente estudio tiene como objetivo proporcionar un análisis forense detallado de los problemas e implicaciones que surgen en caso de una explosión (Galante *et al.*, 2021).

Se llevaron a cabo mediciones para obtener información térmica de los materiales explosivos caseros (HME) más utilizados Figura 10, es decir, nitrato de amonio/nitrometano y nitrato de amonio/No. 2 diésel, utilizando una nueva técnica de calentamiento por láser conocida como reactor térmico accionado por láser (LDTR). Se realizaron experimentos para diferentes composiciones, masas iniciales y temperaturas de estado estacionario, junto con los efectos asociados con el envejecimiento de HME. Para el nitrato de amonio/nitrometano (ANNM), las fracciones de masa NM/ANNM investigadas fueron 29% (valor estequiométrico) y 14%; estos experimentos fueron con mezclas frescas. La mezcla de fracción de masa NM/ANNM al 29 % también se envejeció al 3 %. Para nitrato de amonio/combustible (ANFO), inicialmente se usó una fracción de masa estequiométrica fresca de FO/ANFO del 6 %, y luego se investigaron mezclas envejecidas para fracciones de masa de 5,4 %, 4,7 %, 4,4 % y 3,7 %.

Los resultados indicaron que los termogramas LDTR (es decir, el cambio de temperatura de la muestra con el tiempo) para el ANNM mixto eran diferentes de los componentes aislados individuales, y que la técnica era sensible a la variación de la composición de HME. Además, los cambios en los termogramas a medida que envejecía el ANFO se atribuyeron a la volatilidad variable de las fracciones de hidrocarburos del combustible y, por lo tanto, brindan información importante para el análisis forense en cuanto a la reactividad del HME

El reactor térmico impulsado por láser consta de un reactor de lámina de cobre enchapado en oro con forma de esfera, con un diámetro exterior de 18.2 ± 1 mm y un grosor de 0.14 mm. El reactor está abierto en la parte superior e inferior para acceder a dentro de la esfera. La muestra se apoya en un termopar de alambre fino tipo K (0,25 mm de diámetro de perla, sin funda y $0.200 \text{ s} \pm 0.002 \text{ s}$ de tiempo de respuesta) El conjunto del reactor se calienta desde los lados opuestos mediante un rayo láser infrarrojo de onda continua Nd:YAG (que funciona a una longitud de onda de $1.064 \mu\text{m}$) para lograr una temperatura de muestra

uniforme. estacionado en el centro del reactor que define la temperatura de la muestra cómo se ejemplifica en la Figura 11.

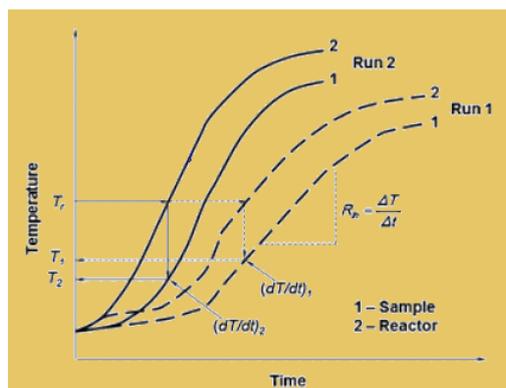


Figura 11. Análisis térmico LDTR utilizando el enfoque de tasa de calentamiento. Cada ejecución de referencia incluye el cambio en la temperatura de la muestra y del reactor con el tiempo para dos fluencias láser diferentes (Nazarian & Presser., 2015).

Las mediciones de LDTR con ANFO también demostraron la sensibilidad de la técnica a la volatilidad de los hidrocarburos combustibles. Teniendo en cuenta la vaporización preferencial (es decir, la evaporación de las fracciones de hidrocarburos más ligeros y volátiles a un ritmo más rápido que las fracciones más pesadas debido a su mayor presión de vapor) de las fracciones de hidrocarburos de ANFO, el envejecimiento de la muestra reduce la probabilidad de ignición/reacción, lo que reduce la explosión de HME. capacidad. Tal información es de importancia para el análisis forense de HME (Nazarian & Presser., 2015).

3. Conclusiones

- Los métodos quimiométricos antes mencionados ayudarán a los expertos forenses a identificar correctamente las pruebas que pertenecen al delito y, por lo tanto, a los delincuentes y su modus operandi. A la luz de la discusión anterior, algunos de los ejemplos mencionados anteriormente explican la utilidad de los métodos quimiométricos en la ciencia forense, ya que la quimiometría proporciona resultados sólidos y precisos cuando se utiliza correctamente. Es aconsejable seguir todos los requisitos previos del análisis multivariante antes de aplicarlo a casos reales, de lo contrario, se podrían obtener resultados falsos positivos.

