

**APLICACIONES DE LA ESPECTROSCOPIA RAMAN EN LA  
IDENTIFICACIÓN NO DESTRUCTIVA DE SANGRE EN ESCENAS DEL  
CRIMEN: UNA REVISIÓN SISTEMÁTICA**

**Ronald Daniel López Ortega**

**Director**  
**Denis Mauricio Ocampo Chaguendo**

**Universidad Santiago de Cali**  
**Facultad de Ciencias Básicas**  
**Programa de Química Farmacéutica**  
**Cali, Colombia**  
**2025**

**APLICACIONES DE LA ESPECTROSCOPIA RAMAN EN LA  
IDENTIFICACIÓN NO DESTRUCTIVA DE SANGRE EN ESCENAS DEL  
CRIMEN: UNA REVISIÓN SISTEMÁTICA**

**Ronald Daniel López Ortega**

**Trabajo de grado presentado como requisito parcial para optar al título de:  
Químico Farmacéutico**

**Director  
Denis Mauricio Ocampo Chaguendo**

**Grupo de Investigación: GRUPO DE INVESTIGACION EN  
ELECTROQUIMICA Y MEDIO AMBIENTE (GIEMA)**

**Línea de Investigación: Alimentos y Fármacos**

**Nombrar ODS en el que se enmarca el trabajo de grado:  
ODS 16 – Paz, justicia e instituciones sólidas**

**Universidad Santiago de Cali  
Facultad de Ciencias Básicas  
Programa de Química Farmacéutica  
Cali, Colombia  
2025**

## IMPACTOS

Relacione el (los) impacto(s) que presentó el Trabajo de Grado según los siguientes criterios:

IMPACTO	PRODUCTO	BENEFICIARIO(S)
<b>Económico</b>	Reducción de costos en insumos químicos tradicionales	Instituciones forenses laboratorios estatales
<b>Responsabilidad social</b>	Mejora en la calidad de la justicia penal	Sociedad en general, víctimas, operadores judiciales
<b>Científico</b>	Revisión sistemática sobre una técnica innovadora en criminalística	Comunidad académica, investigadores forenses
<b>Indicadores de Gestión</b>	Optimización en tiempos y procedimientos de análisis de evidencias	Policía científica, fiscalía
<b>Tecnológico</b>	Aplicación de tecnologías no destructivas como espectroscopía Raman	Laboratorios forenses, entes judiciales
<b>Técnico</b>	Propuesta de mejora en protocolos de análisis de muestras biológicas	Criminalistas, peritos técnicos
<b>Ambiental</b>	Reducción del uso de reactivos contaminantes	Medio ambiente, entes de control ambiental
<b>Social</b>	Contribución a la lucha contra la impunidad mediante pruebas más confiables	Ciudadanía, sistema judicial
<b>Cultural</b>	Fortalecimiento de una cultura de legalidad y evidencia científica	Comunidad académica, ciudadanía

Entre los productos derivados de esta investigación se destacan la generación de nuevo conocimiento relacionado con el uso y aplicación de la espectroscopía Raman en escenarios forenses; la apropiación social del conocimiento, al contribuir a la comprensión de estas técnicas por parte de actores judiciales y sociales; la sistematización de información útil para futuros desarrollos académicos y profesionales; así como el planteamiento de mejoras metodológicas que pueden ser consideradas por laboratorios forenses e instituciones judiciales en pro de procesos más eficientes, seguros y sostenibles.

## APLICACIONES DE LA ESPECTROSCOPIA RAMAN EN LA IDENTIFICACION NO DESTRUCTIVA DE SANGRE EN ESCENAS DEL CRIMEN

<sup>1</sup>Grupo de Investigación en electroquímica y medio ambiente (GIEMA), Programa de Química Farmacéutica. Facultad de Ciencias Básicas. Universidad Santiago de Cali. Campus Pampalinda Calle 5 # 62-00. Santiago de Cali. Colombia

### RESUMEN

La espectroscopía Raman ha emergido como una herramienta prometedora en la identificación no destructiva de sangre en escenas del crimen, superando las limitaciones de métodos tradicionales como luminol o Kastle-Meyer. Esta revisión sistemática analizó 48 estudios publicados entre 2014 y 2025, evaluando la aplicabilidad de Raman frente a técnicas convencionales. Se identificó que Raman permite un análisis molecular específico de la hemoglobina, incluso en muestras envejecidas o contaminadas, con alta precisión y sin alterar la evidencia. Sin embargo, su implementación enfrenta retos como la interferencia por fluorescencia, la necesidad de bases de datos robustas y el costo de los equipos portátiles. La comparación con métodos tradicionales evidenció que, aunque estos últimos son más accesibles y rápidos, son menos específicos y tienden a degradar las muestras. La integración de Raman con inteligencia artificial y tecnologías portátiles representa el futuro en la detección forense de sangre, reforzando la cadena de custodia y la confiabilidad de los hallazgos en el ámbito judicial.

