



# UNIVERSITÀ POLITECNICA DELLE MARCHE

FACOLTÀ DI INGEGNERIA

Dipartimento di Ingegneria Industriale e Scienze Matematiche

---

Corso di Laurea Triennale in Ingegneria Biomedica

## **PROCEDURA DI ACQUISIZIONE DI IMMAGINI IPERSPETTRALI DI TRACCE EMATICHE DILAVATE**

**PROCEDURE FOR ACQUIRING HYPERSPECTRAL IMAGES OF  
WASHED BLOOD TRACES**

Relatrice:

*Prof.ssa* Milena Martarelli

Tesi di laurea di:

Angelo Eletto

Correlatrice:

*Ing.* Silvia Discepolo



# I. Sommario

I. Sommario	i
II. Elenco Delle Figure	iii
III. Elenco Dei Grafici	iv
1 Introduzione	1
2 Stato Dell'Arte	3
2.1 Test Con Luminol	3
2.1.1 Efficacia nel rilevare sangue dilavato	4
2.2 Test Con Camera Iperspettrale	5
2.2.1 Efficacia nel rilevare sangue su tessuti	5
3 Materiali e Metodi	8
3.1 Preparazione e Classificazione dei Campioni	8
3.2 Camera Iperspettrale	10
3.3 Software MatLab	12
3.4 Preparativi per l'acquisizione	12
3.5 Procedura di acquisizione	13
3.6 Elaborazione dei dati acquisiti	14
4 Analisi dei Risultati	18
4.1 Curve di riflettanza media	19
4.1.1 Gruppo B	21
4.1.2 Gruppo S	22
4.1.3 Gruppo C	25
4.1.4 Gruppo C_5	28
4.1.5 Gruppo SC	31
4.1.6 Gruppo SC_5	34
4.1.7 Gruppo X	37
4.1.8 Gruppo Y	39
4.2 Curve dei campioni divise per giorno	41
4.2.1 Giorno 0	42
4.2.2 Giorno 1	42
4.2.3 Giorno 2	43
4.2.4 Giorno 3	43
4.2.5 Giorno 7	44
4.3 Curve dei campioni nel tempo	45
4.3.1 Gruppo B	46

4.3.2	Gruppo S	46
4.3.3	Gruppo C	47
4.3.4	Gruppo C_5	47
4.3.5	Gruppo SC	48
4.3.6	Gruppo SC_5	48
4.3.7	Gruppo X1-2-3	49
4.3.8	Gruppo X4-5-6	49
4.3.9	Gruppo X7-8-9	50
4.3.10	Gruppo X10-11-12	50
4.3.11	Gruppo Y1-2-3	51
4.3.12	Gruppo Y4-5-6	51
4.3.13	Gruppo Y7-8-9	52
4.3.14	Gruppo Y10-11-12	52
5	Conclusioni	54
6	Bibliografia	56

## II. Elenco Delle Figure

Figura 1: Foto dei campioni appena preparati .....	10
Figura 2: Foto dei campioni del gruppo B.....	10
Figura 3: Tabella riassuntiva delle caratteristiche tecniche della camera iperspettrale .....	11
<i>Figura 4: esempio di ritaglio dell'area di un campione del gruppo S identificata dal quadrato nero nel grafico di sinistra.....</i>	<i>14</i>
Figura 5: esempio di ritaglio dell'area di un campione del gruppo C identificata dal quadrato nero nel grafico di sinistra .....	15
Figura 6: esempio di ritaglio dell'area di un campione del gruppo SC identificata dal quadrato nero nel grafico di sinistra .....	15
Figura 7: Spettro della luce visibile <sup>(9)</sup> .....	18

### III. Elenco Dei Grafici

Grafico 1: Riflettanza media Gruppo B D3 .....	21
Grafico 2: Riflettanza media Gruppo B D7 .....	21
Grafico 3: Riflettanza media Gruppo S D0.....	22
Grafico 4: Riflettanza media Gruppo S D1.....	22
Grafico 5: Riflettanza media Gruppo S D2.....	23
Grafico 6: Riflettanza media Gruppo S D3.....	23
Grafico 7: Riflettanza media Gruppo S D7.....	24
Grafico 8: Riflettanza media Gruppo C D0 .....	25
Grafico 9: Riflettanza media Gruppo C D1 .....	25
Grafico 10: Riflettanza media Gruppo C D2 .....	26
Grafico 11: Riflettanza media Gruppo C D3 .....	26
Grafico 12: Riflettanza media Gruppo C D7 .....	27
Grafico 13: Riflettanza media Gruppo C_5 D0 .....	28
Grafico 14: Riflettanza media Gruppo C_5 D1 .....	28
Grafico 15: Riflettanza media Gruppo C_5 D2 .....	29
Grafico 16: Riflettanza media Gruppo C_5 D3 .....	29
Grafico 17: Riflettanza media Gruppo C_5 D7 .....	30
Grafico 18: Riflettanza media Gruppo SC D0 .....	31
Grafico 19: Riflettanza media Gruppo SC D1 .....	31
Grafico 20: Riflettanza media Gruppo SC D2 .....	32
Grafico 21: Riflettanza media Gruppo SC D3 .....	32
Grafico 22: Riflettanza media Gruppo SC D7 .....	33
Grafico 23: Riflettanza media Gruppo SC_5 D0.....	34
Grafico 24: Riflettanza media Gruppo SC_5 D1 .....	34
Grafico 25: Riflettanza media Gruppo SC_5 D2.....	35
Grafico 26: Riflettanza media Gruppo SC_5 D3.....	35
Grafico 27: Riflettanza media Gruppo SC_5 D7.....	36
Grafico 28: Riflettanza media Gruppo X1-2-3 D1.....	37
Grafico 29: Riflettanza media Gruppo X4-5-6 D2.....	37
Grafico 30: Riflettanza media Gruppo X7-8-9 D3.....	38

Grafico 31: Riflettanza media Gruppo X10-11-12 D7.....	38
Grafico 32: Riflettanza media Gruppo Y1-2-3 D1.....	39
Grafico 33: Riflettanza media Gruppo Y4-5-6 D2.....	39
Grafico 34: Riflettanza media Gruppo Y7-8-9 D3.....	40
Grafico 35: Riflettanza media Gruppo Y10-11-12 D7.....	40
Grafico 36: Curva dei campioni analizzati nel giorno D0.....	42
Grafico 37: Curva dei campioni analizzati nel giorno D1.....	42
Grafico 38: Curva dei campioni analizzati nel giorno D2.....	43
Grafico 39: Curva dei campioni analizzati nel giorno D3.....	43
Grafico 40: Curva dei campioni analizzati nel giorno D7.....	44
Grafico 41: Curve del Gruppo B nel tempo.....	46
Grafico 42: Curve del Gruppo S nel tempo.....	46
Grafico 43: Curve del Gruppo C nel tempo.....	47
Grafico 44: Curve del Gruppo C_5 nel tempo.....	47
Grafico 45: Curve del Gruppo SC nel tempo.....	48
Grafico 46: Curve del Gruppo SC_5 nel tempo.....	48
Grafico 47: Curve del Gruppo X1-2-3 nel tempo.....	49
Grafico 48: Curve del Gruppo X4-5-6 nel tempo.....	49
Grafico 49: Curve del Gruppo X7-8-9 nel tempo.....	50
Grafico 50: Curva del Gruppo X10-11-12.....	50
Grafico 51: Curve del Gruppo Y1-2-3 nel tempo.....	51
Grafico 52: Curve del Gruppo Y4-5-6 nel tempo.....	51
Grafico 53: Curve del Gruppo Y7-8-9 nel tempo.....	52
Grafico 54: Curva del Gruppo Y10-11-12.....	52



# 1 Introduzione

Dopo aver commesso un crimine, il colpevole potrebbe tentare di rimuovere le macchie di sangue lavando vestiti e superfici con diversi prodotti comunemente reperibili in casa. Nasce quindi la necessità di trovare un metodo affidabile per poter rilevare ed analizzare le tracce latenti, permettendo la ricostruzione dell'accaduto e l'eventuale recupero del DNA per identificare le persone coinvolte.

I classici test forensi utilizzati sfruttano composti chimici che reagiscono in presenza di emoglobina. Tuttavia, questi possono reagire anche con altre sostanze, tra le quali anche i prodotti di uso domestico, ad esempio la candeggina, generando, in certe condizioni, dei falsi positivi e danneggiando il DNA.

Si è dunque ideato un metodo innovativo per analizzare le tracce di sangue dilavate mediante l'uso di una camera iperspettrale; questa consente di acquisire un'immagine iperspettrale della superficie interessata, consentendone un'analisi basata sulla riflettanza luminosa, escludendo un contatto diretto e plausibilmente dannoso con la superficie stessa.

In questa trattazione, si è posto il focus sull'analisi di tracce ematiche dilavate su campioni di tessuto in 100% cotone bianco. I test sono stati svolti trattando i campioni con due diverse soluzioni: candeggina pura 100% e candeggina diluita al 50% con acqua demineralizzata. Tali campioni sono stati suddivisi in base al tempo intercorso tra la deposizione del sangue e l'applicazione della soluzione, consentendo l'osservazione dei cambiamenti ai quali queste due sostanze sono soggette al passare dei giorni. Nello specifico si sono scelti i seguenti periodi: 1 ora, 24 ore, 48 ore, 72 ore, 1 settimana.

Come riferimento sono stati utilizzati dei campioni di controllo, ovvero dei campioni di tessuto in 100% cotone bianco, suddivisi come segue: non trattati, con l'applicazione di una goccia di sangue, lavati con candeggina pura al 100% e lavati con candeggina diluita al 50%. Tali campioni di controllo sono stati trattati tutti il primo giorno e sono stati analizzati negli stessi periodi prima citati.

L'obiettivo è quello di identificare, dalla curva della riflettanza media, un andamento che possa definirsi tipico e indicativo della presenza di sangue su di un tessuto lavato con candeggina.

## 2 Stato Dell'Arte

Nel mondo delle indagini forensi, è necessario poter contare su degli strumenti affidabili e innovativi per poter trovare le prove e identificare le tracce ematiche da analizzare. L'attuale test forense più utilizzato è il test con il Luminol, sostanza che provoca chemiluminescenza a contatto con l'emoglobina. Tuttavia, data la natura chimica del metodo di rilevamento, questo può non rivelarsi sempre efficace a causa di diversi fattori, come la presenza di altre sostanze che possono innescare la reazione causando falsi positivi, oppure il tempo intercorso tra la deposizione del sangue e l'applicazione del test che rende via via più difficile ottenere una chemiluminescenza apprezzabile.

Una tecnologia in crescita in questo settore è quella della camera iperspettrale, che consente un'analisi basata sulla riflettanza del campione analizzato. Questo metodo permette di interfacciarsi in maniera indiretta con le possibili prove non danneggiandole. Inoltre, i dati generati possono essere elaborati al computer con sofisticati algoritmi in modo da ottenere informazioni più precise e dettagliate.

### 2.1 Test Con Luminol

Il luminol ( $C_8H_7N_3O_2$ ) è un composto chimico in grado di generare chemiluminescenza quando miscelato con un adeguato agente ossidante. Ha il vantaggio di essere estremamente sensibile (riesce a rilevare tracce di sangue anche molto diluite). Inoltre, il suo utilizzo non distrugge il DNA presente consentendo di analizzarlo una volta trovato del sangue. Questo test non può essere considerato come una prova di presenza di tracce ematiche. Ciò è dovuto alla sensibilità del luminol a composti ossidanti contaminanti, i quali forniscono un risultato positivo anche in assenza di emoglobina <sup>(1)</sup>. Esempi di contaminanti sono la candeggina e altri prodotti per la pulizia comunemente presenti in casa.

L'utilizzo del Luminol è immediato: preparata la soluzione in un flacone spray, questa viene spruzzata sulla zona interessata. In presenza di sangue, o di un'altra sostanza in grado di innescare la reazione, si può apprezzare la chemiluminescenza generata di un colore bluastro; è importante notare che quest'ultima può essere osservata solo in una stanza totalmente buia.

La soluzione utilizzata non presenta un'unica formula in quanto esistono diversi tipi di ossidanti che possono fungere da attivatori. Una preparazione utilizzabile <sup>(2)</sup> può essere, ad esempio:

3-aminophthalhydrazide (0,01 g) + Perborato di Sodio (0,07 g) + Carbonato di Sodio (0,5 g) + Acqua distillata (10 ml)

### ***2.1.1 Efficacia nel rilevare sangue dilavato***

In letteratura, si possono trovare diversi articoli che trattano il tema dell'efficacia del Test con Luminol di rilevare tracce di sangue da superfici dilavate.

Il test si dimostra estremamente accurato nel rilevare emoglobina su di un tessuto lavato con semplice acqua anche dopo 30 giorni dalla deposizione <sup>(3)</sup>; stesso risultato se lavati con un comune detergente domestico a temperatura ambiente.

Per quanto riguarda invece i lavaggi a temperature superiori (oltre i 60 °C) il test non riesce a rilevare la macchia indipendentemente dal tempo intercorso tra la deposizione e il lavaggio, lasciando intuire che la temperatura contribuisca ampiamente nell'occultamento del sangue.

Prove effettuate su delle piastrelle dimostrano come, al tentativo di pulire il sangue con della candeggina, si possa apprezzare della chemiluminescenza molto simile al sangue non lavato <sup>(4)</sup>. Ciò dimostra che la candeggina è un catalizzatore del Luminol causando dei falsi positivi.

Inoltre, il tempo che intercorre tra la deposizione della candeggina e l'applicazione del Luminol influisce pesantemente sull'intensità luminosa della chemiluminescenza: ciò è dovuto al fatto che la candeggina evapora e si decompone molto rapidamente una volta esposta all'aria aperta. Difatti, dopo 8 ore dall'applicazione di questa, l'interferenza generata cessa di mostrarsi. È importante notare che quest'ultimo risultato è stato ottenuto sperimentando solo su gocce di candeggina e non su campioni con sangue dilavato con essa.

## **2.2 Test Con Camera Iperspettrale**

La camera iperspettrale è un dispositivo in grado di catturare immagini su più bande spettrali. Ciò avviene mediante l'utilizzo di lenti e filtri specializzati registrando la riflettanza luminosa in ciascuna banda. La camera analizza pixel per pixel l'immagine catturata, generando quello che viene denominato *DataCube Iperspettrale*. Si tratta di una rappresentazione tridimensionale dei dati catturati, dove le prime due componenti indicano la posizione spaziale dei pixels e la terza lo spettro associato ad ognuno di essi. Successivamente, i dati vengono ricomposti in immagine da un software specializzato per visualizzare il campione nelle diverse bande registrate. I dati acquisiti possono venire analizzati attraverso script e algoritmi costruiti appositamente per estrarre le informazioni più rilevanti in base alle necessità.

### ***2.2.1 Efficacia nel rilevare sangue su tessuti***

La camera si dimostra molto efficace nel rilevare tracce di sangue non visibili ad occhio nudo depositate su dei tessuti di colore nero di varia natura <sup>(5)</sup>. Il livello di visualizzazione della macchia viene influenzato dal substrato che la ospita in quanto le caratteristiche intrinseche del materiale, come ad esempio la porosità e la riflettanza, hanno un ruolo cardine nell'assorbimento del sangue e quindi della sua visualizzazione <sup>(6)</sup>.

L'utilizzo di algoritmi per l'elaborazione dei dati è fondamentale per la ricerca delle macchie ricercate. Grazie al calcolatore è possibile, mediante l'uso di funzioni statistiche, rintracciare elementi non osservabili con la semplice visualizzazione del dato grezzo permettendo di differenziarli sfruttando il contrasto tra i materiali <sup>(5)</sup>.

Algoritmi sofisticati, come le reti neurali, dimostrano la possibilità di poter rintracciare una macchia di sangue scomparsa per via del lavaggio del tessuto ospitante con candeggina o sapone <sup>(7)</sup>.



# 3 Materiali e Metodi

## 3.1 Preparazione e Classificazione dei Campioni

I campioni sono stati ottenuti ritagliando, da un tessuto in 100% cotone bianco, 47 pezze di forma quadrata avente lato di circa 5 cm.

Con la partecipazione di tre volontari si è depositata, al centro di 33 quadrati, una goccia di sangue appoggiandoci sopra il dito indice ferito con un punteruolo. I restanti 14 sono stati utilizzati come campioni di controllo del tessuto non trattato e della candeggina.

In due bacinelle si sono rispettivamente versate della candeggina pura al 100% e della candeggina diluita al 50% con acqua demineralizzata.

I tessuti soggetti a lavaggio sono stati lavati a mano nella candeggina fino alla completa scomparsa della macchia di sangue a occhio nudo. Il lavaggio è avvenuto strofinando ogni campione su sé stesso agendo sulla macchia. Successivamente, i campioni sono stati lasciati ad asciugare in camera climatica ad una temperatura di 25 °C ed umidità al 30% per circa un'ora.

Tutti i campioni sono stati conservati all'interno della camera climatica prima citata alle condizioni già descritte.

I campioni sono stati identificati da un codice alfanumerico e suddivisi in diversi gruppi ed eventuali sottogruppi.

I gruppi di suddivisione sono i seguenti:

- **Gruppo B** (8 campioni): non trattati, utilizzati come riferimento per il tessuto pulito.
- **Gruppo S** (3 campioni): macchiati con una goccia di sangue al centro, utilizzati come riferimento per il sangue non lavato.
- **Gruppo C** (3 campioni): non macchiati di sangue, lavati con candeggina pura al 100% dopo circa 10 minuti.

- **Gruppo C\_5** (3 campioni): non macchiati di sangue, lavati con candeggina diluita al 50% dopo circa 10 minuti.
- **Gruppo SC** (3 campioni): macchiati con una goccia di sangue e lavati con candeggina pura al 100% dopo un'ora.
- **Gruppo SC\_5** (3 campioni): macchiati con una goccia di sangue e lavati con candeggina diluita al 50% dopo un'ora.
- **Gruppo X** (12 campioni): macchiati con una goccia di sangue al centro e lavati con **candeggina pura al 100%**. È ulteriormente suddiviso in quattro sottogruppi in base al giorno in cui è stato eseguito il lavaggio con candeggina. Ogni sottogruppo è composto da tre campioni.
  - **X1-2-3**: lavaggio eseguito dopo 24 ore.
  - **X4-5-6**: lavaggio eseguito dopo 48 ore.
  - **X7-8-9**: lavaggio eseguito dopo 72 ore.
  - **X10-11-12**: lavaggio eseguito dopo una settimana.
- **Gruppo Y** (12 campioni): macchiati con una goccia di sangue al centro e lavati con **candeggina diluita al 50%**. È ulteriormente suddiviso in quattro sottogruppi in base al giorno in cui è stato eseguito il lavaggio con candeggina. Ogni sottogruppo è composto da tre campioni.
  - **Y1-2-3**: lavaggio eseguito dopo 24 ore.
  - **Y4-5-6**: lavaggio eseguito dopo 48 ore.
  - **Y7-8-9**: lavaggio eseguito dopo 72 ore.
  - **Y10-11-12**: lavaggio eseguito dopo una settimana.

Il gruppo X e il gruppo Y sono stati creati in modo da poter valutare se, aumentando il tempo intercorso tra la deposizione del sangue e il lavaggio con candeggina, si possa notare un significativo cambiamento della curva di riflettanza.

Tutti i 47 campioni sono identificati da un codice univoco composto dal nome del gruppo di appartenenza unito a un numero preso convenzionalmente. Tale numero va da 1 al numero di campioni appartenenti al gruppo considerato ed è inserito successivamente al codice alfabetico del gruppo. Per esempio, il gruppo B conterrà i campioni denominati B1, B2, ..., B8; mentre il gruppo C\_5 conterrà i campioni denominati C1\_5, C2\_5 e C3\_5.

Ai fini della ricerca non è stato rilevante tenere in considerazione la provenienza del sangue usato per gli esperimenti, dunque i campioni non sono stati distinti per soggetto donatore. I campioni preparati sono mostrati in *Figura 1*, che riporta i campioni macchiati di sangue e quelli lavati con candeggina dopo 10 minuti (in basso a destra) e in *Figura 2*, che riporta i campioni non trattati (gruppo B).



*Figura 1: Foto dei campioni appena preparati*



*Figura 2: Foto dei campioni del gruppo B*

## 3.2 Camera Iperspettrale

La camera iperspettrale utilizzata è il modello Hinalea 4250. Questa è in grado di catturare un DataCube d'immagine ad alta risoluzione spaziale tra lo spettro visibile e il vicino infrarosso ad una risoluzione spettrale di 4nm (Hinalea imaging, 2022). Ciò avviene grazie a un filtro regolabile posto davanti al sensore che seleziona le bande spettrali. Il dispositivo è anche utilizzabile per analizzare sottoinsiemi di bande che possono essere controllati dinamicamente.

Il DataCube è una matrice tridimensionale contenente gli spettri rilevati. Le prime due componenti sono la rappresentazione spaziale dei pixels, mentre la terza componente contiene lo spettro di ogni pixel.

La camera ha una temperatura di utilizzo tra i 15 °C e i 45 °C e un'umidità al 65% non condensata.

La *Figura 3*, presa dalla brochure del dispositivo, riporta le caratteristiche tecniche di quest'ultimo.

SCAN PERFORMANCE	
Standard lens	15° Field of View (FOV) – 150 mm to ∞
	30° Field of View (FOV) – 150 mm to ∞
Sensor spatial resolution	2.3 MP *
Spectral range	400-1000 nm
Spectral bands	300 nominal
Spectral resolution	4 nm (FWHM)
Dynamic range	User selectable; 8- or 16-bit
Illumination	Optional
* RGGB sensor; effective monochromatic equivalent 588,544 pixels without de-mosaicing	

*Figura 3: Tabella riassuntiva delle caratteristiche tecniche della camera iperspettrale*

La camera è dotata di un software proprietario, atto a fornire i drivers necessari al collegamento con il computer, ed è fornito di un'interfaccia per l'utilizzo del dispositivo. All'interno del programma è possibile trovare una serie di funzionalità che permettono di: modificare le impostazioni della camera, effettuare un processo di taratura dei colori, avviare il processo di acquisizione secondo modalità arbitrarie, visualizzare il risultato di quest'ultimo e selezionare il nome della cartella con i risultati e la sua destinazione.