- La incorporación de métodos multivariados en el análisis forense está aumentando enormemente, ya que ayuda a descifrar todos los aspectos de la investigación, como la identificación, diferenciación y clasificación de objetos expuestos. La presente revisión indica que aún se requiere el conocimiento fundamental del modelado matemático porque sin la información básica de la quimiometría, los expertos no podrán obtener un modelo confiable, preciso y significativo para el análisis predictivo de datos. La revisión actual resumió la descripción detallada de los métodos de reconocimiento de patrones supervisados y no supervisados junto con su aplicación en el campo de la ciencia forense.

- Las técnicas analíticas con ventajas como el análisis rápido, confiable, rentable, reproducible y de elementos múltiples son la frontera en el análisis de muestras forenses, es decir, documentos cuestionados, muestras biológicas, muestras químicas y otros rastros. Sin embargo, el principal problema de la técnica analítica es mejorar la precisión del análisis cualitativo y

cuantitativo extrayendo la información útil de una gran cantidad de datos complejos, es decir, espectros o cromatogramas. Para ser científicos arqueólogos forenses efectivos, los arqueólogos deben aprender qué constituyen los elementos de los delitos con los que podrían interactuar, cómo crear documentación para la corte y cómo calificar y ser un testigo experto. También pueden tratar con muchos tipos de artefactos o evidencias que normalmente no se encuentran en un sitio arqueológico. La arqueología forense es una subdisciplina que requiere no solo una sólida formación en trabajo de campo arqueológico, sino también capacitación adicional en ciencias y tecnologías forenses.

- Los arqueólogos tienden a ser menos fuertes en la identificación y preservación de evidencia, que, dada la tecnología moderna, puede usarse para vincular a un individuo a la escena. Los arqueólogos generalmente requieren reconocer materiales de los que se puede extraer ADN o levantar huellas dactilares para preservar y empaquetar el material. A la mayoría le resultaría difícil separar muchas de las drogas ilegales de “diseño” actuales de las medicinas de venta libre. Un arqueólogo puede documentar un conjunto de escombros modernos, pero no reconocerlo como consistente con los escombros de un laboratorio de metanfetamina. Por lo tanto, existe una debilidad grave en el reconocimiento de evidencia básica que debe reconocerse cuando se trabaja con las fuerzas del orden.

- La arqueología forense es más que aplicar los métodos de la arqueología a un caso forense. Es un campo multidisciplinario que también incluye la osteología, el derecho y la ciencia forense. Simplemente no es ético formar parte de una investigación forense sin una comprensión básica del método y la teoría de la ciencia forense, además de sólidas habilidades arqueológicas de campo, y es evidente que la mayoría de las técnicas analíticas que se usan en Ciencia e Ingeniería de materiales aportan información de gran valor en este campo interdisciplinario.

- Los protocolos de recolección de información y muestreo para la metodología forense utilizando el método científico y de ciencia de materiales descrito en este trabajo es un nuevo enfoque de como esta disciplina puede ser abordada.

Agradecimientos

Al CONACyT por el soporte económico S. Ruiz-Salgado a través del programa del programa de Doctorado en Ciencia de los Materiales (432) en el Área Académica de Ciencias de la Tierra y Materiales del Instituto de Ciencias Básicas e Ingeniería perteneciente a la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo.

Conflicto de intereses

Los autores declaran que no existen conflictos de intereses.

Referencias

- Ataliva, V. H., Cano, S. F., Gerónimo, A. A., Huetagoyena Gutiérrez, G. G., Leiva, A. M., Lund, J., ... & Zurita, R. D. (2021). Arqueología Forense: aspectos técnicos y metodológicos de una intervención compleja. Pozo de Vargas (Tucumán, Argentina).
- Barone, P. M., & Groen, W. M. (2018). Multidisciplinary Approaches to Forensic Archaeology (p. 277). Springer International Publishing.
- Brown, K. A. (2001). The future is bright: directions for future research with ancient DNA in forensic archaeology. *Ancient biomolecules*, 3, 3.