**Palabras clave:** Identificación forense, análisis espectroscópico, escena del crimen, técnicas vibracionales, pruebas presuntivas, evidencia biológica.

## RAMAN SPECTROSCOPY APPLICATIONS IN THE NON -DESTRUCTIVE BLOOD IDENTIFICATION IN CRIME SCENES

### ABSTRACT

Raman spectroscopy has emerged as a promising tool in the nondestructive identification of blood at crime scenes, overcoming the limitations of traditional methods such as luminol or Kastle-Meyer. This systematic review analyzed 48 studies published between 2014 and 2025, evaluating the applicability of Raman versus conventional techniques. It was identified that Raman allows specific molecular analysis of hemoglobin, even in aged or contaminated samples, with high precision and without altering the evidence. However, its implementation faces challenges such as fluorescence interference, the need for robust databases and the cost of portable equipment. Comparison with traditional methods showed that, although the latter are more accessible and faster, they are less specific and tend to degrade samples. The integration of Raman with artificial intelligence and portable technologies represents the future in forensic blood detection, reinforcing the chain of custody and the reliability of findings in the judicial environment.

**Keywords:** Forensic identification, spectroscopic analysis, crime scene, applied vibrational techniques, presumptive evidence, biological evidence.

### HIGHLIGHTS

La espectroscopía Raman permite la identificación específica y no destructiva de sangre humana en escenas del crimen, preservando la evidencia para posteriores análisis genéticos y judiciales.

La combinación de espectroscopía Raman con inteligencia artificial mejora la clasificación automática de muestras de sangre, incluso en condiciones ambientales adversas y en presencia de contaminantes.

La espectroscopía Raman supera las limitaciones de métodos tradicionales como luminol y Kastle-Meyer, reduciendo falsos positivos y aumentando la confiabilidad de los hallazgos forenses.

## 1. INTRODUCCIÓN

Las investigaciones forenses dependen de la identificación oportuna y precisa de la sangre en las escenas del crimen, ya que su presencia puede proporcionar información crucial para esclarecer los hechos (Wilde, 2018) (Butler, 2014). Los primeros pasos del análisis de patrones de manchas de sangre se dieron en Europa en 1850. Uno de los más importantes estudios científicos de patrones de manchas de sangre fue titulado "Conociendo el origen, forma, dirección y distribución de manchas de sangre causadas por lesiones confusas en la cabeza" se refirió detalladamente al análisis de las manchas de sangre indicando que su análisis y colección eran de vital importancia en la investigación criminal (Gutiérrez, 2018). Del mismo modo, la Organization of Scientific Area Committees (2022) expone que la propuesta del análisis de patrones de manchas de sangre constituye un subcomité en la interpretación de patrones físicos necesarios para la interpretación de pruebas forense (Asociación Internacional de Analistas de Patrones de Manchas de Sangre) (Paul Jones et al., 2022) (Home et al., 2022). Por tanto, la sangre contiene material genético invaluable que permite identificar a las víctimas y a los sospechosos con gran certeza (Gutiérrez, 2018).

Actualmente, aunque existe una amplia documentación sobre la evolución histórica de la medicina legal o forense, los avances en el análisis de fluidos biológicos han sido más limitados en comparación con otras áreas, especialmente en cuanto a técnicas no destructivas y de alta especificidad aplicadas en campo (Duarte & Oldemary, 2022). En el siglo actual, el estudio genético, ha permitido mejorar la capacidad de resolución respecto a la proporcionada por los métodos clásicos forenses, basados en los grupos proteicos de los fluidos corporales (Carratto et al., 2022) (Kalife et al., 2019) (Márquez & Caballero, 2019) Especialmente la sangre en un contexto forense y médico legal, la sangre juega un papel principal en nuestro cuerpo, ya que es la encargada de transportar sustancias y materiales a cada una de las células, órganos y tejidos de nuestro cuerpo, regula la temperatura y el equilibrio del pH, aproximadamente comprende el 7-8% de nuestro peso total (Figueroa et al., 2022). Técnicas como la espectroscopia vibracional Raman son de gran ayuda para el análisis y caracterización de muestras de sangre o glóbulos rojos sin interrumpir su actividad biológica.