Al termine del processo di acquisizione, il software genera il DataCube all'interno della cartella predisposta insieme ad uno scatto dell'oggetto acquisito ed un file contenente alcune informazioni sulle condizioni di acquisizione. Inoltre, si apre un'interfaccia che permette di osservare quanto ottenuto.

### **3.3 Software MatLab**

MatLab è una piattaforma di programmazione e calcolo numerico utilizzata per l'analisi di dati, lo sviluppo di algoritmi e la creazione di modelli.

Tra le principali caratteristiche troviamo: un'ampia libreria di funzioni matematiche di vario genere, un'interfaccia utente che permette di lavorare sui dati in maniera intuitiva, la possibilità di effettuare simulazioni e creare modelli matematici e la possibilità di creare grafici per la visualizzazione dei dati.

Il software viene principalmente impiegato per l'analisi e l'elaborazione di segnali, la risoluzione di problemi matematici complessi, la costruzione di script e per eseguire analisi statistiche.

### **3.4 Preparativi per l'acquisizione**

Prima di acquisire le immagini iperspettrali, è stato necessario eseguire alcune procedure per garantire il corretto svolgimento delle acquisizioni da parte della camera. Questa necessita di un ambiente completamente buio e di una sorgente luminosa costante per poter generare dei dati affidabili privi di sbalzi luminosi. L'ambiente adeguato si è ottenuto eseguendo le prove dentro una stanza buia. Data la natura ondulatoria della corrente elettrica fornita alla struttura universitaria, si sono utilizzate come primo tentativo delle lampade alogene, le quali riducono sensibilmente l'effetto oscillatorio; tuttavia, ciò non è stato sufficiente e si è quindi optato per il collegamento delle lampade ad un gruppo di continuità, che eroga corrente continua, garantendo così una sorgente di luce costante.

La camera necessita di essere messa a fuoco, pertanto si è regolato l'anello di messa a fuoco in maniera opportuna, affinché siano risultati completamente visibili i caratteri alfanumerici scritti su uno dei campioni preso come riferimento.

È stata necessaria eseguire la taratura del colore bianco e del colore nero. Si sono svolti i seguenti passaggi: per il colore bianco, si è posizionato un ColorChecker bianco sotto l'obiettivo della camera e si è fatto partire il processo di taratura del colore bianco dal software dedicato del dispositivo; per il colore nero, si è lasciato il tappo coprilente agganciato all'obiettivo e si è fatto partire il processo di taratura del colore nero.

### 3.5 Procedura di acquisizione

Per procedere con l'acquisizione dei dati, è necessario fissare il campione da analizzare su un opportuno supporto, affinché le correnti d'aria generate dalle ventole di raffreddamento della camera non spostino il campione. Il supporto è stato creato fissando un foglio di carta bianco A4 su un rettangolo di cartone con del nastro adesivo. I campioni quadrati sono stati fissati lungo i quattro lati con delle puntine.

Il campione è posizionato esattamente al centro dell'inquadratura e, successivamente, dopo aver eseguito l'auto esposizione della camera tramite software, si fa partire il programma di acquisizione dell'immagine. Questo processo viene ripetuto per ogni campione.

Al termine del processo, il software genera automaticamente una cartella contenente i risultati. Il nome delle cartelle create segue la regola:

*CODICECAMPIONE\_TEMPOACQUISIZIONE.*

Il *codicecampione* è riferito al codice di identificazione associato a ciascun campione. Il *tempoacquisizione* è associato all'intervallo di tempo che intercorre dalla creazione dei campioni alla procedura di acquisizione dei dati. Per tali intervalli sono usati i seguenti codici: **D0** (1 ora), **D1** (24 ore), **D2** (48 ore), **D3** (72 ore), **D7** (1 settimana).

**Es.** La cartella di nome 'S1\_D2' indica i dati acquisiti dal campione con traccia di sangue al centro acquisito dopo 48 ore.

All'interno della cartella vengono depositati tre files (con lo stesso nome della cartella):

- Un file **.png** contenente un'immagine del campione acquisito;
- Un file **.hdr** contenente una struttura con una serie di informazioni riguardo le condizioni di acquisizione, il DataCube e lo stato della camera;
- Un file **.dat** contenente il DataCube.

## 3.6 Elaborazione dei dati acquisiti

L'elaborazione è avvenuta mediante degli script scritti con il software MatLab.

Il fine è quella di ritagliare, per ogni campione, una parte dell'immagine acquisita, selezionando un'area dove è plausibile trovare la macchia di sangue non più visibile a causa del lavaggio, e calcolarne la riflettanza media e la deviazione standard. Infine, si salvano questi dati in un file e si uniscono in dei grafici suddivisi per gruppo e giorno di acquisizione. È importante notare che, per i campioni del gruppo S, si è selezionata un'area contenente solo la macchia di sangue visibile, in modo da ottenere dei grafici che fungano da riferimento per il sangue stesso. L'area scelta è di circa  $50 \times 50$  pixel ed un esempio è mostrato in *Figura 4*. Inoltre, negli altri gruppi di riferimento (C, C\_5 e B), si è selezionata un'area quanto più ampia possibile escludendo le puntine. L'area selezionata per questi gruppi è di  $400 \times 200$  pixel come mostrato in *Figura 5*. È importante notare che l'ampiezza dell'area è totalmente dipendente dalla posizione delle puntine, le dimensioni descritte sono da vedersi come una media tra tutte le immagini ritagliate in modo da fornire un'idea della loro grandezza. Ciò si può notare osservando sia la *Figura 5* che la *Figura 6*: le dimensioni sono simili ma non perfettamente identiche, discostandosi di qualche decina di pixels.

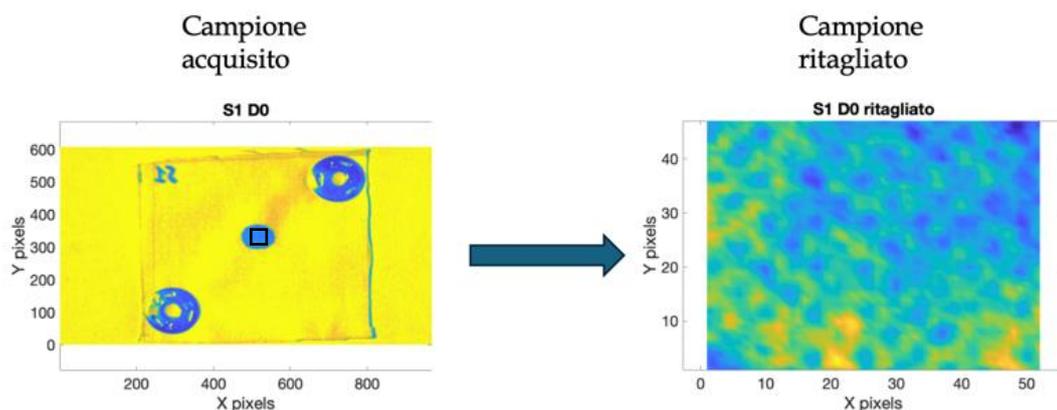


Figura 4: esempio di ritaglio dell'area di un campione del gruppo S identificata dal quadrato nero nel grafico di sinistra

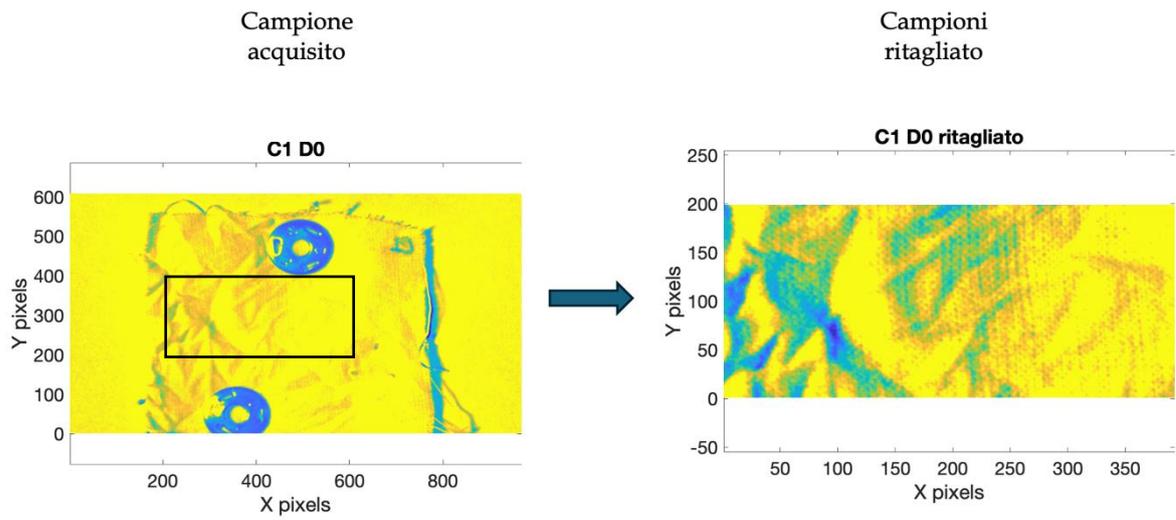


Figura 5: esempio di ritaglio dell'area di un campione del gruppo C identificata dal quadrato nero nel grafico di sinistra

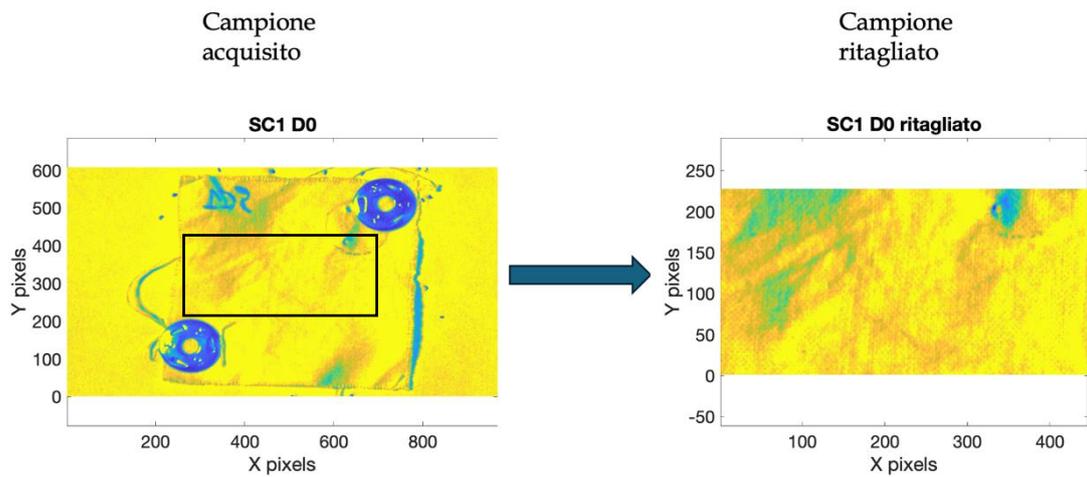


Figura 6: esempio di ritaglio dell'area di un campione del gruppo SC identificata dal quadrato nero nel grafico di sinistra

Il **primo script** creato consente all'utente di caricare il DataCube desiderato da elaborare chiedendogli, graficamente, di selezionare l'area del campione da ritagliare. Dal DataCube ritagliato, viene calcolata la media aritmetica e la deviazione standard di tutte le riflettanze acquisite presenti in esso. In particolare, il calcolo è avvenuto selezionando la riflettanza pixel per pixel. Si è deciso di normalizzare i risultati tra 0 e 1 e di riportarli in percentuale sui grafici in modo da renderne più comoda la lettura.

Al termine delle operazioni lo script genera, in una cartella predisposta, una serie di files contenenti i risultati ottenuti, questi sono: un file .dat con all'interno una struttura contenente la lunghezza d'onda, la riflettanza media normalizzata, la deviazione standard e il DataCube ritagliato; un file .fig contenente il grafico risultante e un file .fig con l'immagine ritagliata.

Il **secondo script** creato consente all'utente di selezionare un numero a scelta di file .dat tra quelli precedentemente creati con il primo script. Viene estratta la riflettanza media normalizzata di ciascun file e, di questi valori, se ne calcola media e deviazione standard e si mostrano i risultati in un grafico a linee. Questo presenta al suo interno tre elementi: la curva media, la deviazione standard e le curve dei campioni selezionati.

Il grafico in questione ha lo scopo di rappresentare l'andamento medio di un determinato gruppo in un determinato giorno, pertanto, si sono caricati i file in base al gruppo di appartenenza e in base al giorno di acquisizione.

**Ad esempio**, si sono caricati tutti i file del gruppo S acquisiti nel giorno D0 per ottenere il grafico Sx D0 (dove x è stato messo indicare che sono inclusi tutti i campioni di quel gruppo).

Durante l'analisi dei grafici prima ottenuti si è notato che questi non fornivano la possibilità di leggere una curva accurata. Ciò è dovuto al fatto che la riflettanza media e la deviazione standard sono state calcolate su un numero di curve troppo basso per poterle definire come buoni indicatori dell'andamento medio del gruppo considerato (le curve sono solo 3, ovvero il numero di campioni per gruppo e giorno; eccezion fatta per il gruppo B che presenta 8 campioni e quindi altrettante curve, comunque in numero insufficiente).

Per ottenere dei dati più accurati si è optato per la seguente soluzione: selezionare la curva che rappresenta la moda di ciascun gruppo invece che calcolare la media delle curve e la deviazione standard.

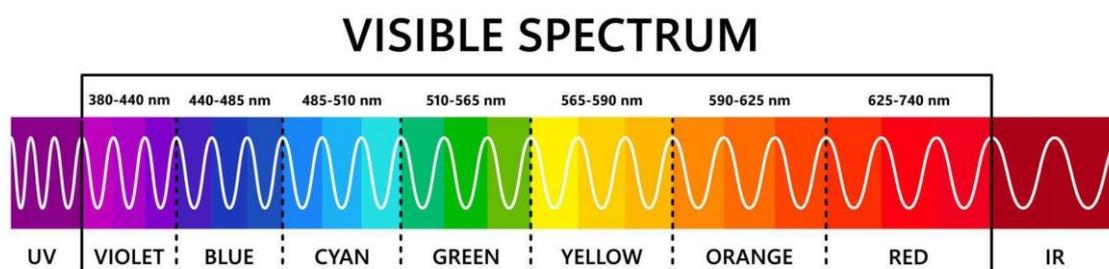
Lo script creato per eseguire quanto detto, consente di prelevare le riflettanze medie di una serie di files .dat tra quelli calcolati nel primo script e rintraccia la curva che rappresenta la moda tra queste. Ciò viene fatto contando i punti di intersezione tra le varie curve: la curva con più intersezioni viene considerata la moda delle curve.

Calcolata la moda di ogni gruppo per ogni giorno, si sono generati, sempre con uno script in MatLab, dei grafici divisi per giorno di acquisizione dove sono mostrate le curve ricavate da ogni gruppo nel giorno considerato.

## 4 Analisi dei Risultati

La fascia di spettro elettromagnetico acquisibile dalla camera va dai 400 nm ai 1000 nm. Tra i ~380 nm e i ~740 nm si trova lo spettro del visibile, sopra di essa si trova lo spettro dell'infrarosso e, sotto di essa, lo spettro dell'ultravioletto.

Lo spettro del visibile è suddiviso in varie bande in base al colore apprezzabile da quel range di lunghezze d'onda come osservabile nella *Figura 7*.



*Figura 7: Spettro della luce visibile* <sup>(9)</sup>

I grafici generati riportano la lunghezza d'onda [nm] sull'asse delle ascisse e la riflettanza [%] sull'asse delle ordinate. I grafici mostrano quanto un colore di una determinata banda viene riflesso: una riflettanza pari al 100% indica che il materiale riflette perfettamente quel colore, mentre una riflettanza pari allo 0% indica che il materiale assorbe completamente quel colore. La somma dei colori e della quantità con cui vengono riflessi genera il colore dell'area presa in esame.

## 4.1 Curve di riflettanza media

Nei grafici è possibile osservare in colore rosso la riflettanza media calcolata e in colore blu la riflettanza di ogni campione del gruppo considerato. Le barre nere indicano la deviazione standard.

Sono presenti i grafici del gruppo B (*Grafico 1 e Grafico 2*) solo del giorno 3 e del giorno 7 in quanto si è sentita più tardi la necessità di tenere in considerazione dei campioni di riferimento per il tessuto in 100% cotone bianco. Si può notare come la riflettanza equivalga al 100% in tutte le bande spettrali, eccezion fatta per una leggera depressione tra i 500 nm e i 600 nm indicando un leggero assorbimento del giallo e del verde. Essendo il bianco manifestazione della totale riflettanza di tutte le bande dello spettro visibile, il grafico si dimostra coerente con i campioni del gruppo B considerati.

I campioni del gruppo S (*da Grafico 3 a Grafico 7*) mostrano lo stesso andamento in tutti i giorni considerati: si può notare una tendenza allo 0% prima della banda del rosso (600 - 740 nm) per poi avere un picco improvviso all'interno di essa, come era attesa vista la presenza del sangue.

I campioni del gruppo C e SC, nei giorni D0 e D1 (*Grafico 8, Grafico 9, Grafico 18, Grafico 19*), mostrano un andamento comparabile a quello del gruppo B. Ciò è dovuto al fatto che il lavaggio con candeggina pura al 100% ha rimosso la macchia di sangue mostrando il campione come se non fosse stato trattato. Nei giorni successivi, invece, si può notare una progressiva perdita di riflettanza prima dei 600 nm (*da Grafico 10 a Grafico 12 e da Grafico 20 a Grafico 22*); ciò è dovuto all'ingiallimento progressivo dei campioni a causa dell'interazione della candeggina con il tessuto che viene degradato col tempo.

I campioni del gruppo X (*da Grafico 28 a Grafico 31*) e Y (*da Grafico 32 a Grafico 35*) presentano un comportamento analogo a quello dei gruppi prima citati.

I campioni del gruppo C\_5 (*da Grafico 13 a Grafico 17*) e SC\_5 (*da Grafico 23 a Grafico 27*) mostrano un andamento simile a quello del gruppo B in tutti i giorni considerati; ciò suggerisce che la candeggina diluita al 50% non ha lo stesso potere degradante di quella pura al 100%, al punto da non causare ingiallimento nel periodo considerato.

Osservando i grafici (ad esempio, *Grafico 19*, *Grafico 20*, *Grafico 34*), si può notare come alcune curve medie non possono essere considerate affidabili per via di un andamento troppo discostante da parte di una o più curve utilizzate per calcolare la media.