- Buss, D. J., Reznikov, N., & McKee, M. D. (2020). Crossfibrillar mineral tessellation in normal and Hyp mouse bone as revealed by 3D FIB-SEM microscopy. *Journal of Structural Biology*, 212(2), 107603.
- Dirkmaat, D. C., & Cabo, L. L. (2016). Forensic archaeology and forensic taphonomy: basic considerations on how to properly process and interpret the outdoor forensic scene. *Academic forensic pathology*, 6(3), 439-454.
- Eschner, M. S., Welthagen, W., Gröger, T. M., Gonin, M., Fuhrer, K., & Zimmermann, R. (2010). Comprehensive multidimensional separation methods by hyphenation of single-photon ionization time-of-flight mass spectrometry (SPI-TOF-MS) with GC and GC× GC. *Analytical and bioanalytical chemistry*, 398, 1435-1445.
- Evis, L. (2016). *Forensic archaeology: The application of comparative excavation methods and recording systems*. Archaeopress Publishing Ltd.
- Ferlini, R. (2007). *Forensic archaeology and human rights violations*. Charles C Thomas Publisher.
- Gray, F. M., Smith, M. J., & Silva, M. B. (2011). Identification and characterization of textile fibers by thermal analysis. *Journal of Chemical Education*, 88(4), 476-479.
- Hanson, I. (2007). Psycho-social issues and approaches in forensic archaeology. *Archaeological review from Cambridge*, 22(2), 69-76.
- Heron, C., Hunter, J., Knupfer, G., Martin, A., Pollard, M., & Roberts, C. (2013). *Studies in crime: an introduction to forensic archaeology*. Routledge.
- Hochrein, M. J. (2002). Evidence: The Application of Forensic Geotaphonomy in Forensic Archaeology. *Forensic dentistry*, 83.
- Homing, E. C., Homing, M. G., Carroll, D. I., Dzidic, I., & Stillwell, R. N. (1973). New picogram detection system based on a mass spectrometer with an external ionization source at atmospheric pressure. *Analytical Chemistry*, 45(6), 936-943.
- Hunter, J. R. (2013). A background to forensic archaeology. In *Studies in crime: An introduction to forensic archaeology* (pp. 7-23). Routledge.
- Ibrahim, J., Brumfeld, V., Addadi, Y., Rubin, S., Weiner, S., & Boaretto, E. (2022). The petrous bone contains high concentrations of osteocytes: One possible reason why ancient DNA is better preserved in this bone. *PLoS one*, 17(10), e0269348.
- Kanzawa, T., Gotoh, M., Ohta, K., Shiba, N., & Nakamura, K. I. (2014). Novel characteristics of normal supraspinatus insertion in rats: an ultrastructural analysis using three-dimensional reconstruction using focused ion beam/scanning electron microscope tomography. *Muscles, ligaments and tendons journal*, 4(2), 182.
- Keen, I. P., White, G. W., & Fredericks, P. M. (1998). Characterization of fibers by Raman microprobe spectroscopy. *Journal of Forensic Science*, 43(1), 82-89.
- Kent, D., Márquez-Grant, N., & Lane, D. (2022). The application of dual energy X-ray soil screening in forensic archaeology. *Science & Justice*.
- Kumar, R., & Sharma, V. (2018). Chemometrics in forensic science. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 105, 191-201.
- Lepot, L., Vanhouche, M., Driessche, T. V., & Lunstroot, K. (2023). Interpol review of fibres and textiles 2019-2022. *Forensic Science International: Synergy*, 6, 100307.
- Lucena, M. C., Lopes, K. P., Ayala, A. P., Vidal, L. M., Lopes, T. I., & Ricardo, N. M. (2023). The Use of Single Crystal X-ray Diffraction Technique for Characterization of 25I-NBOMe and 25R-NBOH (R= Cl, I, Br, Et) in Forensic Application. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 34, 641-652.
- Magal, R. A., Reznikov, N., Shahar, R., & Weiner, S. (2014). Three-dimensional structure of minipig fibrolamellar bone: adaptation to axial loading. *Journal of Structural Biology*, 186(2), 253-264.
- Mahoney, C. M., Gillen, G., & Fahey, A. J. (2006). Characterization of gunpowder samples using time-of-flight secondary ion mass spectrometry (TOF-SIMS). *Forensic science international*, 158(1), 39-51.
- Maria, R., Ben-Zvi, Y., Rechav, K., Klein, E., Shahar, R., & Weiner, S. (2019). An unusual disordered alveolar bone material in the upper furcation region of minipig mandibles: a 3D hierarchical structural study. *Journal of Structural Biology*, 206(1), 128-137.
- Marugán, F. R. (2021). A New Method of Forensic Archaeology. In *Crime and Art* (pp. 79-99). Springer, Cham.