Sin embargo, para asegurar la confiabilidad de estos resultados, es fundamental aplicar técnicas adecuadas de recuperación, preservación y análisis de muestras sanguíneas, garantizando que su integridad no se vea comprometida y que puedan ser utilizadas como evidencia científica en casos criminales (Virkler & Lednev, 2008) (Hegde et al, 2025). No obstante, muchos de los métodos forenses empleados actualmente para detectar sangre presentan limitaciones, como las pruebas presuntivas basadas en reacciones químicas, las cuales pueden ser destructivas con la muestra y pueden requerir de reactivos químicos de uso limitado o generar resultados poco fiables como falsos positivos en situaciones donde las muestras se encuentran degradadas o contaminadas (Vyas et al., 2020) (Céspedes et al., 2021).

Debido a dichas limitaciones, se han explorado técnicas analíticas más avanzadas que permitan una identificación más precisa y confiable. Entre ellas, la espectroscopía Raman, una técnica que permite obtener información estructural de los compuestos presentes en una muestra sin requerir contacto directo ni comprometer la integridad de la evidencia (Almehmadi & Lednev, 2024). Esta técnica se basa en los fenómenos de dispersión inelástica de la luz, en la cual un haz de radiación monocromática, generalmente proveniente de un láser de luz visible, interactúa con las moléculas de la muestra. Durante este proceso, la mayor parte de la luz incidente se dispersa elásticamente (dispersión de Rayleigh), pero una pequeña fracción experimenta cambios en su energía debido a la excitación de vibraciones moleculares, lo que genera un espectro único de desplazamientos de frecuencia conocidos como desplazamientos de Raman. Estos desplazamientos dependen de la estructura química de los compuestos presentes en la muestra y permiten obtener una "huella molecular" característica de cada sustancia (Smith & Dent, 2019).

Gracias a esta capacidad de detección molecular altamente específica, esta técnica ha demostrado ser particularmente útil en la identificación de sangre humana en el ámbito forense. Su aplicación se basa en la detección de biomoléculas específicas presentes en la hemoglobina y otros componentes sanguíneos. La hemoglobina es el principal constituyente de los glóbulos rojos y presenta bandas de dispersión Raman características debido a su estructura molecular y a la presencia del grupo hemo, que contiene hierro. Estas señales espectrales permiten diferenciar la sangre humana de otras sustancias y fluidos biológicos (Reese et al., 2021) (George et al., 2022).

En este contexto, la espectroscopía Raman surge como una técnica prometedora para la identificación de sangre en escenas del crimen, gracias a sus múltiples ventajas en comparación con otros métodos tradicionales, lo cual la convierte en una posible herramienta de apoyo muy valiosa en el sistema de derecho y justicia (Chauhan & Sharma, 2023). Su carácter no destructivo permite el análisis de muestras sin alterar su composición química, lo que resulta fundamental cuando se requiere preservar la evidencia para posteriores estudios forenses o pruebas judiciales (Muro et al., 2016) (Khandasammy et al., 2018). Además, su capacidad para proporcionar resultados rápidos y en tiempo real la convierte en una herramienta valiosa para los investigadores, ya que puede facilitar la toma de decisiones en el lugar de los hechos sin necesidad de realizar pruebas invasivas o trasladar muestras a un laboratorio (Bentolila et al., 2017) (Wang et al., 2022).

Otra de las ventajas de esta técnica es su capacidad para analizar muestras deterioradas o contaminadas, lo que la hace especialmente útil en escenarios donde la muestra de sangre ha sido expuesta a condiciones ambientales adversas, como altas temperaturas, humedad, degradación biológica o intentos de limpieza (Rosenblatt et al., 2019). Establecer el intervalo post mortem, así como identificar materiales relacionados con los hechos y ubicar su origen son actividades clave en la investigación del delito (Sosa & Suzuri, 2019). A diferencia de otras técnicas, la espectroscopía Raman puede detectar componentes específicos de la hemoglobina incluso en estados avanzados de descomposición, lo que amplía las posibilidades de recuperación de evidencia (Boyd et al., 2011). Por otro lado, esta técnica ofrece una alta especificidad para la detección de sangre humana, permitiendo diferenciarla de otros fluidos biológicos como sangre animal o sustancias con características químicas similares (McLaughlin et al., 2014). Esto es crucial en la investigación criminal, ya que reduce el riesgo de falsos positivos y contribuye a la precisión en la interpretación de la evidencia (Fujihara et al., 2017) (Kistenev et al., 2023).