### 4.1.1 Gruppo B

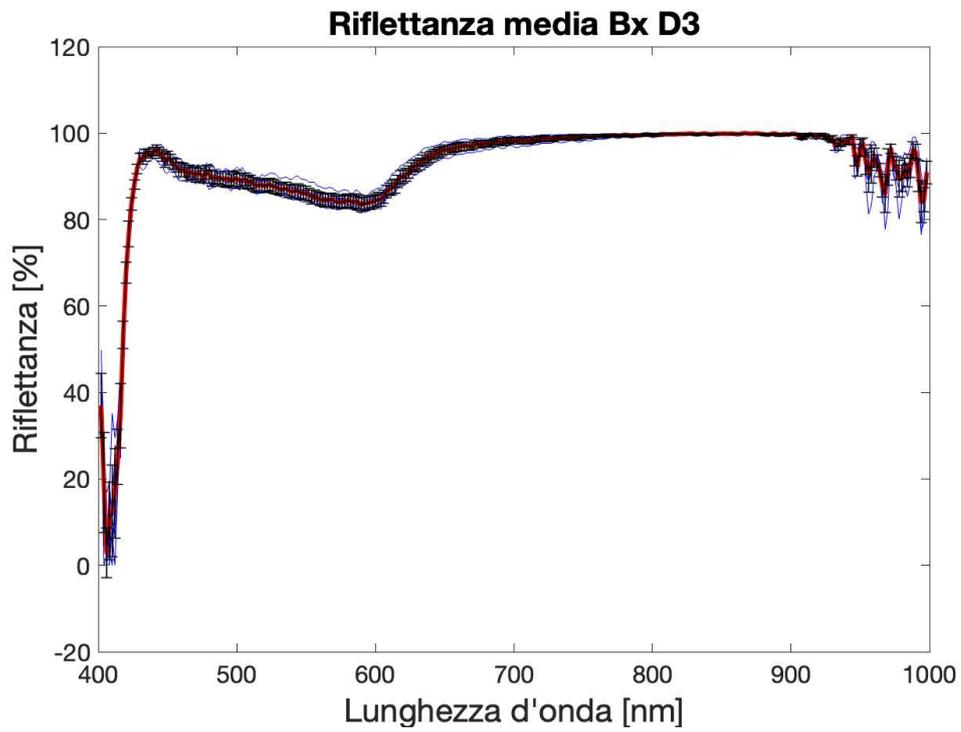


Grafico 1: Riflettanza media Gruppo B D3

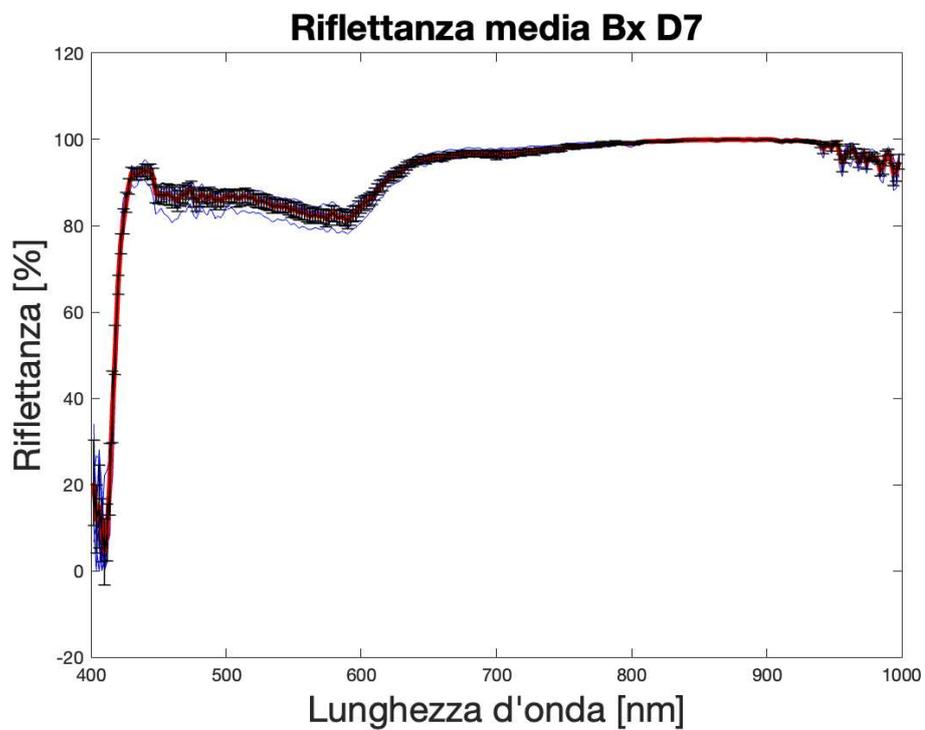


Grafico 2: Riflettanza media Gruppo B D7

## 4.1.2 Gruppo S

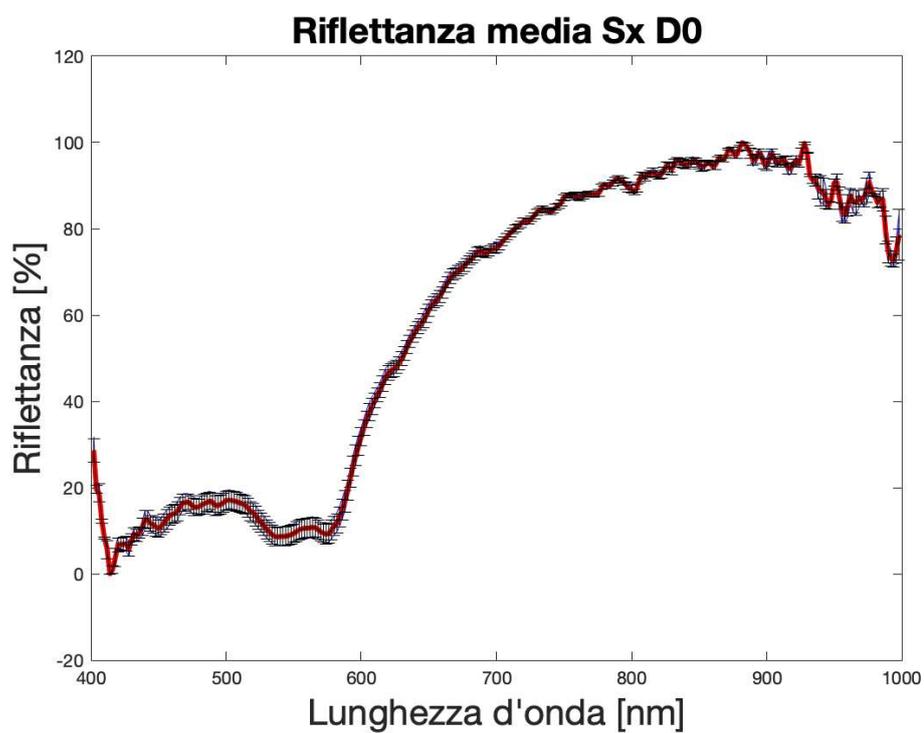


Grafico 3: Riflettanza media Gruppo S D0

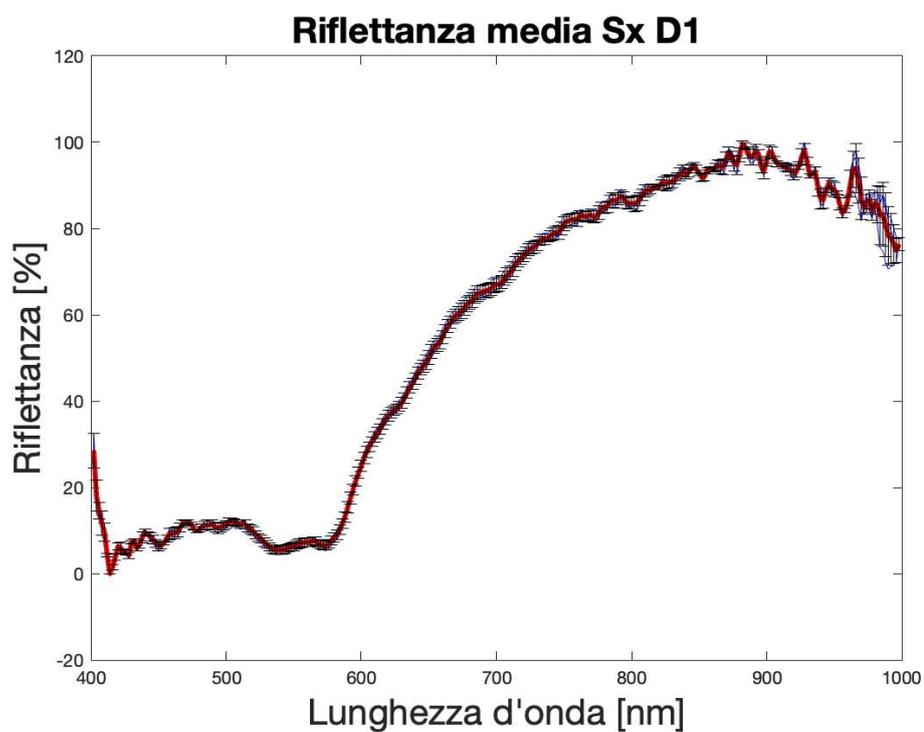


Grafico 4: Riflettanza media Gruppo S D1

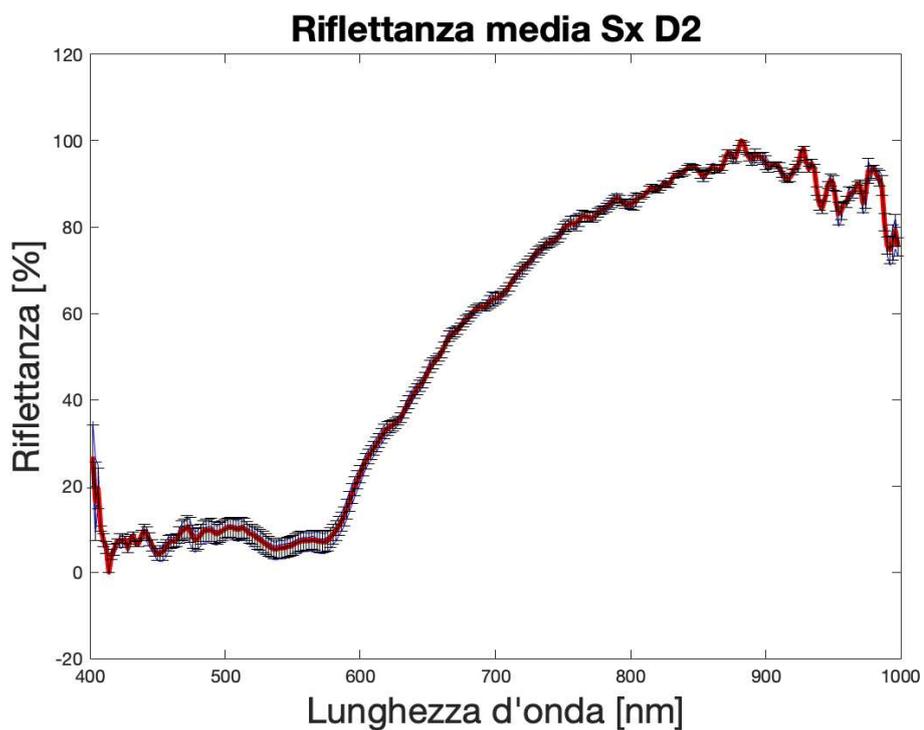


Grafico 5: Riflettanza media Gruppo S D2

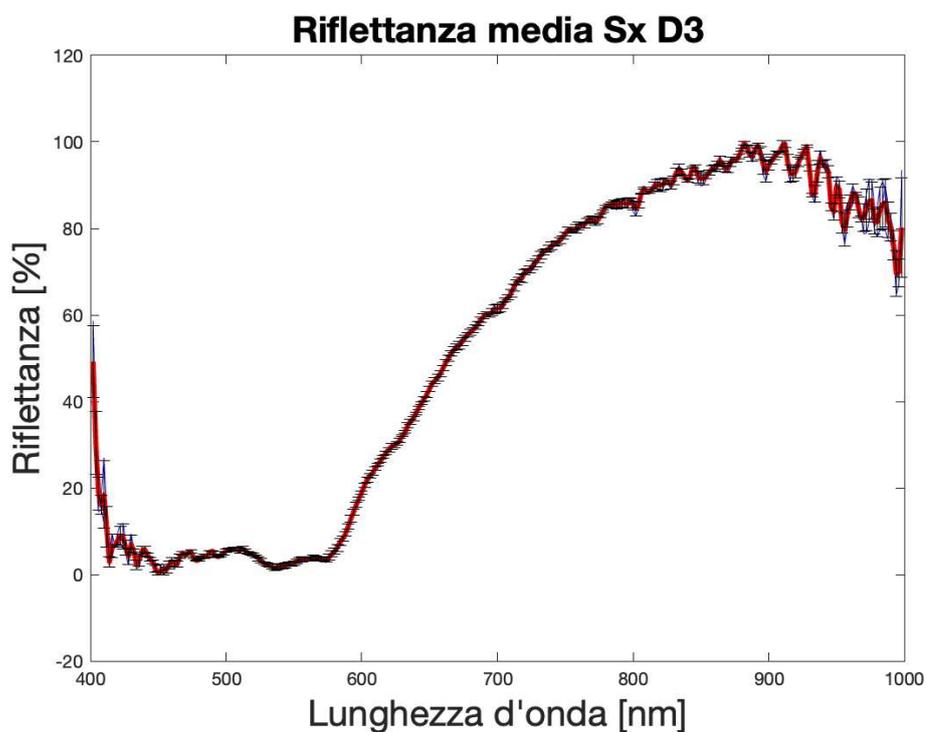


Grafico 6: Riflettanza media Gruppo S D3

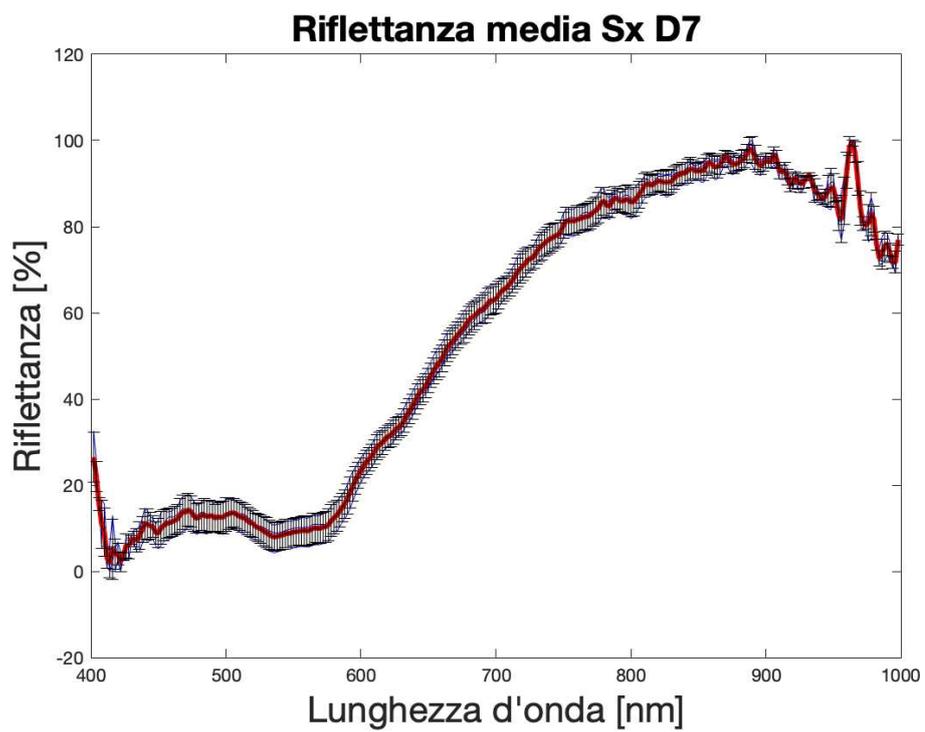


Grafico 7: Riflettanza media Gruppo S D7

### 4.1.3 Gruppo C

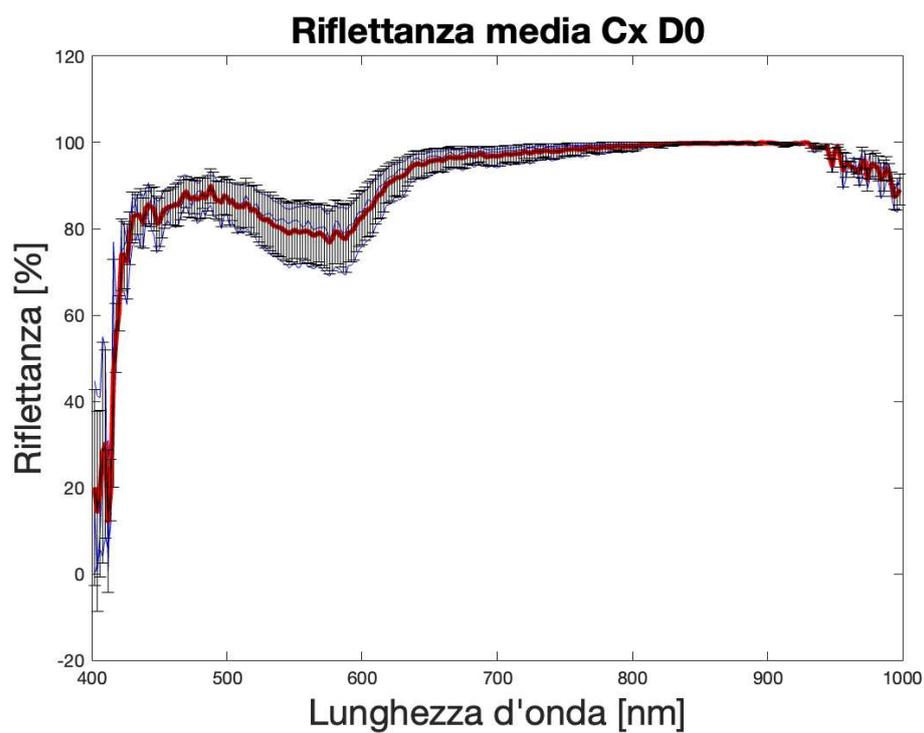


Grafico 8: Riflettanza media Gruppo C D0

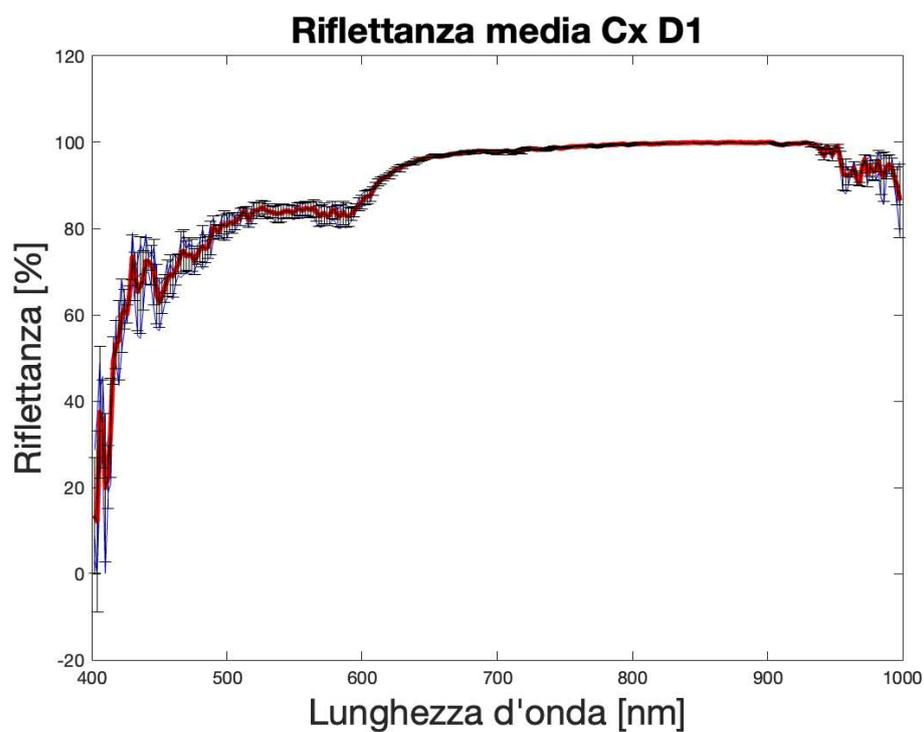


Grafico 9: Riflettanza media Gruppo C D1

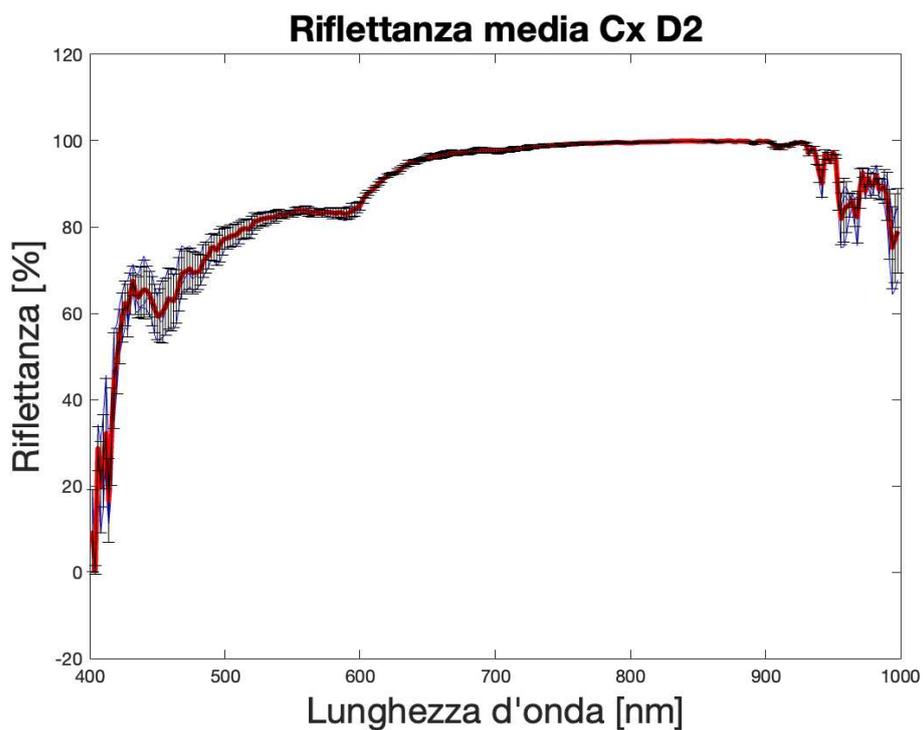


Grafico 10: Riflettanza media Gruppo C D2

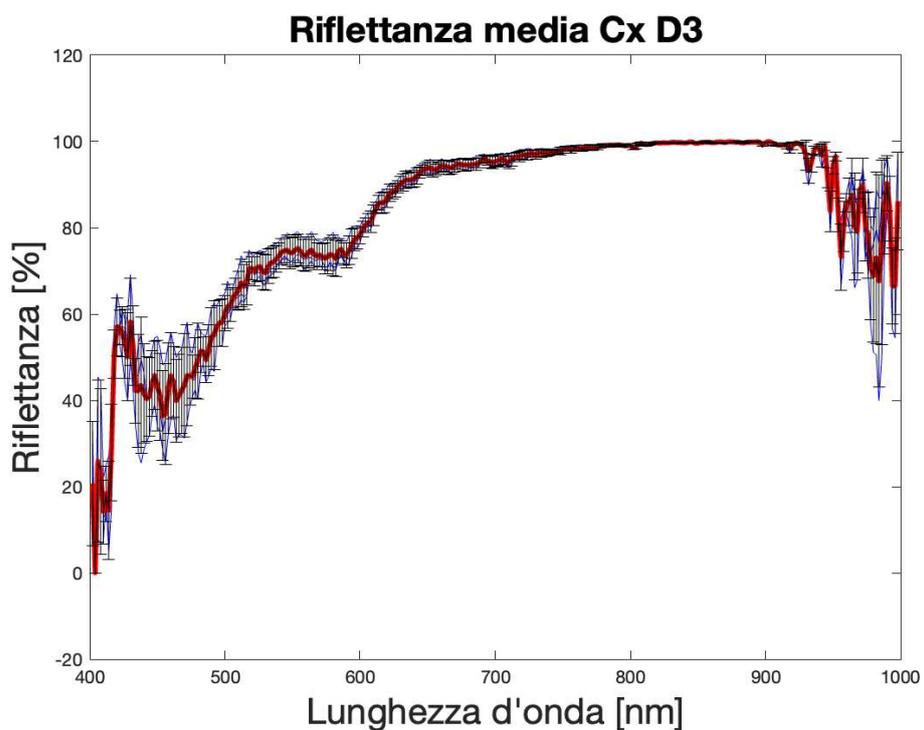


Grafico 11: Riflettanza media Gruppo C D3

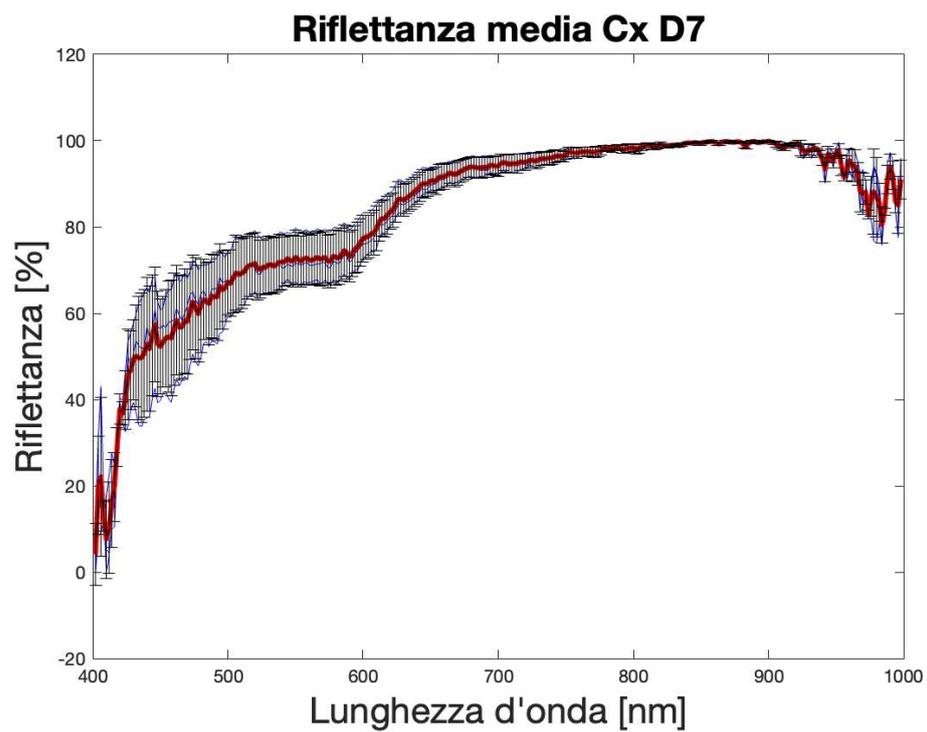


Grafico 12: Riflettanza media Gruppo C D7

#### 4.1.4 Gruppo C\_5

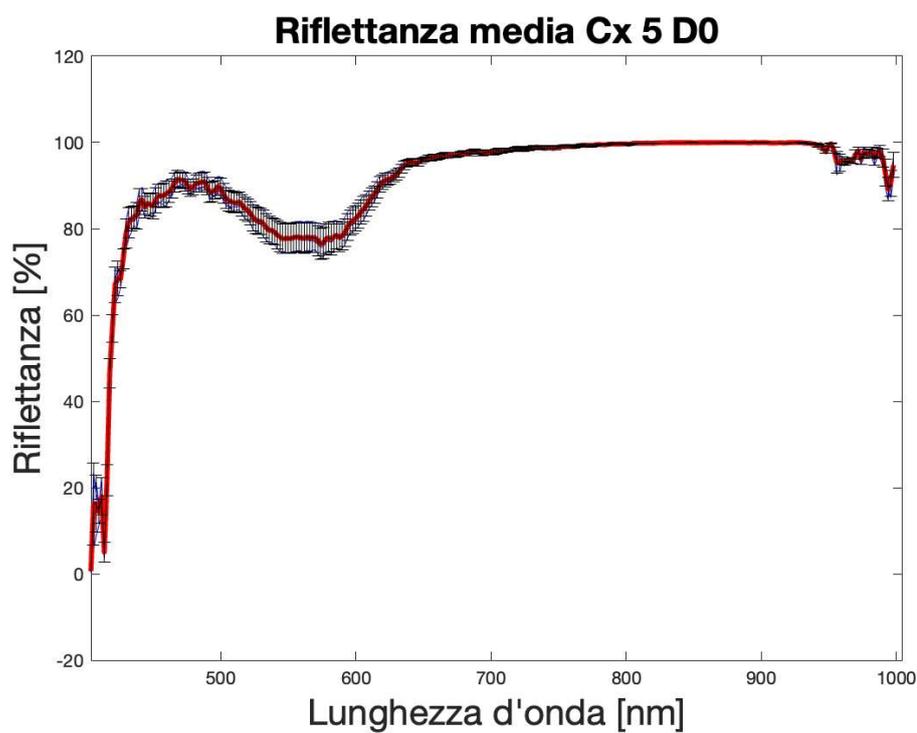


Grafico 13: Riflettanza media Gruppo C\_5 D0

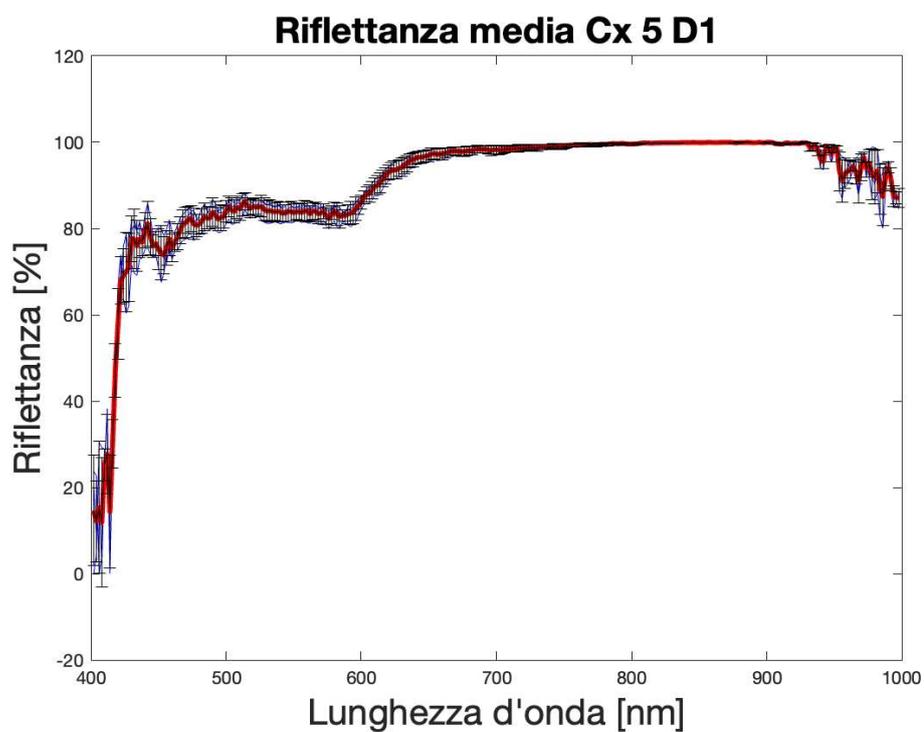


Grafico 14: Riflettanza media Gruppo C\_5 D1

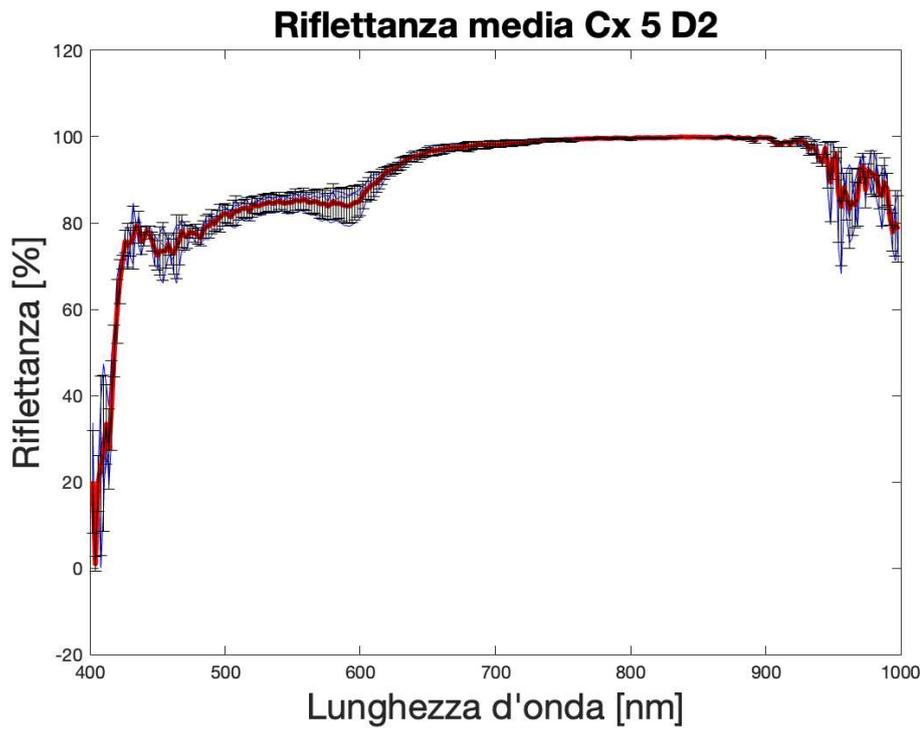