- Mistek, E., Halámková, L., Doty, K. C., Muro, C. K., & Lednev, I. K. (2016). Race differentiation by Raman spectroscopy of a bloodstain for forensic purposes. *Analytical chemistry*, 88(15), 7453-7456.
- Morse, D., Cruseo, D., & Smith, H. G. (1976). Forensic archaeology. *Journal of forensic science*, 21(2), 323-332.
- Munson, B. (1977). Chemical ionization mass spectrometry: ten years later. *Analytical Chemistry*, 49(9), 772A-775A.
- Márquez-Grant, N., Robledo Acinas, M., & Sanchez-Sanchez, J. (2011). El papel de la arqueología en la investigación criminal. *Revista de la Escuela de Medicina Legal*, 16, 1-22.
- Nazarian, A., & Presser, C. (2015). Forensic methodology for the thermochemical characterization of ANNM and ANFO homemade explosives. *Thermochimica Acta*, 608, 65-75.
- Nycz, J. E., Malecki, G., Zawiazalec, M., Pazdziorek, T., & Skop, P. (2010). 1-Pentyl-3-(4-methoxy-1-naphthoyl) indole and 2-(2-methoxy-phenyl)-1-(1-pentyl-1H-indol-3-yl)-ethanone: X-ray structures and computational studies. *Journal of Molecular Structure*, 984(1-3), 125-130.
- Oakley, K. (2005). Forensic archaeology and anthropology. *Forensic science, medicine, and pathology*, 1(3), 169-172.
- Piga, G., Thompson, T. J., Malgosa, A., & Enzo, S. (2009). The potential of X-ray diffraction in the analysis of burned remains from forensic contexts. *Journal of Forensic Sciences*, 54(3), 534-539.
- Powers, N., & Sibun, L. (2013). Forensic archaeology. *The Oxford Handbook of the Archaeology of the Contemporary World*. Oxford University Press, Oxford, 40-53.
- Raguin, E., Rechav, K., Shahar, R., & Weiner, S. (2021). Focused ion beam-SEM 3D analysis of mineralized osteonal bone: lamellae and cement sheath structures. *Acta Biomaterialia*, 121, 497-513.
- Raguin, E., Rechav, K., Shahar, R., & Weiner, S. FIB-SEM 3D Analysis of Mineralized Osteonal Bone: Lamellae and Cement Sheath Structures. Available at SSRN 3677498.
- Reznikov, N., Almany-Magal, R., Shahar, R., & Weiner, S. (2013). Three-dimensional imaging of collagen fibril organization in rat circumferential lamellar bone using a dual beam electron microscope reveals ordered and disordered sub-lamellar structures. *Bone*, 52(2), 676-683.
- Reznikov, N., Shahar, R., Weiner, S., 2014a. Bone hierarchical structure in three dimensions. *Acta Biomaterialia* 10, 3815-3826
- Robertson, J. (2010). *Handbook of Forensic Anthropology and Archaeology*
- Saucedo, A. A. (2019). Arqueología forense y sus diálogos con la antropología social en el México de la guerra contra las drogas. *ABYA-YALA: Revista sobre acceso a justicia e derechos nas Américas*, 3(2), 73-93.
- Schwemer, T., Rössler, T., Ahrens, B., Schäffer, M., Hasselbach-Minor, A., Pütz, M., ... & Zimmermann, R. (2017). Characterization of a heroin manufacturing process based on acidic extracts by combining complementary information from two-dimensional gas chromatography and high resolution mass spectrometry. *Forensic Chemistry*, 4, 9-18.
- Schäffer, M., Gröger, T., Pütz, M., Dieckmann, S., & Zimmermann, R. (2012). Comparative analysis of the chemical profiles of 3, 4-methylenedioxymethamphetamine based on comprehensive two-dimensional gas chromatography-time-of-flight mass spectrometry (GC× GC-TOFMS). *Journal of Forensic Sciences*, 57(5), 1181-1189.
- Śmigiel-Kamińska, D., Pośpiech, J., Makowska, J., Stepnowski, P., Waś-Gubała, J., & Kumirska, J. (2019). The identification of polyester fibers dyed with disperse dyes for forensic purposes. *Molecules*, 24(3), 613.
- Summerscales, J., & Gwinnett, C. (2017). Forensic identification of bast fibres. *Biocomposites for high-performance applications*, 125-164.
- Thompson, T. (2005). Heat-induced dimensional changes in bone and their consequences for forensic anthropology. *Journal of Forensic Science*, 50(5), JFS2004297-8.
- Weiner, S., & Rechav, K. Three Dimensional Structures of the Inner and Outer Pig Petrous Bone Using Fib Sem: Implications for Development and Ancient DNA Preservation. *Katya and boaretto, elisabetta and weiner, stephen, Three Dimensional Structures of the Inner and Outer Pig Petrous Bone Using Fib Sem: Implications for Development and Ancient DNA Preservation*.
- Wolstenholme, R. (2021). Raman Spectroscopy. *Analytical Techniques in Forensic Science*, 161-183.