Sin embargo, aunque existen estudios dispersos que han reportado resultados alentadores, todavía no se cuenta con una síntesis exhaustiva actualizada que evalúe de manera sistemática las aplicaciones de la espectroscopía Raman, sus ventajas en comparación con métodos convencionales y las limitaciones que enfrentan los peritos forenses al implementarla en la práctica. Por tanto, la presente investigación, permite aportar una visión integrada dentro del campo de las ciencias forenses, las cuales orienten a las futuras líneas de investigación y fomente la adopción de esta tecnología en el ámbito forense, evaluando las aplicaciones de la espectroscopía Raman en la identificación no destructiva de sangre en escenas del crimen. Del mismo modo, los resultados encontrados, podrán impulsar el desarrollo de nuevas metodologías que faciliten la integración de la técnica Raman, en los protocolos forenses de rutina con el objetivo de aumentar la capacidad en detección de otros fluidos biológicos, ampliando su utilidad en el ámbito criminalístico y contribuyendo a la modernización de las técnicas forenses.

## **2. METODOLOGÍA**

### **Estrategia de búsqueda**

Se llevó a cabo una búsqueda bibliográfica exhaustiva de estudios relacionados con la aplicación de la espectroscopía Raman para la identificación no destructiva de sangre en escenas del crimen, publicados entre 2014 y 2025. Para ello, se consultaron las siguientes bases de datos: Scopus, Taylor & Francis, ScienceDirect, Web of Science y Springer, además de Google Scholar para literatura gris.

Se definieron palabras clave en inglés, acordes con los lineamientos forenses y la técnica de espectroscopia Raman, tales como:

“Raman spectroscopy”

“blood detection”

“forensic”  
“blood identification”  
“non-destructive testing”  
“blood analysis”  
“Raman scattering”  
“blood”  
“Vibrational spectroscopy”  
“Kastle-Meyer test”  
“Luminol test”  
“presumptive test”

Para mejorar la recuperación de información, también se probaron combinaciones de dichos términos con operadores booleanos (“AND”, “OR”) y se ajustaron las ecuaciones de búsqueda de acuerdo con las características de cada base de datos.

## **Criterios de Inclusión y Exclusión**

### **Criterios de inclusión:**

- Artículos originales enfocados en la implementación de diferentes técnicas como la espectroscopia de Raman y técnicas tradicionales en la identificación de sangre.
- Estudios publicados en inglés o español, con texto completo disponible.
- Investigaciones que reporten resultados cuantitativos o cualitativos sobre la eficacia, sensibilidad, especificidad o limitaciones de la espectroscopía Raman y diferentes técnicas para la detección de sangre.
- Publicaciones entre 2014 y 2025.

### **Criterios de exclusión:**

- × Revisiones sistemáticas, metaanálisis, tesis, resúmenes de congresos o documentos sin datos empíricos originales.
- × Estudios el cual su objetivo principal no sea la detección de sangre (o fluidos biológicos) en un contexto forense.
- × Artículos duplicados o que no estén disponibles en texto completo.
- × Publicaciones en idiomas distintos al inglés o español.

## **Proceso de Selección de Estudios**

### **Identificación**

Se realizaron las búsquedas en las bases de datos mencionadas (Scopus, Taylor & Francis, ScienceDirect, Web of Science, Springer y Google Scholar). Para facilitar el proceso, se exportaron las referencias y resultados en formatos compatibles con gestores bibliográficos.

### **Cribado**

Se eliminaron los artículos duplicados utilizando Rayyan (o un software de gestión bibliográfica equivalente). Se revisaron los títulos y resúmenes para determinar la relevancia de cada estudio, tomando como base los criterios de inclusión y exclusión.

### **Elegibilidad**

Se procedió a la lectura a texto completo de los artículos preseleccionados, excluyendo los que no cumplieran con los criterios establecidos (por ejemplo, estudios que solo mencionan la espectroscopía Raman de forma tangencial sin aplicar la técnica de manera forense).