Grafico 15: Riflettanza media Gruppo C\_5 D2

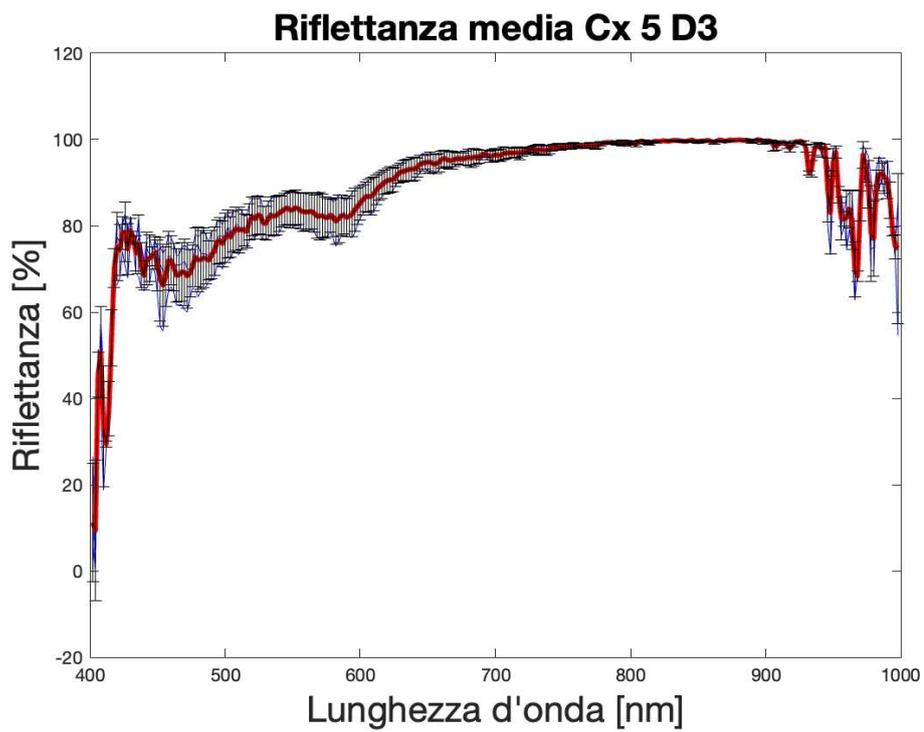


Grafico 16: Riflettanza media Gruppo C\_5 D3

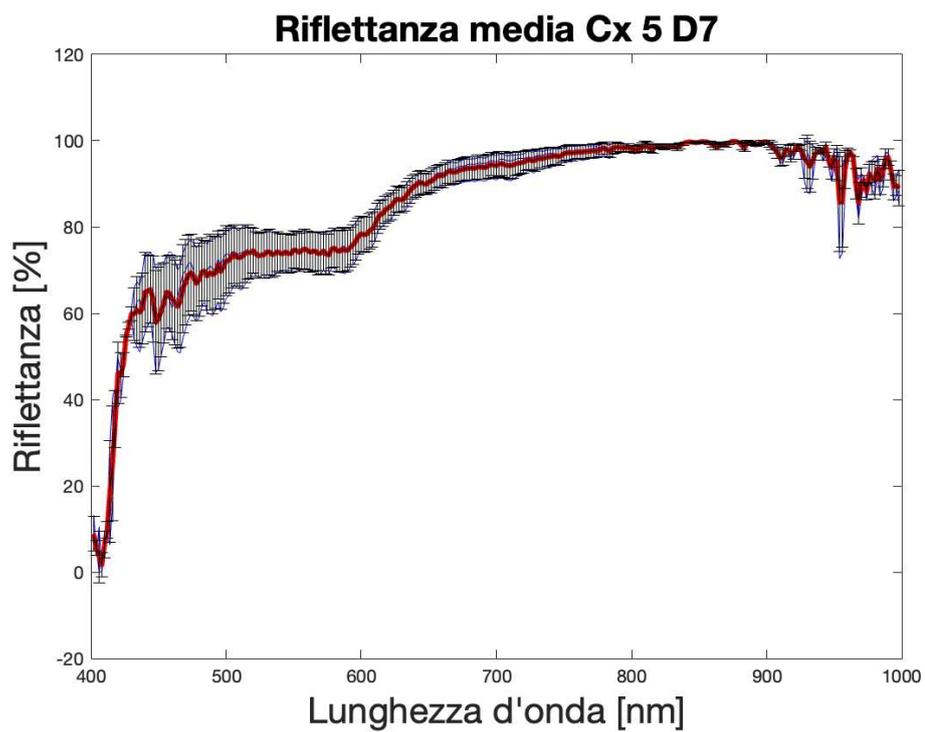


Grafico 17: Riflettanza media Gruppo C\_5 D7

### 4.1.5 Gruppo SC

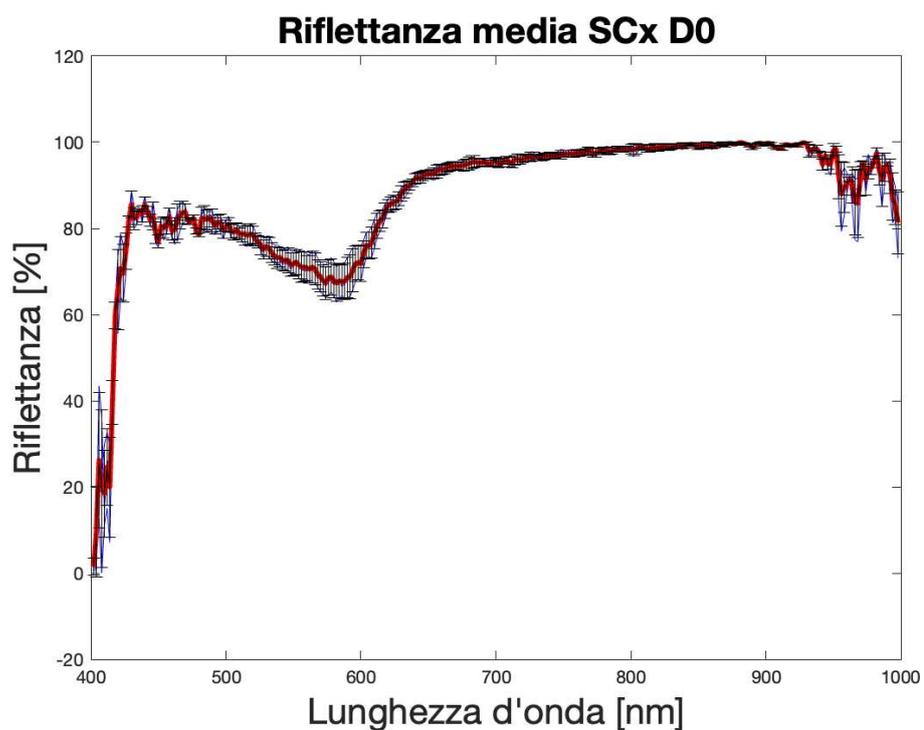


Grafico 18: Riflettanza media Gruppo SC D0

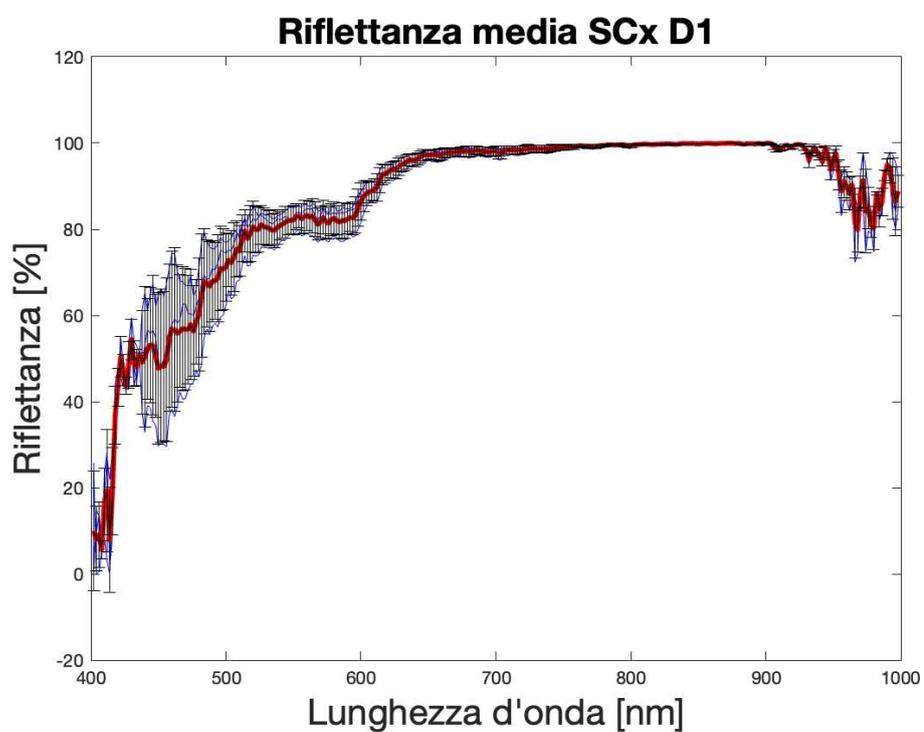


Grafico 19: Riflettanza media Gruppo SC D1

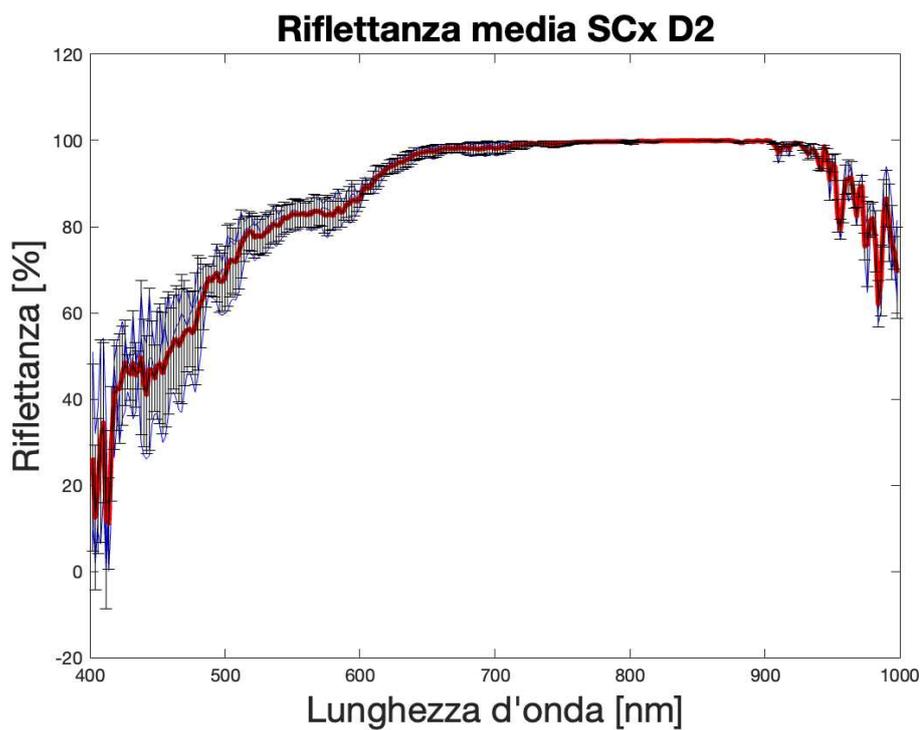


Grafico 20: Riflettanza media Gruppo SC D2

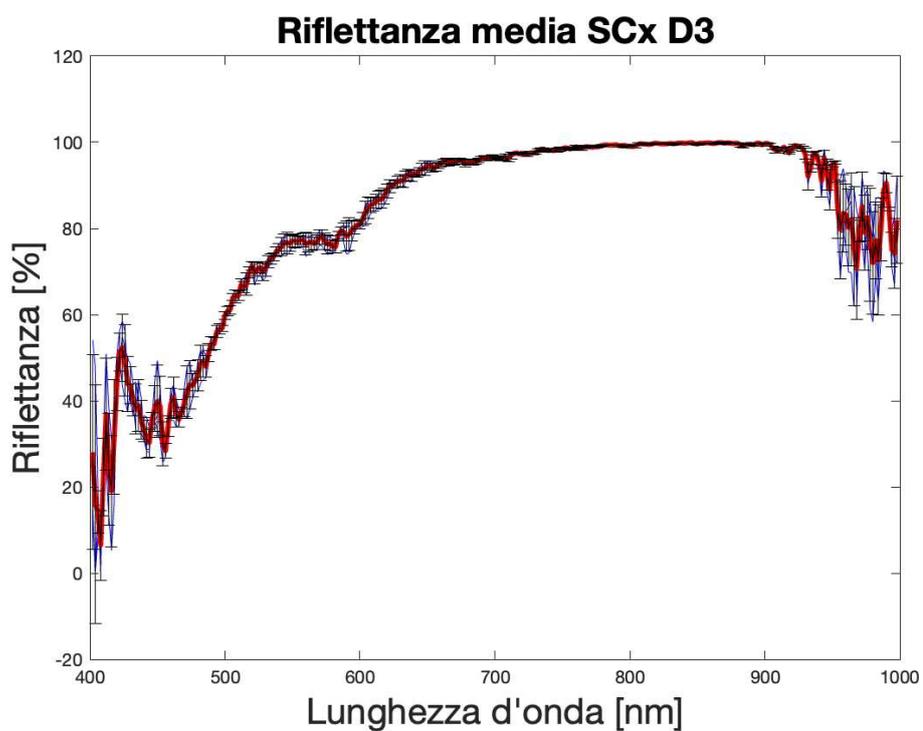


Grafico 21: Riflettanza media Gruppo SC D3

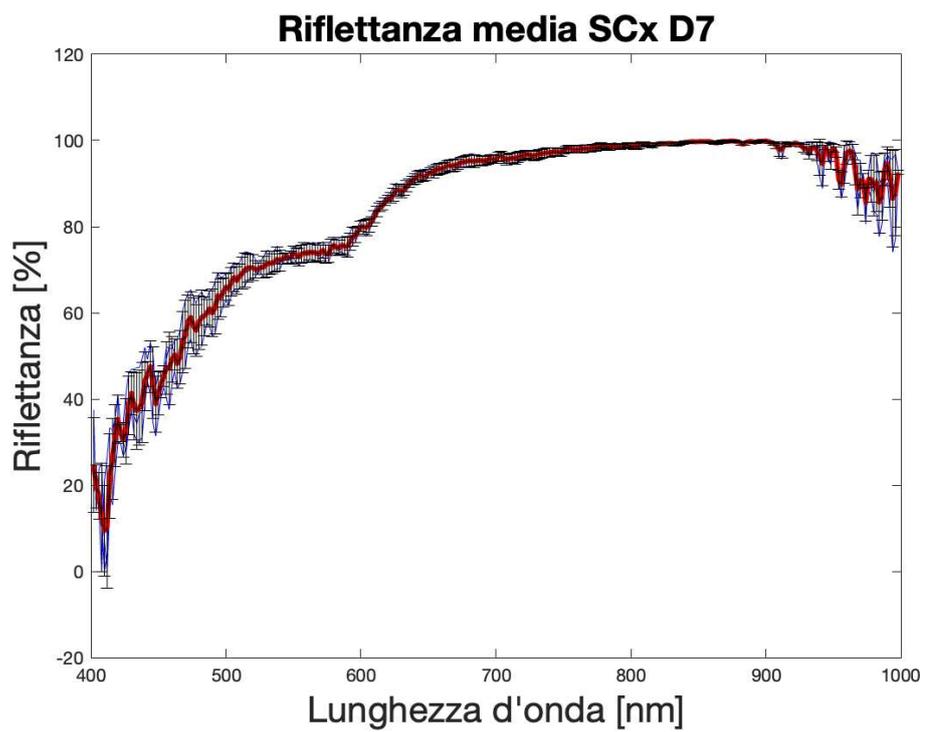


Grafico 22: Riflettanza media Gruppo SC D7

### 4.1.6 Gruppo SC\_5

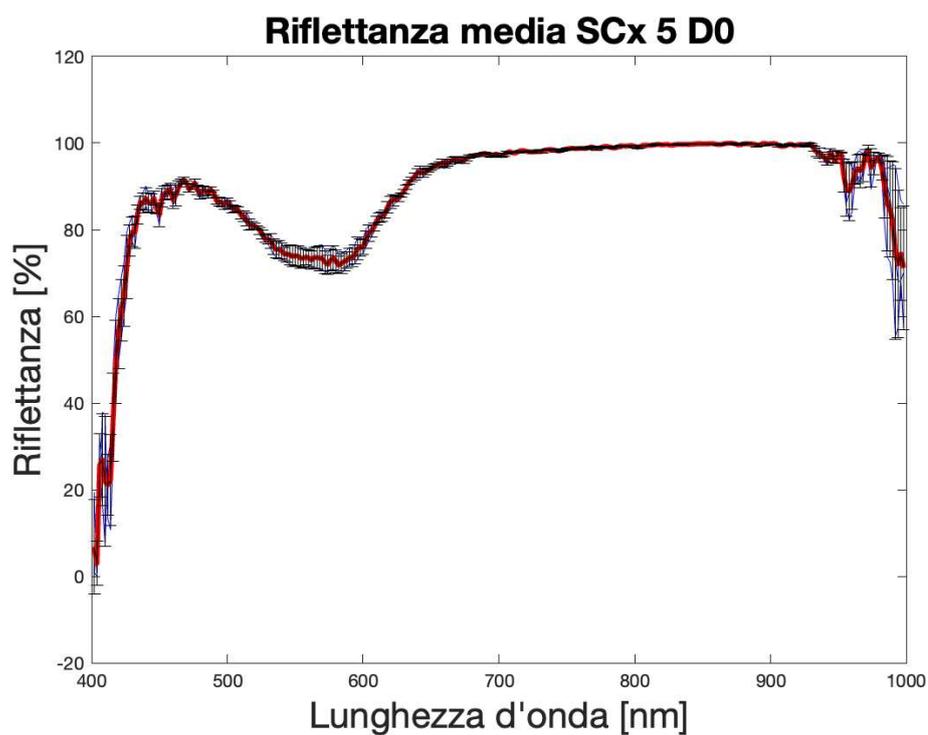


Grafico 23: Riflettanza media Gruppo SC\_5 D0

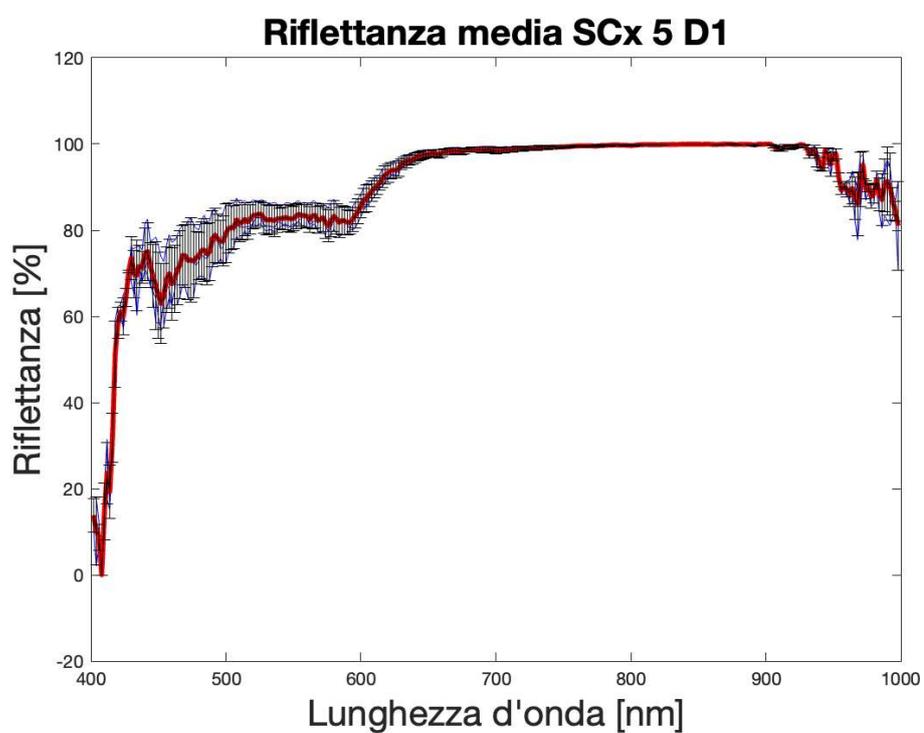


Grafico 24: Riflettanza media Gruppo SC\_5 D1

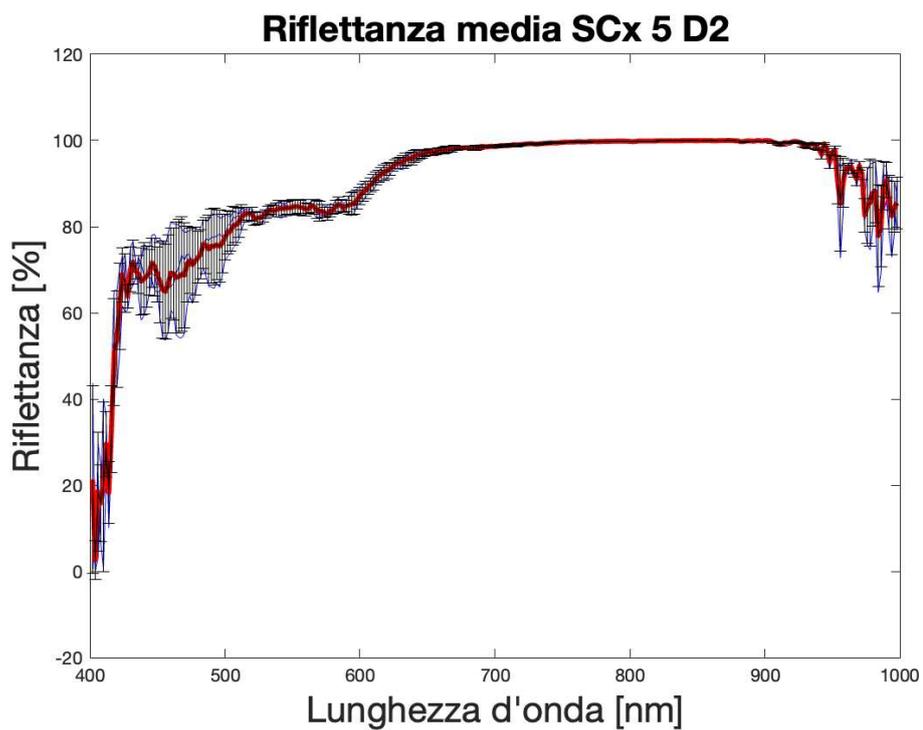


Grafico 25: Riflettanza media Gruppo SC\_5 D2

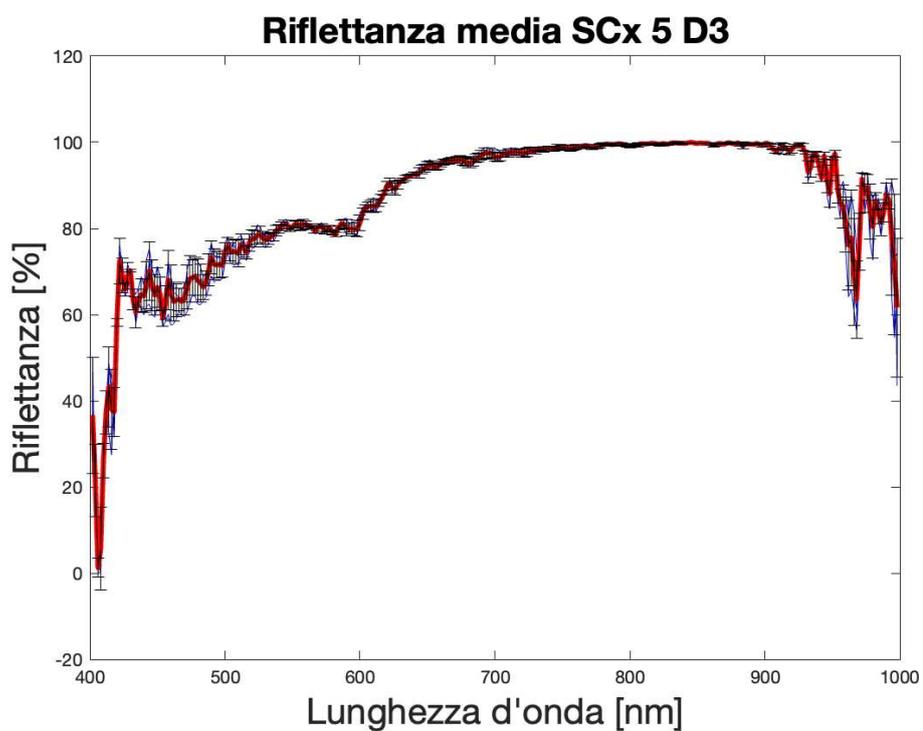


Grafico 26: Riflettanza media Gruppo SC\_5 D3

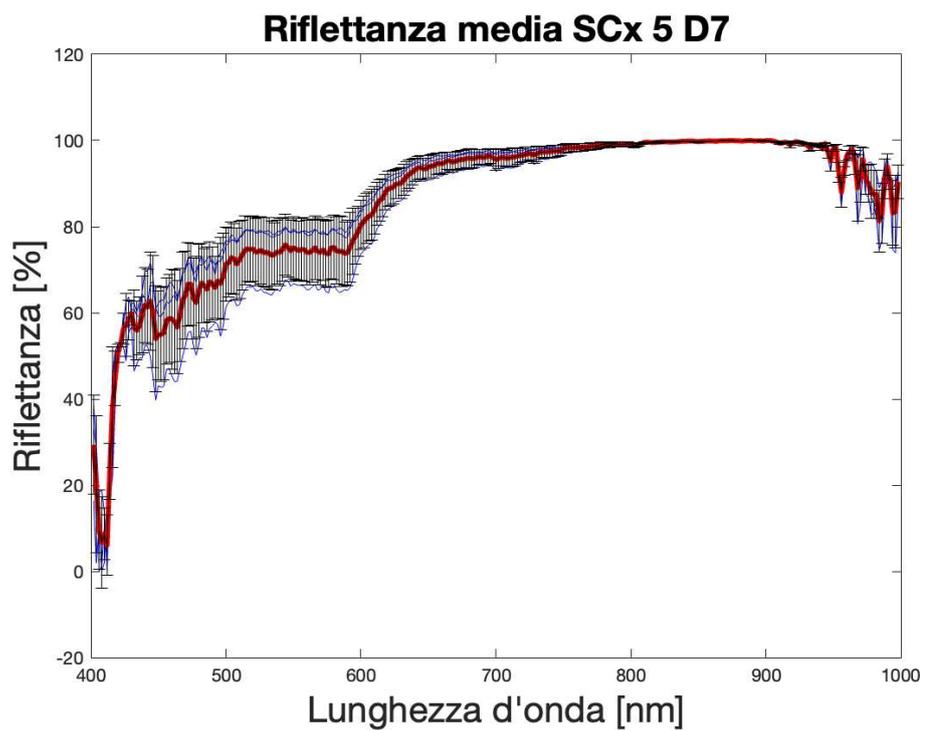


Grafico 27: Riflettanza media Gruppo SC\_5 D7

### 4.1.7 Gruppo X

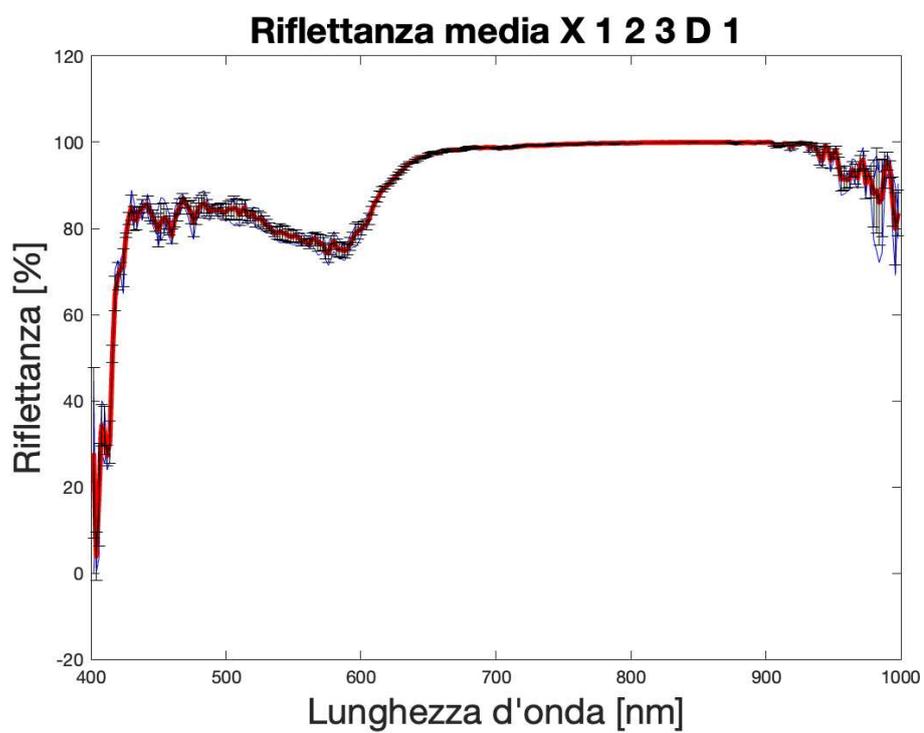


Grafico 28: Riflettanza media Gruppo X1-2-3 D1

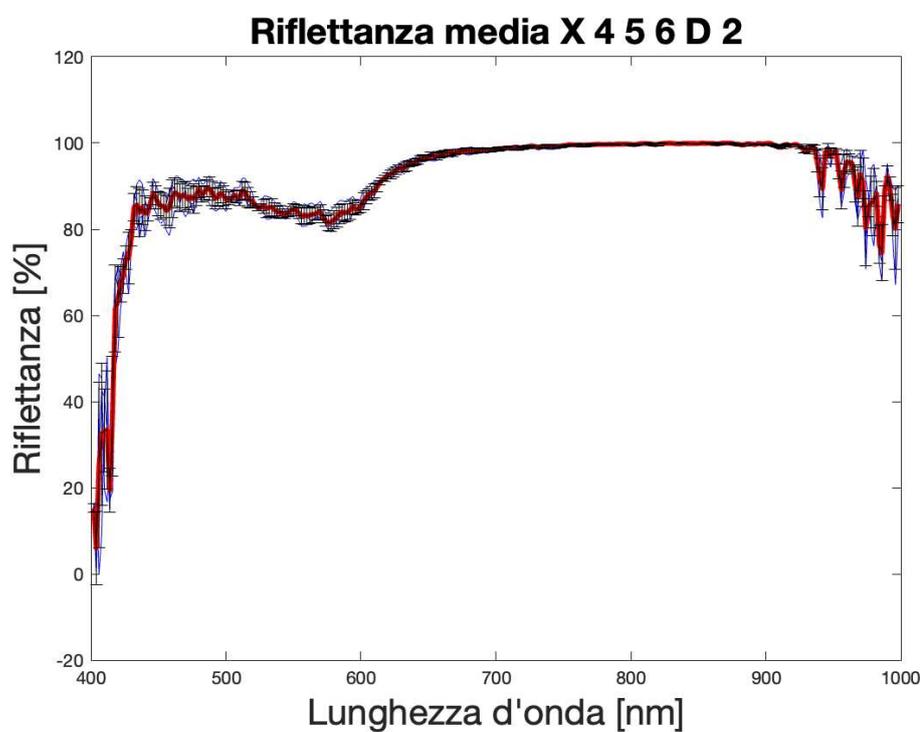


Grafico 29: Riflettanza media Gruppo X4-5-6 D2

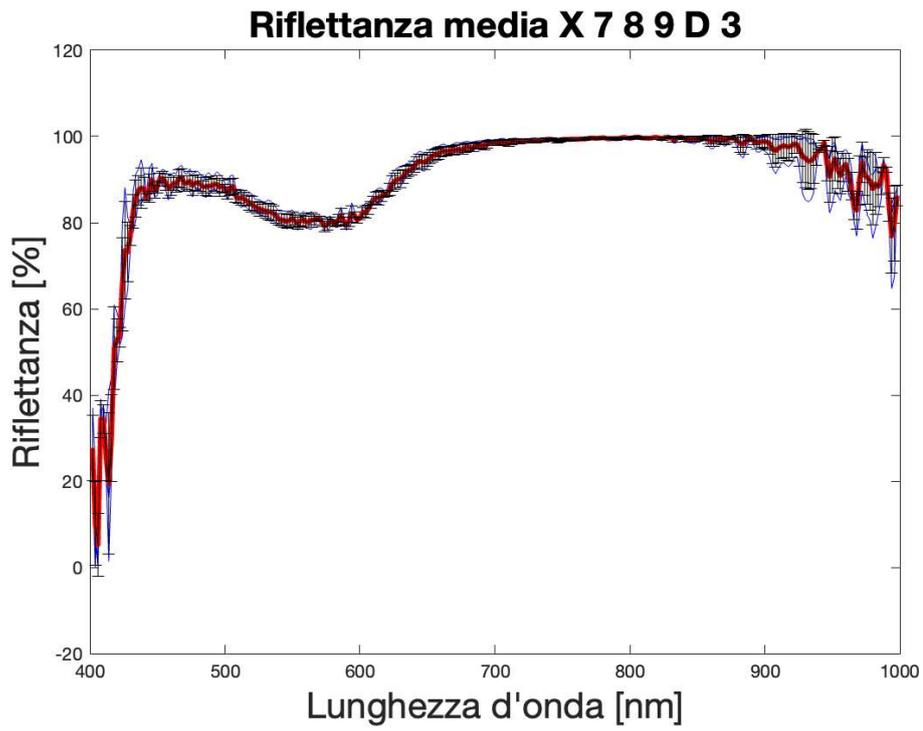


Grafico 30: Riflettanza media Gruppo X7-8-9 D3

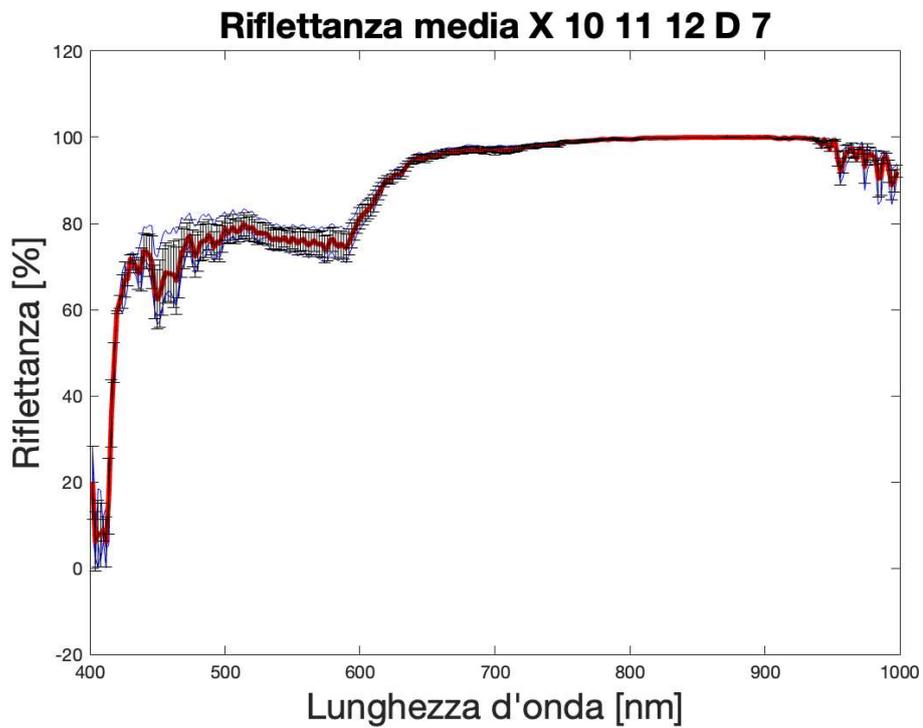


Grafico 31: Riflettanza media Gruppo X10-11-12 D7

### 4.1.8 Gruppo Y

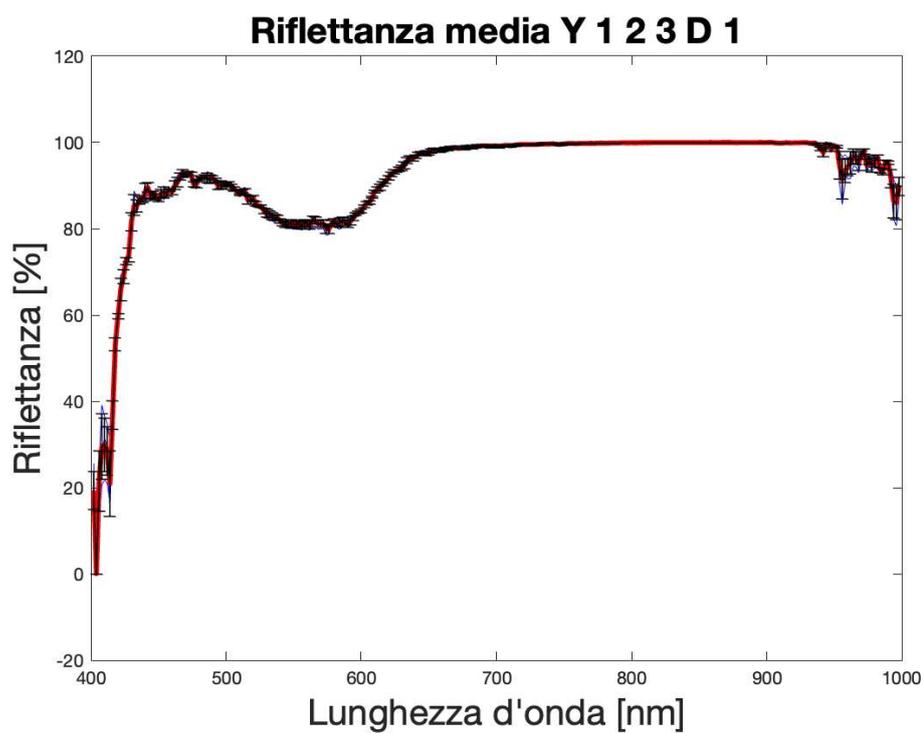


Grafico 32: Riflettanza media Gruppo Y1-2-3 D1

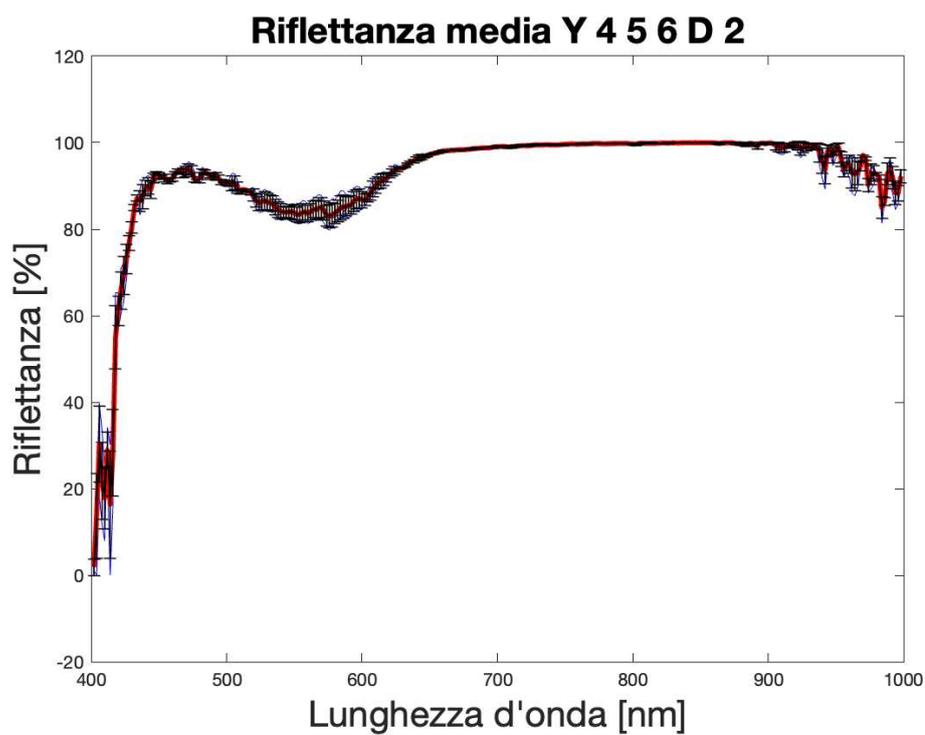


Grafico 33: Riflettanza media Gruppo Y4-5-6 D2

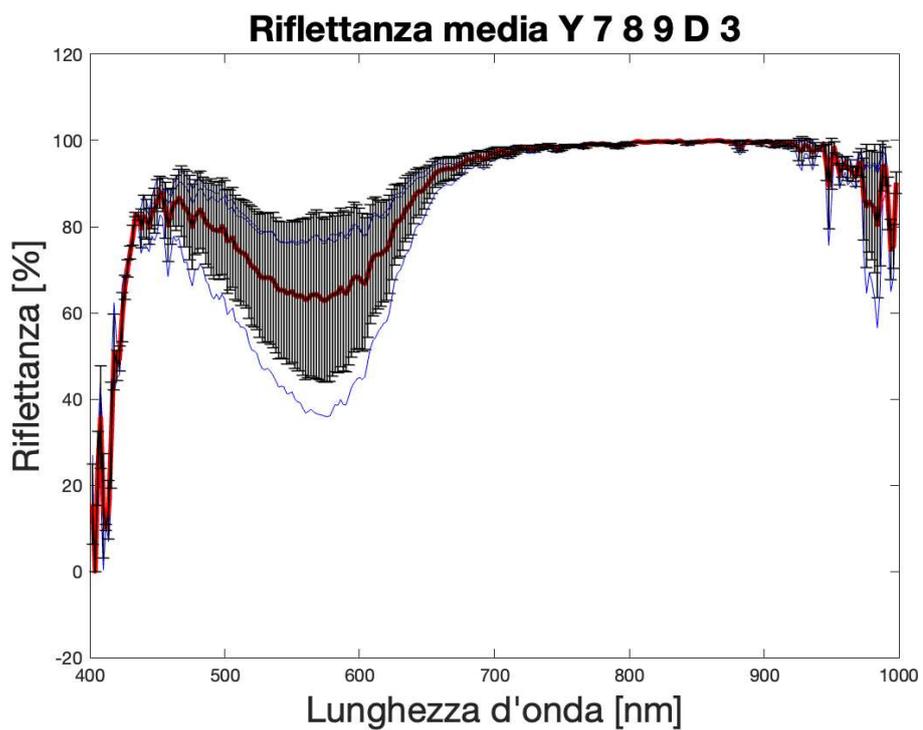


Grafico 34: Riflettanza media Gruppo Y7-8-9 D3

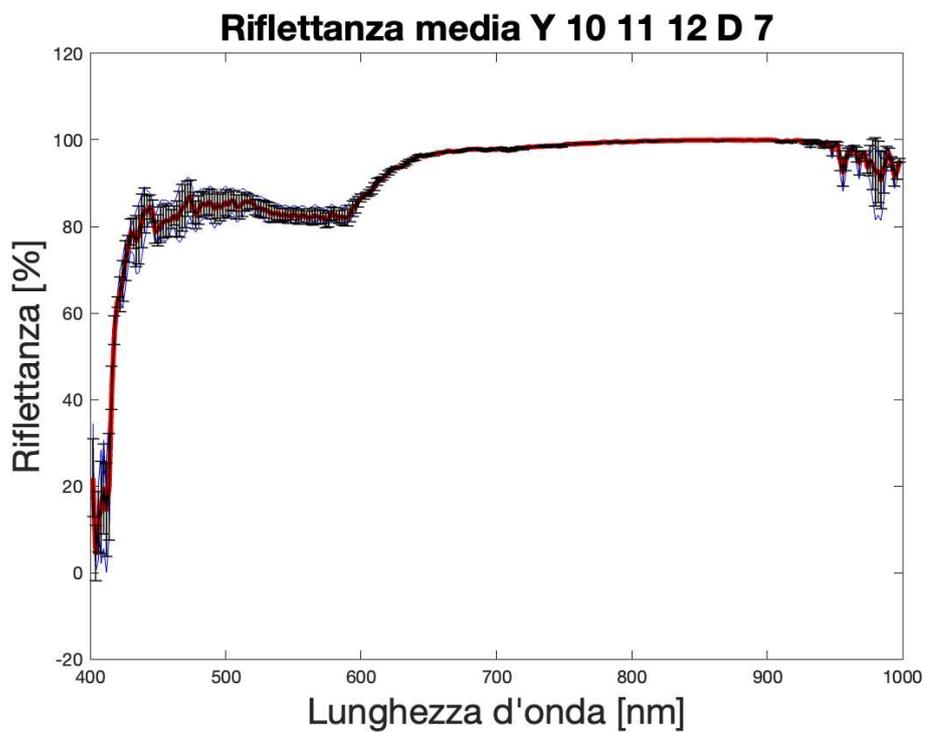


Grafico 35: Riflettanza media Gruppo Y10-11-12 D7

## 4.2 Curve dei campioni divise per giorno

I grafici seguenti mettono a confronto la riflettanza di ogni gruppo di campioni in base al giorno considerato. Ogni campione è associato ad uno specifico colore, uguale per ogni grafico, in modo da semplificarne la lettura.

È importante notare che, dei gruppi X e Y, si è deciso di considerare solo i campioni analizzati subito dopo il lavaggio, tralasciando quelli analizzati nei giorni successivi ad esso.

Osservando i grafici, si nota in maniera molto chiara la similitudine che le curve dei gruppi C e SC, nei giorni D0 e D1 (*Grafico 36 e Grafico 37*), hanno con le curve del gruppo B.

Con l'avanzare dei giorni (*da Grafico 38 a Grafico 40*) si può notare come l'ingiallimento causato dalla candeggina pura al 100% porti le curve dei gruppi C e SC ad abbassarsi nelle bande antecedenti i 600 nm, mentre i gruppi C\_5 e SC\_5 si mantengono simili al gruppo B.

I campioni del gruppo S, al passare dei giorni, subiscono un abbassamento della riflettanza tra i 400 nm e i 600 nm, suggerendo che il sangue sia diventato leggermente più scuro col tempo.

Il leggero abbassamento della curva tra i 400 nm e i 500 nm dei gruppi X e Y nel giorno 7 (*Grafico 40*) è imputabile a fluttuazioni avvenute durante l'acquisizione e al metodo di elaborazione dei dati.

### 4.2.1 Giorno 0

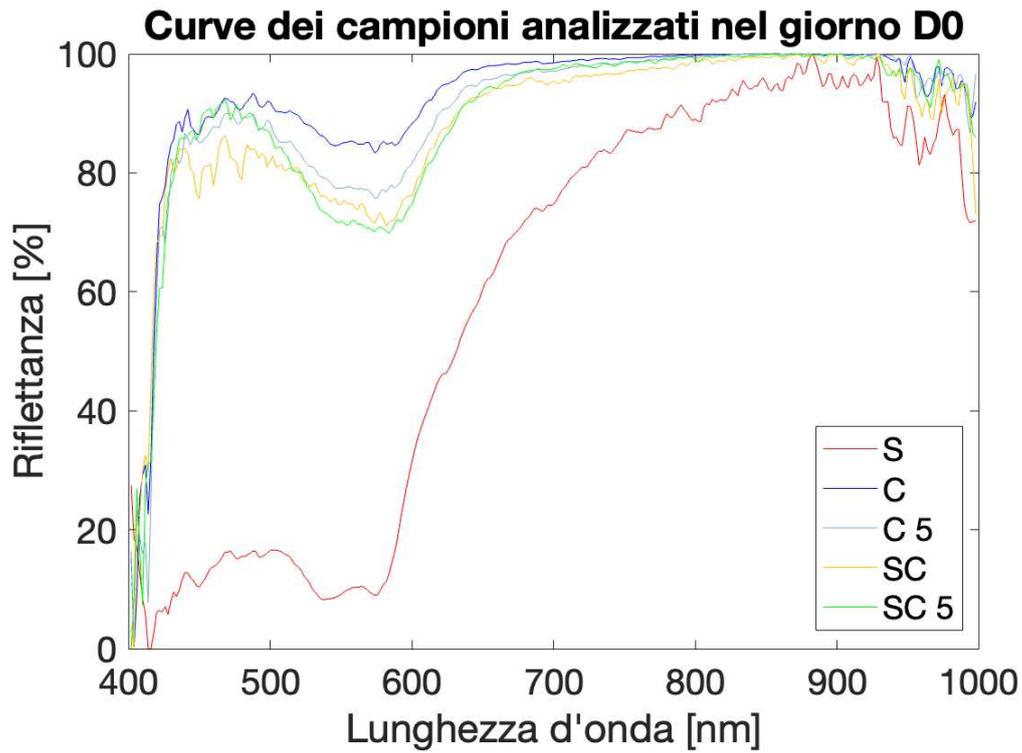


Grafico 36: Curva dei campioni analizzati nel giorno D0

### 4.2.2 Giorno 1

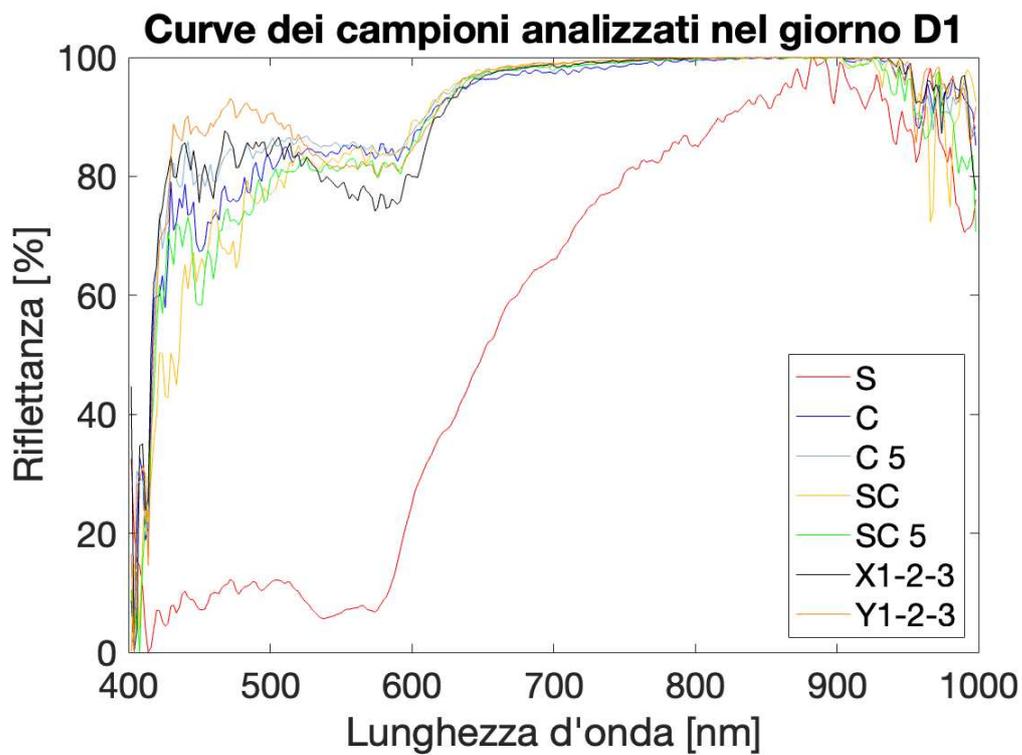


Grafico 37: Curva dei campioni analizzati nel giorno D1

### 4.2.3 Giorno 2

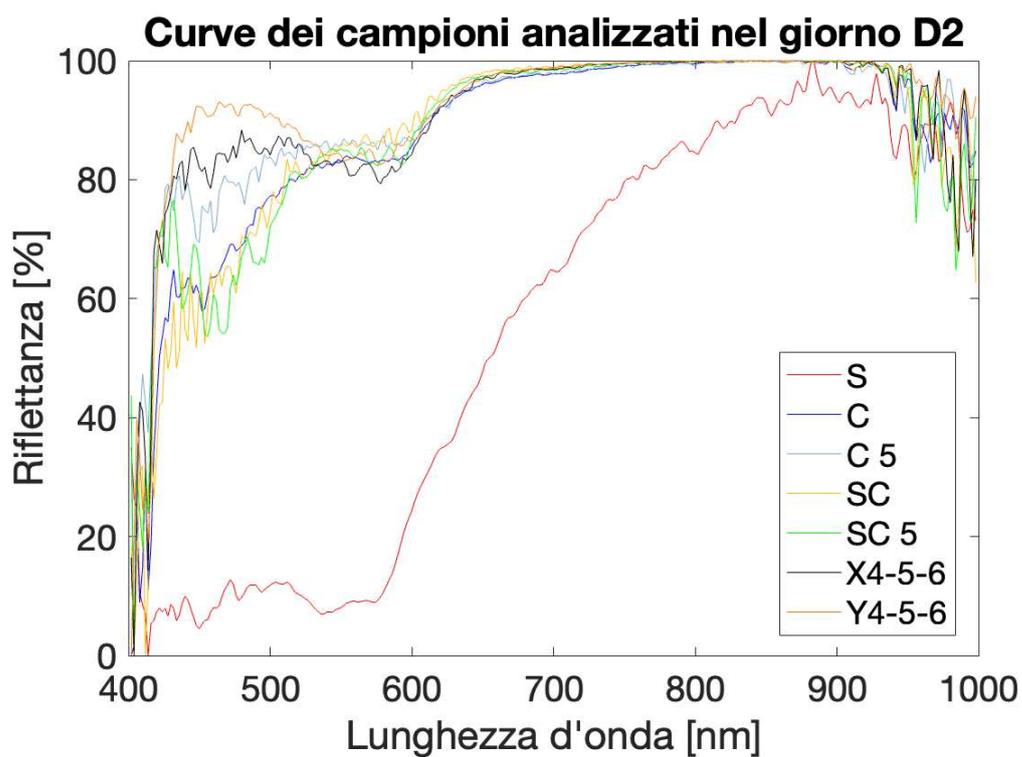


Grafico 38: Curva dei campioni analizzati nel giorno D2

### 4.2.4 Giorno 3

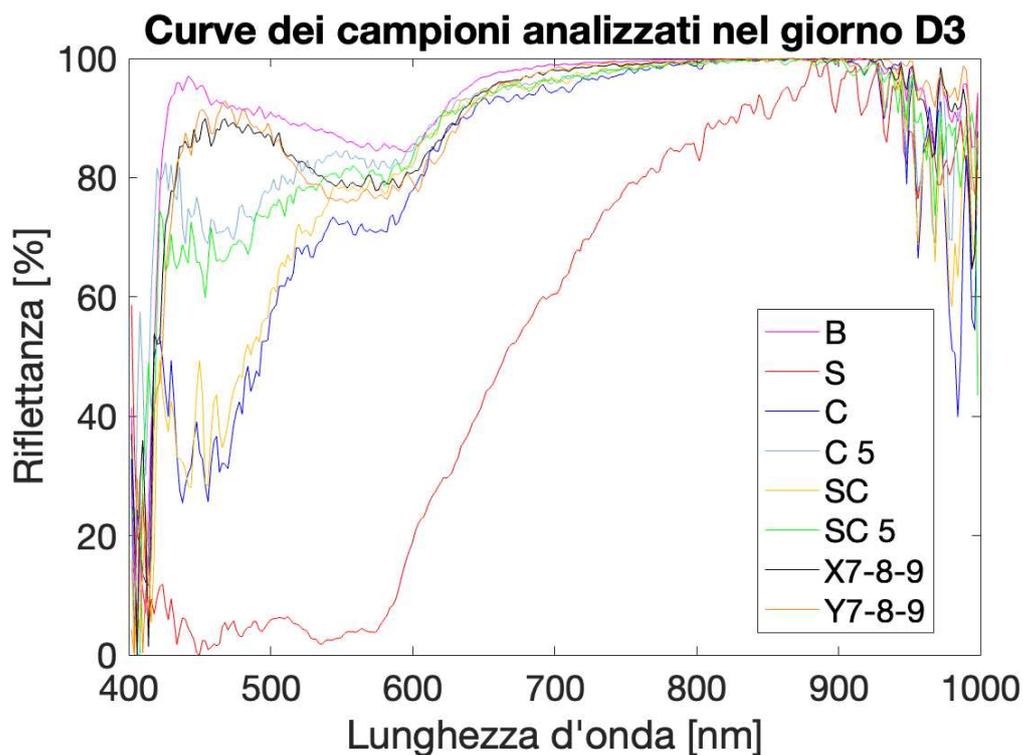


Grafico 39: Curva dei campioni analizzati nel giorno D3

#### 4.2.5 Giorno 7

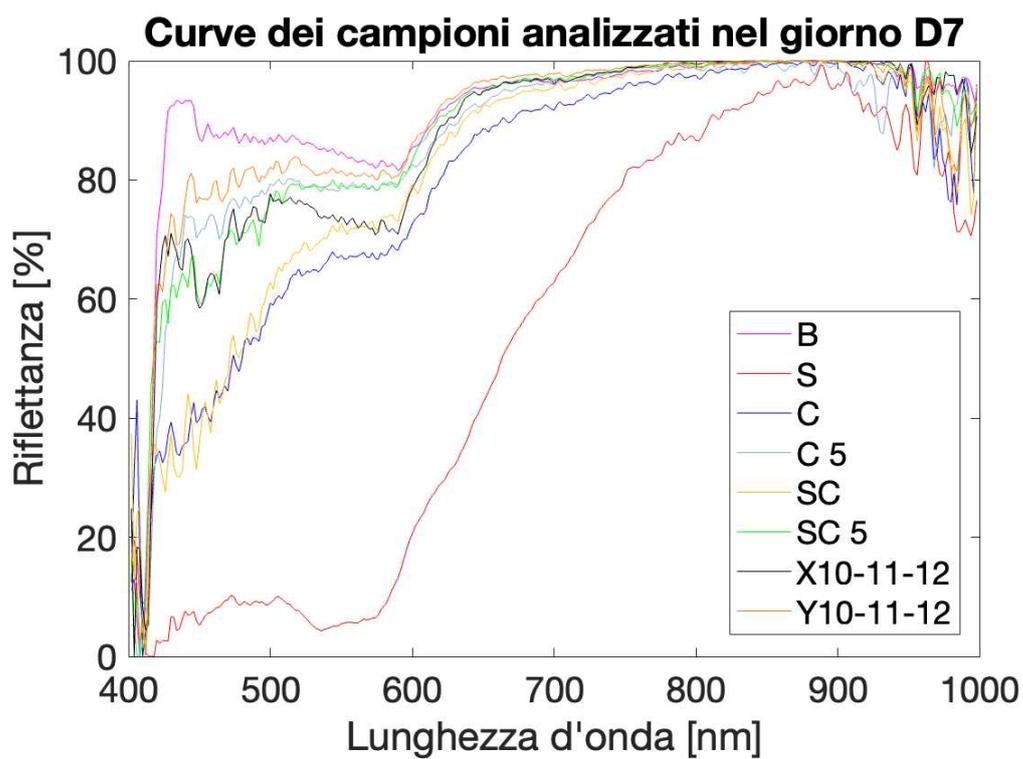


Grafico 40: Curva dei campioni analizzati nel giorno D7

### 4.3 Curve dei campioni nel tempo

Di seguito vengono riportati dei grafici che mettono a confronto il cambiamento delle curve nel tempo divise per gruppo di appartenenza.

Le curve del gruppo B (*Grafico 41*) sono pressoché identiche dato che non hanno subito nessun processo che avrebbe potuto alterarne la riflettanza.

Dal *Grafico 42* è possibile notare il progressivo abbassamento della curva compresa tra i 400 nm e i 600 nm dovuto all'inscurire del sangue nel tempo.

Dal *Grafico 43* è possibile notare il progressivo ingiallimento del tessuto in cotone bianco dovuto dall'effetto della candeggina pura al 100%.

Dal *Grafico 44* è possibile notare come l'ingiallimento sia estremamente ridotto rispetto ai campioni del Gruppo C, suggerendo che il potere degradante della candeggina diluita al 50% sia molto inferiore rispetto alla candeggina pura.

Dal *Grafico 45* si può notare come la curva nel giorno D0 sia analoga alle curve del Gruppo B, per poi mostrare, nei giorni successivi, segni di ingiallimento analogamente al gruppo C.

Anche nel *Grafico 46* si può notare come la curva nel giorno D0 sia analoga alle curve del Gruppo B; tuttavia, come per il gruppo C\_5, si nota un ingiallimento estremamente ridotto rispetto che per il gruppo SC che contiene candeggina pura al 100%.

Dal *Grafico 47* al *Grafico 50* vengono mostrati i campioni dei Gruppi X. Ogni grafico rappresenta una curva in meno rispetto al precedente in quanto ogni Sottogruppo X è stato analizzato per la prima volta partendo dal giorno successivo alla prima analisi del Sottogruppo X precedente. Si può notare come il tempo intercorso tra la deposizione del sangue e il lavaggio con candeggina non vari significativamente la curva di riflettanza, suggerendo che non sia un parametro rilevante nell'andamento della curva.

I grafici dal *Grafico 51* al *Grafico 54*, rappresentanti i gruppi Y, hanno struttura analoga ai gruppi X dei grafici precedenti. Anche qui si può notare come il tempo intercorso tra la deposizione del sangue e il lavaggio con candeggina non vari significativamente la curva di riflettanza, ribadendo quanto già detto.

### 4.3.1 Gruppo B

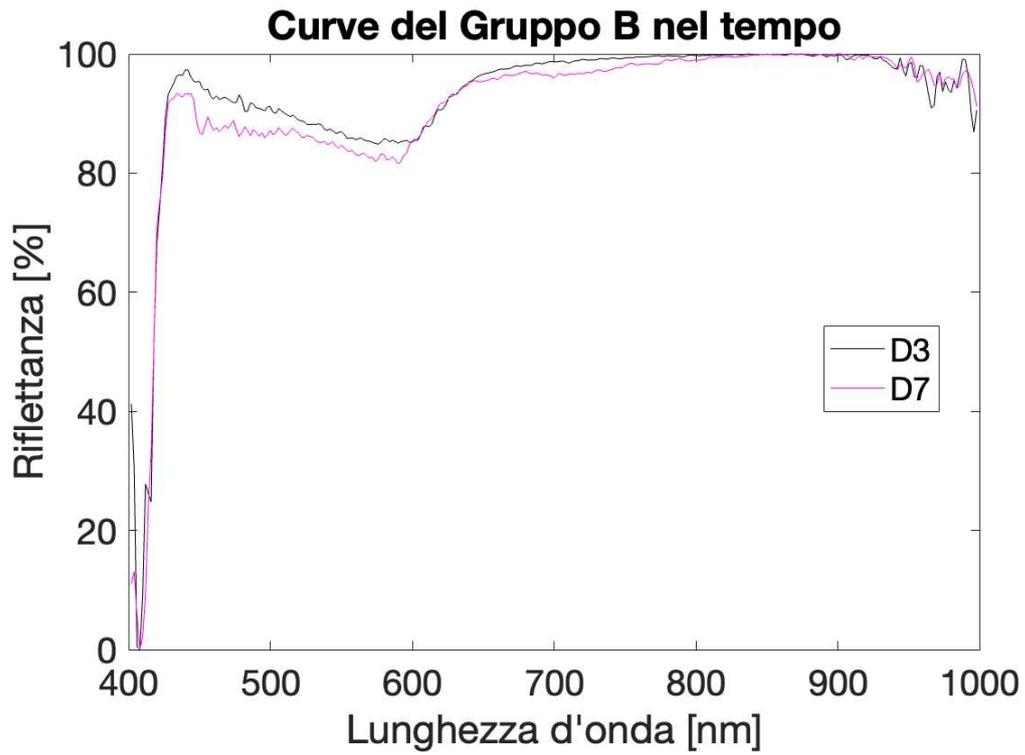


Grafico 41: Curve del Gruppo B nel tempo

### 4.3.2 Gruppo S

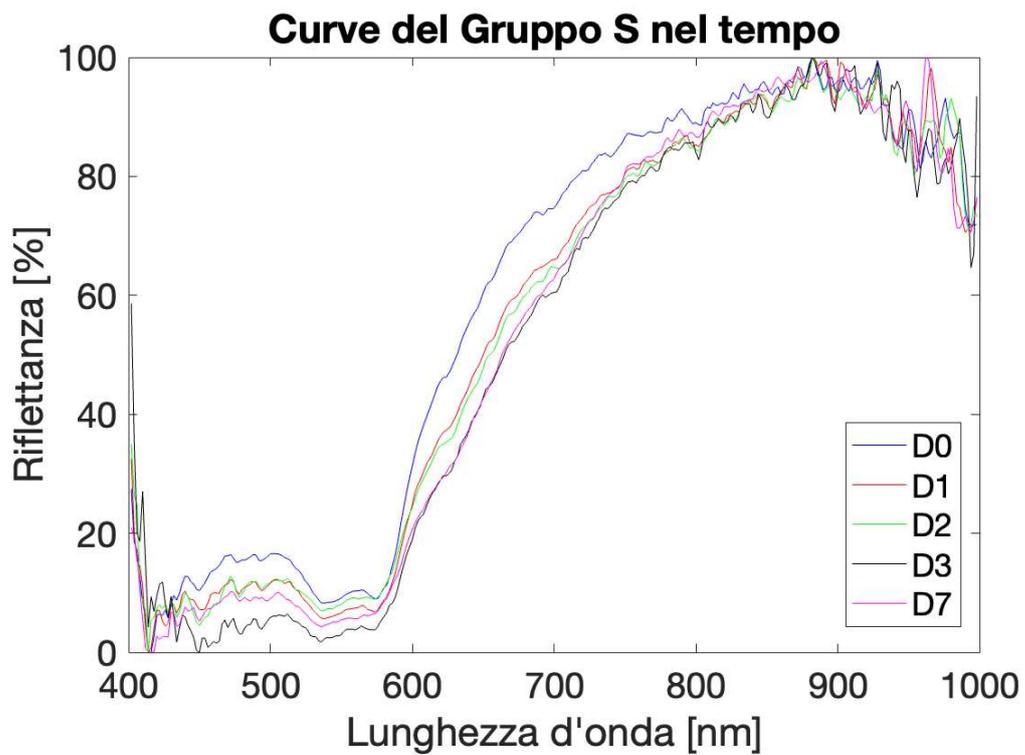


Grafico 42: Curve del Gruppo S nel tempo

### 4.3.3 Gruppo C

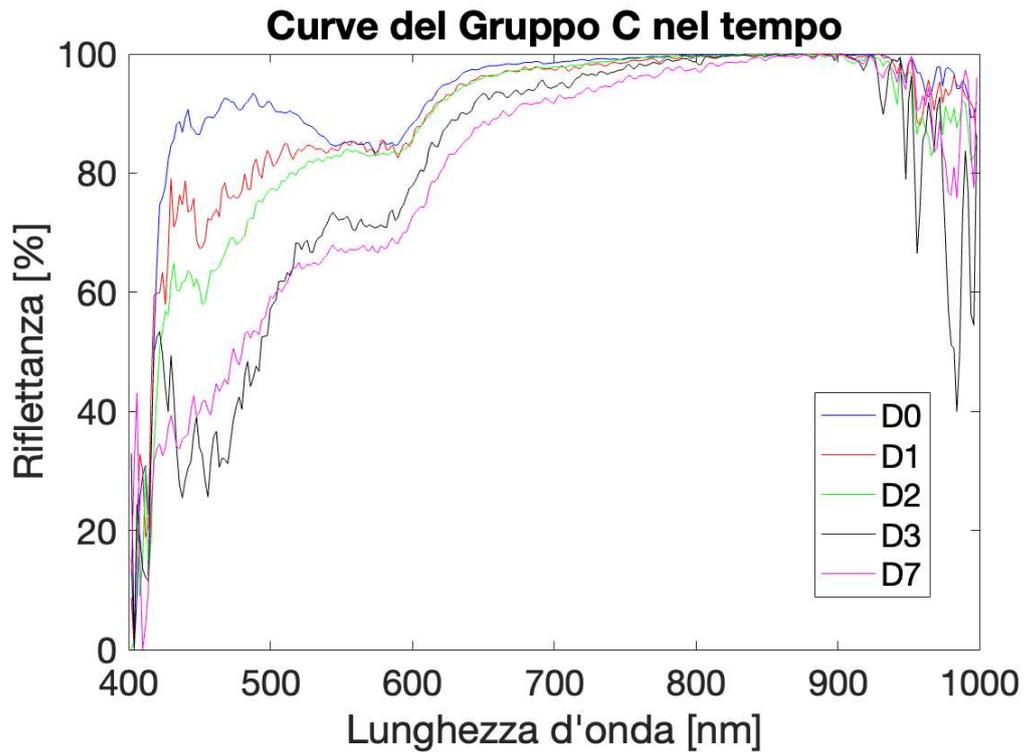


Grafico 43: Curve del Gruppo C nel tempo

### 4.3.4 Gruppo C\_5

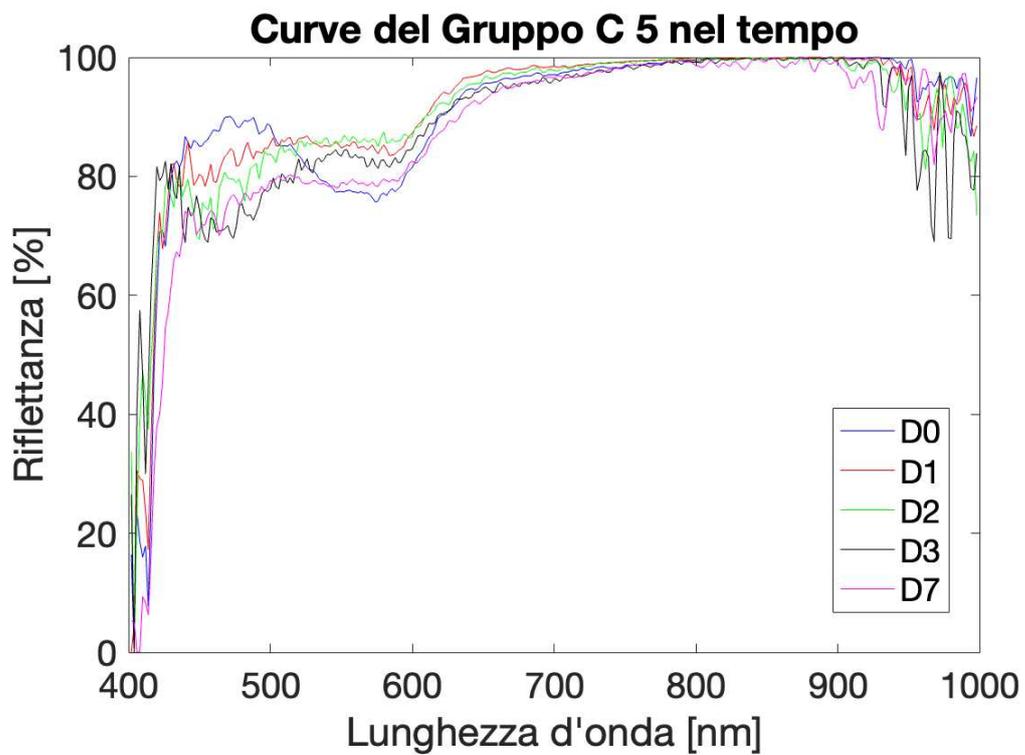


Grafico 44: Curve del Gruppo C\_5 nel tempo

### 4.3.5 Gruppo SC

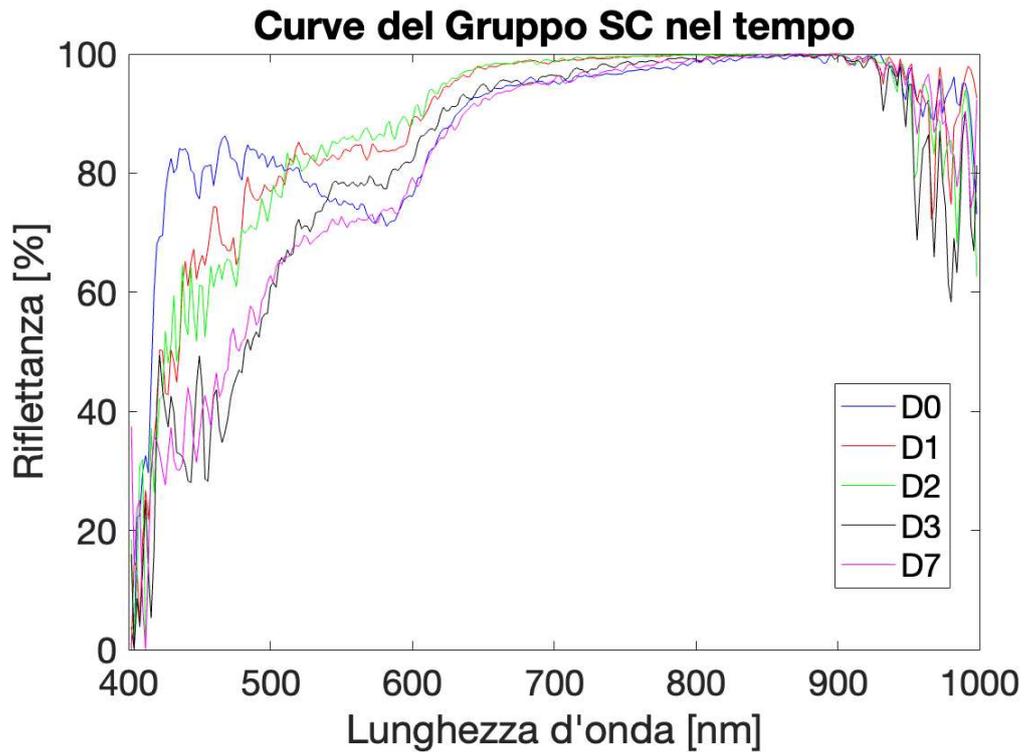


Grafico 45: Curve del Gruppo SC nel tempo

### 4.3.6 Gruppo SC\_5

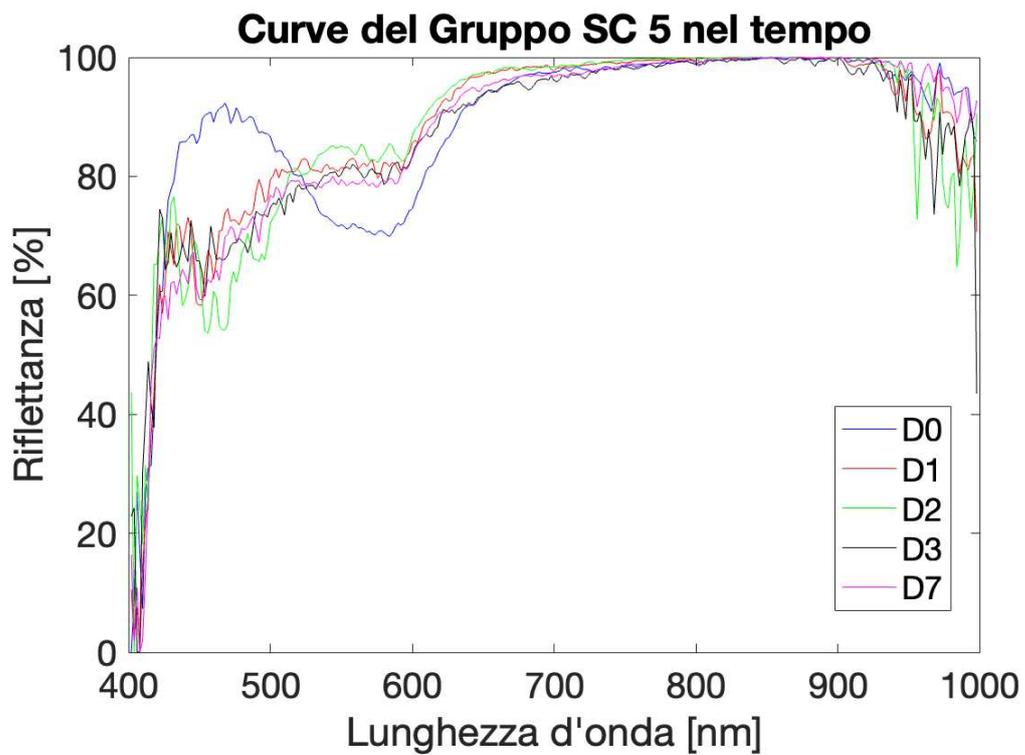


Grafico 46: Curve del Gruppo SC\_5 nel tempo

### 4.3.7 Gruppo X1-2-3

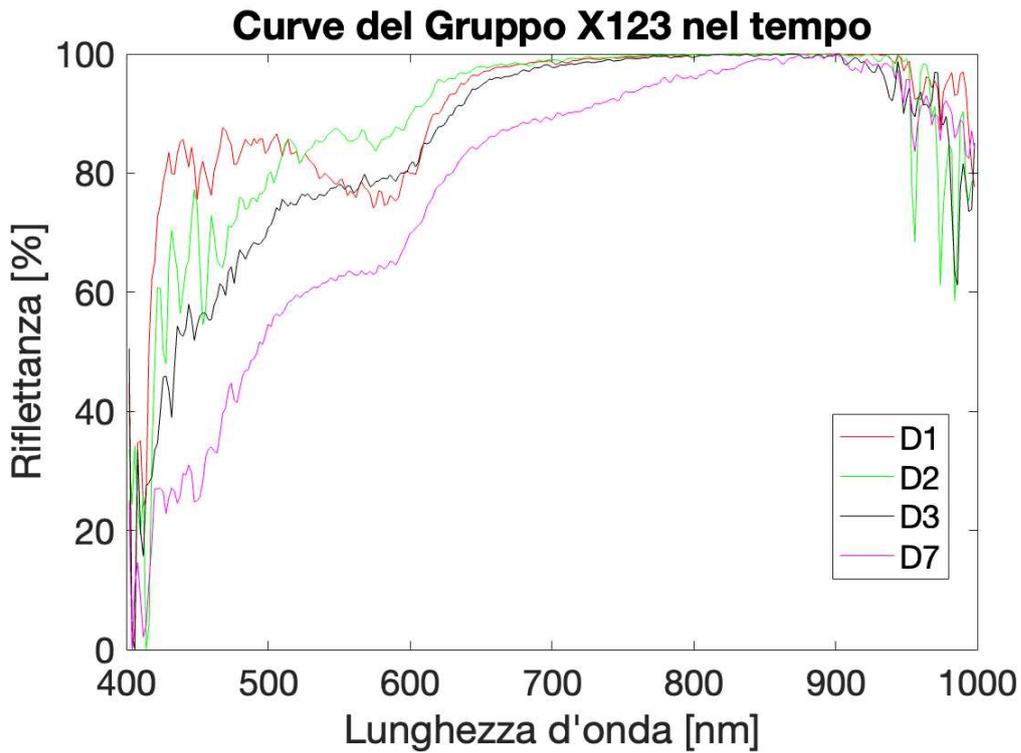


Grafico 47: Curve del Gruppo X1-2-3 nel tempo

### 4.3.8 Gruppo X4-5-6

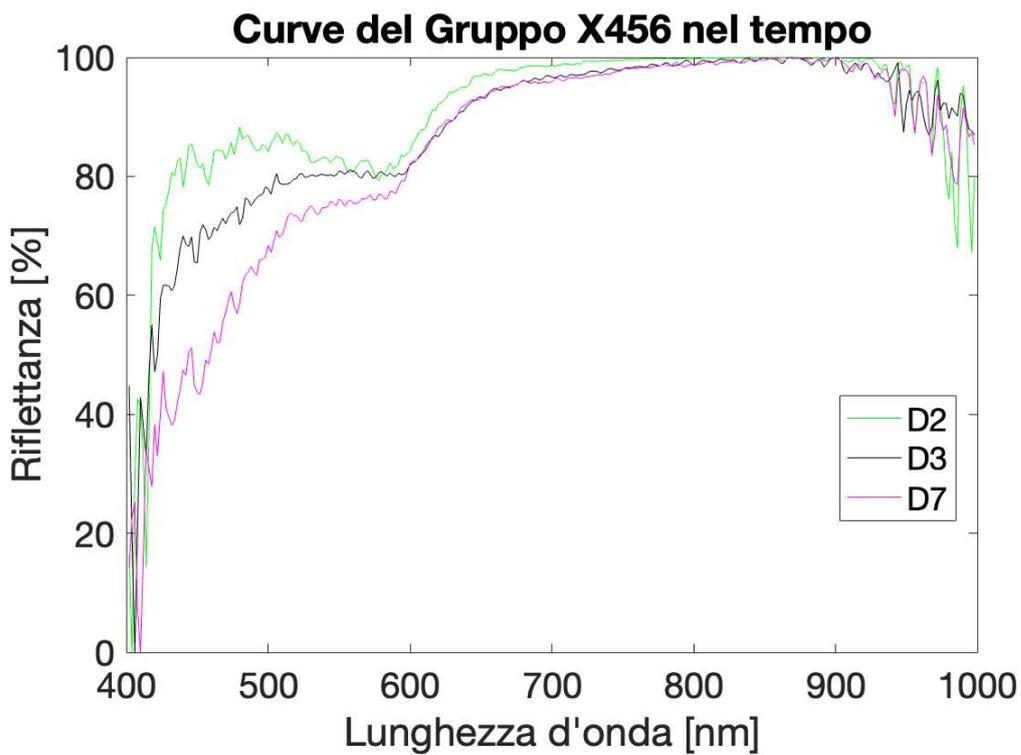


Grafico 48: Curve del Gruppo X4-5-6 nel tempo

### 4.3.9 Gruppo X7-8-9

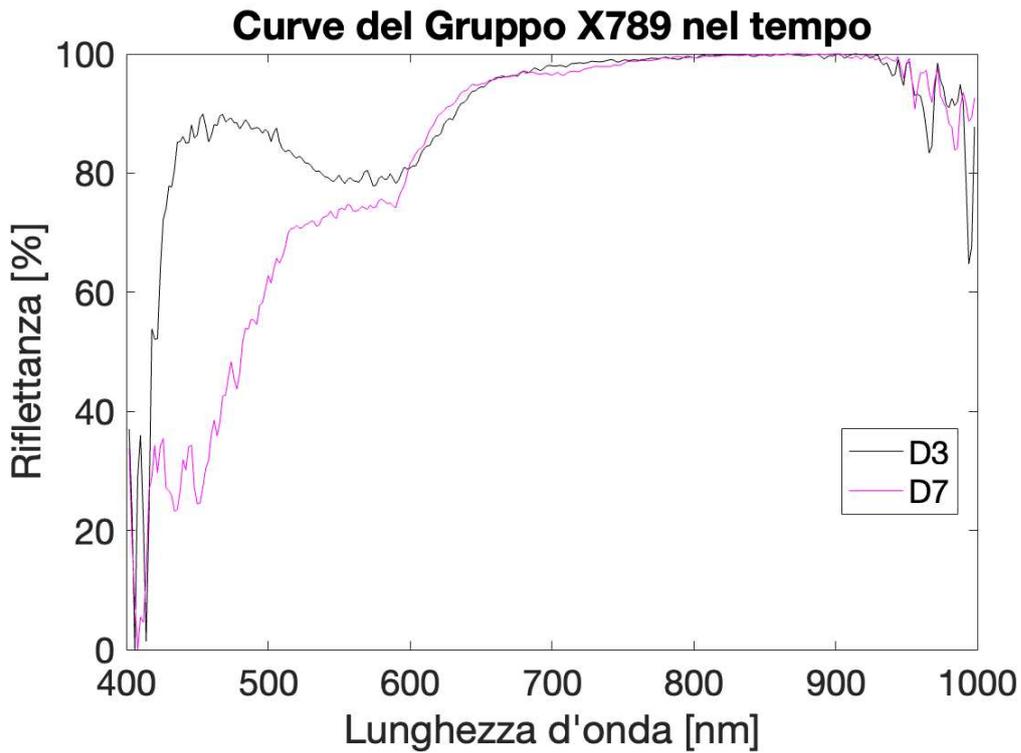


Grafico 49: Curve del Gruppo X7-8-9 nel tempo

### 4.3.10 Gruppo X10-11-12

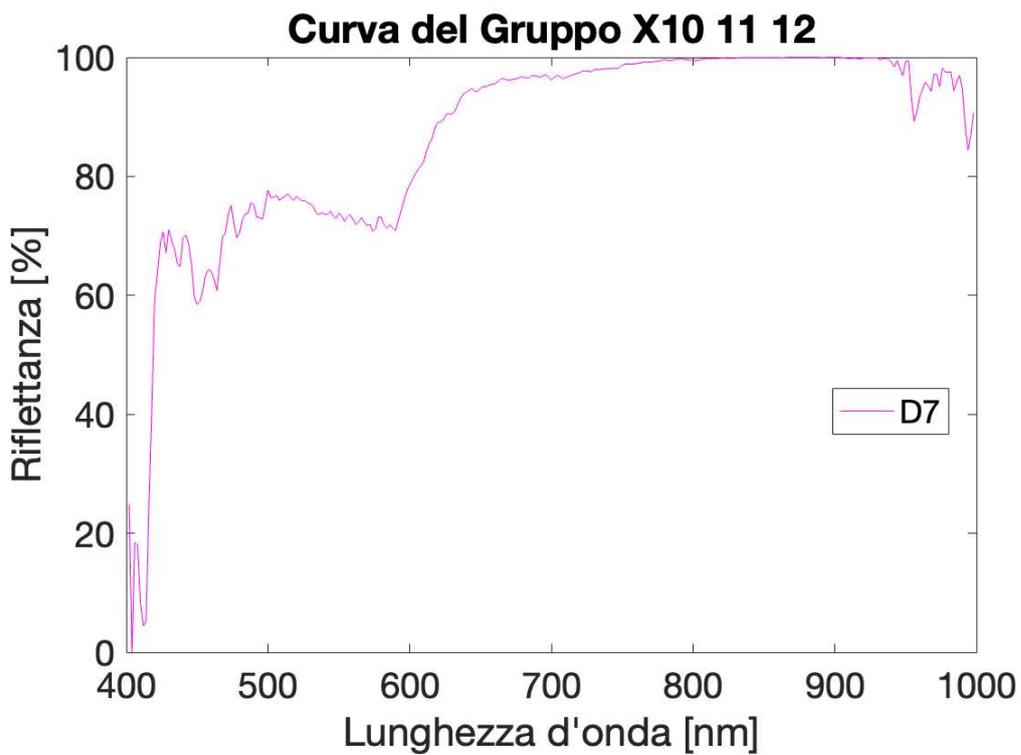


Grafico 50: Curva del Gruppo X10-11-12

### 4.3.11 Gruppo Y1-2-3

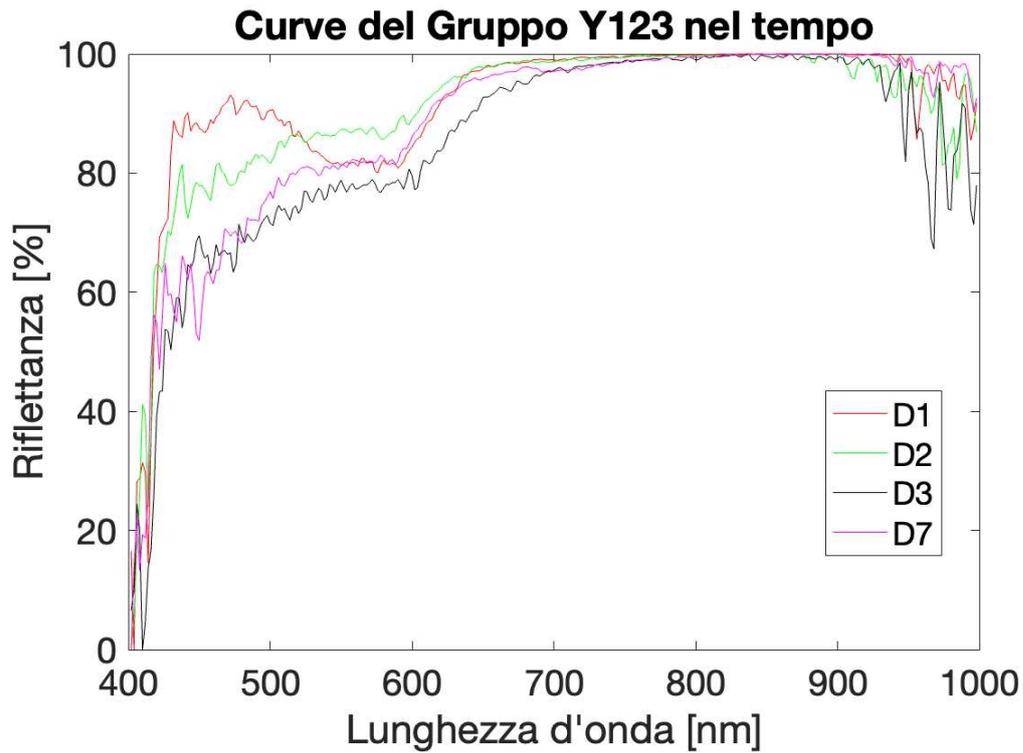


Grafico 51: Curve del Gruppo Y1-2-3 nel tempo

### 4.3.12 Gruppo Y4-5-6

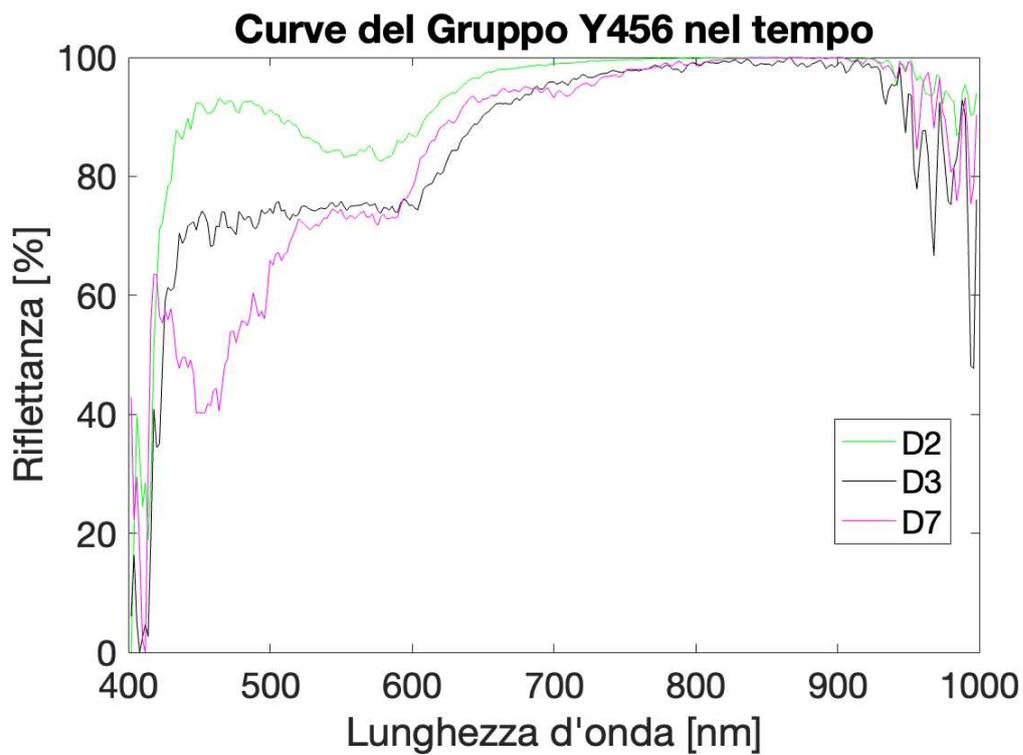


Grafico 52: Curve del Gruppo Y4-5-6 nel tempo

### 4.3.13 Gruppo Y7-8-9

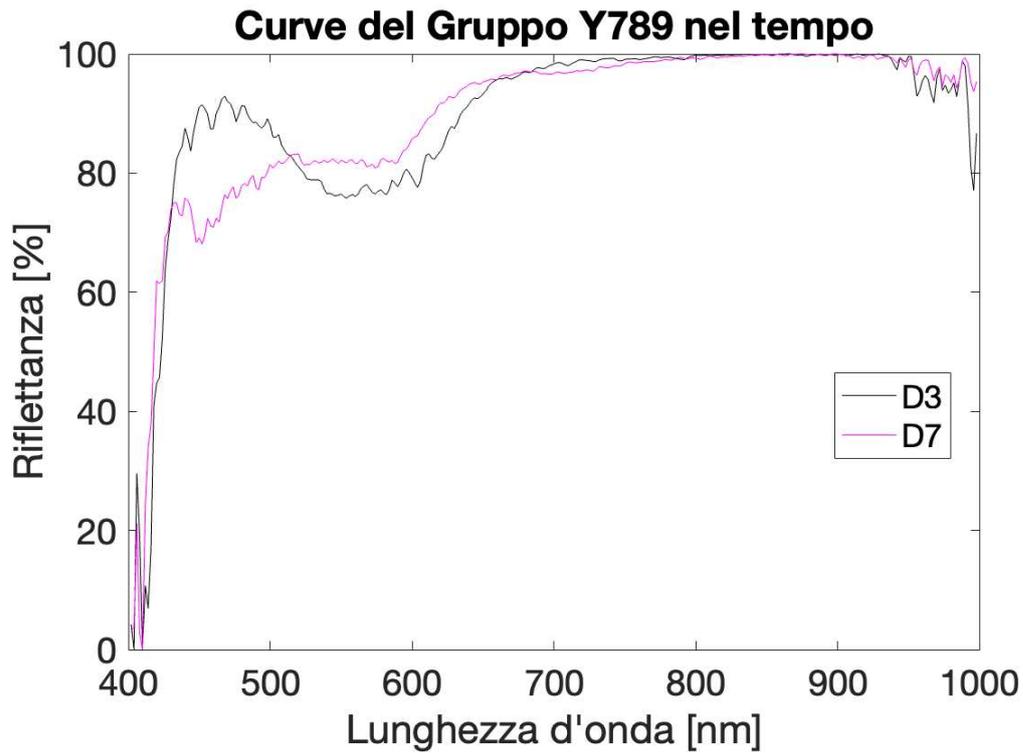


Grafico 53: Curve del Gruppo Y7-8-9 nel tempo

### 4.3.14 Gruppo Y10-11-12

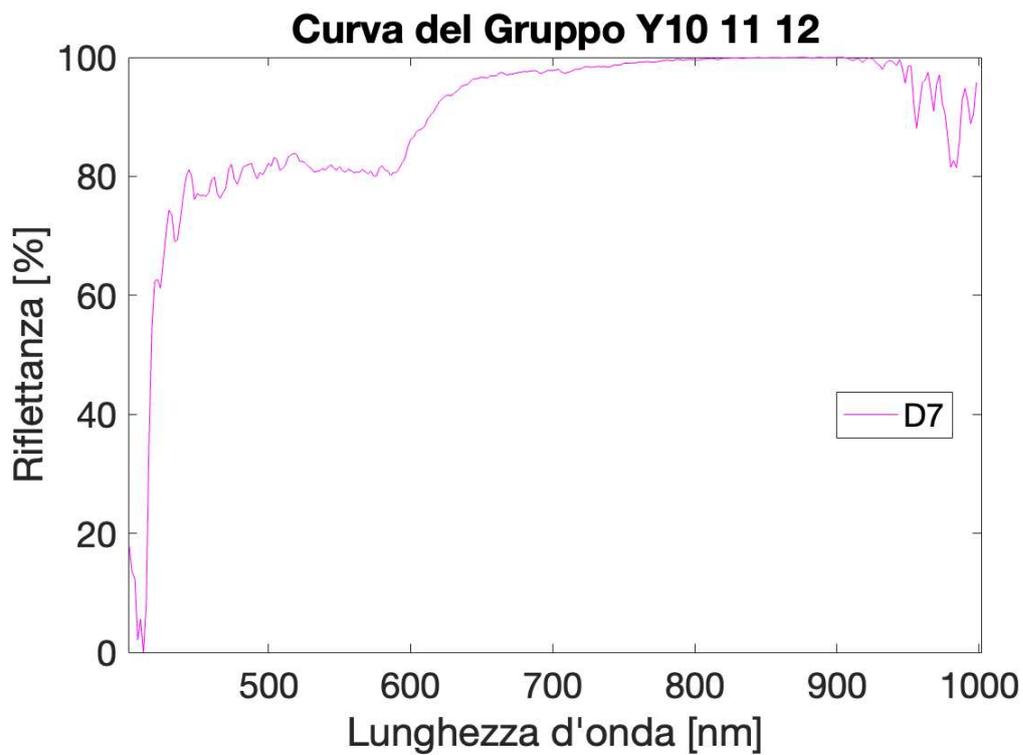


Grafico 54: Curva del Gruppo Y10-11-12



## 5 Conclusioni

L'osservazione dei grafici ha portato interessanti considerazioni sulla capacità del metodo di elaborazione utilizzato di portare alla luce curve di riflettanza definibili tipiche di determinati gruppi di campioni.

I dati elaborati si sono rivelati molto efficaci nel mostrare l'andamento tipico di materiali visibili a occhio nudo, come la curva tipica del sangue del gruppo S e la curva tipica del cotone bianco del gruppo B. I dati, inoltre, mostrano chiaramente il progressivo abbassamento della curva dei gruppi C e SC (prima dei 600 nm) dovuto all'ingiallimento causato dall'effetto della candeggina pura al 100% sul tessuto in cotone nel tempo.

È possibile notare dai gruppi SC, SC\_5, X e Y che, indipendentemente dal tempo trascorso tra la deposizione del sangue e il lavaggio con candeggina, il risultato resta invariato e la curva osservabile da ognuno è simile alle altre curve ottenute analizzando i campioni appena lavati, suggerendo che questo parametro non sia significativo nel variare il potere detergente della candeggina.

I dati elaborati si sono rivelati non essere significativi nel rilevare tracce ematiche non visibili all'occhio umano in nessuno dei campioni contenenti sangue dilavato. Le curve dei gruppi SC, SC\_5, X e Y, non mostrano alcun andamento che possa suggerire che in quei campioni fosse stato presente del sangue prima del lavaggio con candeggina. Ciò è da attribuire al metodo di elaborazione utilizzato che si è rivelato non essere adeguato allo scopo.

Un ulteriore approfondimento sulla struttura dell'algoritmo di elaborazione dati, arricchendolo di funzioni matematiche di filtro, di statistica o di intelligenza artificiale, contribuirebbe significativamente nella costruzione delle curve ricercate fornendo la possibilità di poter riconoscere da esse la presenza di sangue in un tessuto dilavato.



## 6 Bibliografia

- [1] *Bleach interference in forensic luminol tests on porous surfaces: More about the drying time effect* . **Ana Castelló, Francesc Francés, Fernando Verdú**. s.l. : Elsevier, 2008.
- [2] *A comprehensive experimental study of industrial, domestic and environmental interferences with the forensic luminol test for blood*. **Morris Grodsky, Keith Wright, Paul L. Kirk**. s.l. : Journal of Criminal Law and Criminology, 1951, Luminescence.
- [3] *Detection of bloodstains on cotton fabric after washing*. **Stojanović, Ivan**. s.l. : Articolo Originale, 2019.
- [4] *Attempted cleaning of bloodstains and its effect on the forensic luminol test* . **Jonathan I. Creamer, Terence I. Quickenden, Leah B. Crichton, Patrick Robertson and Rasha A. Ruhayel**. s.l. : Luminescence, 2005.
- [5] *Visualization of Latent Blood Stains Using Visible Reflectance Hyperspectral Imaging and Chemometrics*. **Gerda J. Edelman, M.Sc., Ton G. van Leeuwen, Ph.D. e and Maurice C. Aalders, Ph.D.** s.l. : Journal of forensic sciences, 2015.
- [6] *Detection of the Bloodstain on Different Fabrics after Washing with Commercial Detergent*. **Varsha Singh, Shruti Rajwar and Suchi Gupta**. s.l. : Indian Journal of Natural Sciences, 2022.
- [7] *Measurement technique based on hyperspectral imaging for occulted blood stain detection*. **Nicola Giulietti, Silvia Discepolo, Paolo Castellini, Milena Martarelli**. s.l. : IEEE TechDefense, 2023.
- [8] **Hinalea imaging**. Model 4250 400-1000nm VIS-NIR. *hinaleaimaging.com*. [Online] 2022. <https://hinaleaimaging.com/wp-content/uploads/2022/06/Model-4250-Intelligent-Imaging-System-2022.pdf>.
- [9] **elenapimukova**. Vecteezya. [Online] <https://it.vecteezy.com/arte-vettoriale/7695535-spettro-luce-visibile-lunghezza-d-onda-luce-ottica-spettro-elettromagnetico-di-colore-visibile-per-occhio-umano-diagramma-gradiente-vettoriale-con-lunghezza-d-onda-e-colori-illustrazione-educativa-su-sfondo->.