## Extracción de Datos

Para organizar la información, se diseñó una hoja de extracción en Microsoft Excel, en donde se registraron las siguientes variables:

- Detalles bibliográficos
- Autores y año de publicación.
- Aspectos metodológicos
- Tipo de muestra (sangre humana, fluidos corporales mixtos, simulaciones de laboratorio, etc.).
- Especificación de la técnica Raman (Raman convencional, SERS, stand-off Raman, etc.).

## Resultados principales

- Técnica utilizada
- Tiempo de análisis
- Ventajas identificadas en la técnica
- Limitaciones identificadas en la técnica (interferencias, contaminaciones, etc.).

## 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 3.1. ANÁLISIS DE INFORMACIÓN Y PRESENTACIÓN DE RESULTADOS

Para la búsqueda se encontró un total de 3.037 artículos encontrados usando los criterios de exclusión e inclusión como fecha, tipo de artículo e idioma, y utilizando las diferentes palabras claves en las diferentes bases de datos como se muestra en la Tabla 1, se seleccionaron 1.984 artículos por título y resumen, en donde se eliminaron 1.656 artículos que se encontraban duplicados por medio del software Rayyan, dando un final de 328 artículos. Aplicando los demás criterios de exclusión o inclusión, se obtuvo 107 artículos para evaluar el texto completo, de los cuales 48 fueron seleccionados para agregar a esta revisión (Fig. 1).

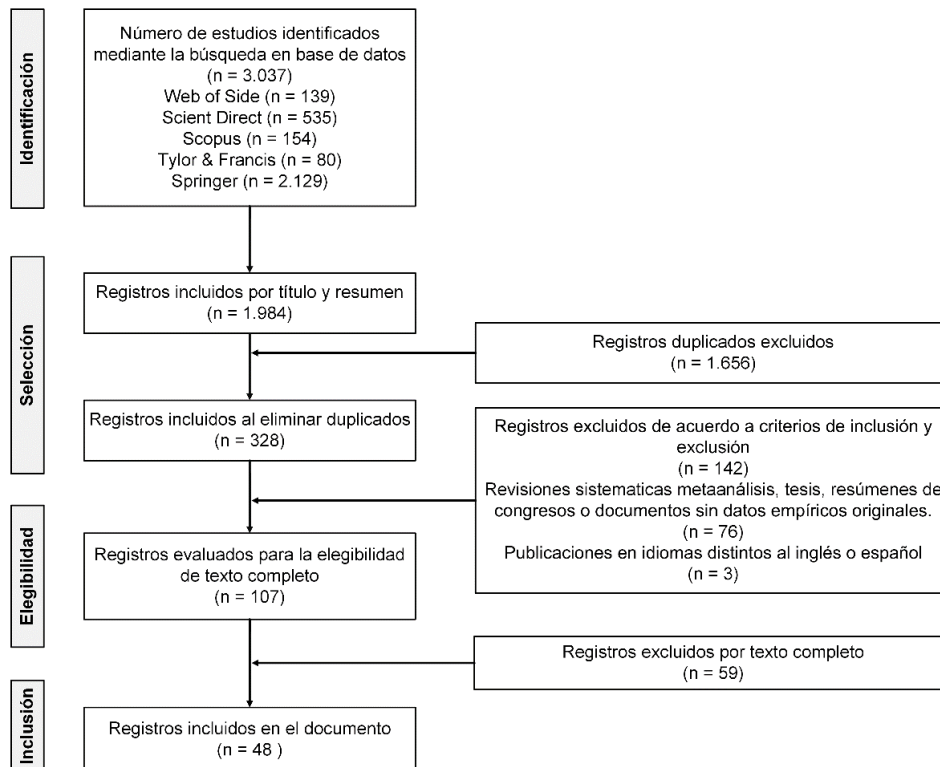


Figura 1. Diagrama de flujo PRISMA sobre el proceso de selección de los diferentes estudios

**Tabla 1.** Número de publicaciones encontradas en las diferentes bases de datos utilizadas.

<b>PALABRAS CLAVES</b>	<b>Web of Side</b>	<b>Scient Direct</b>	<b>Scopus</b>	<b>Tylor &amp; Francis</b>	<b>Springer</b>
("Raman spectroscopy") AND (Forensic) AND (Blood OR "Blood detection")	96	334	50	69	254
("Raman spectroscopy" OR "Raman scattering") AND ("Blood analysis" OR "Blood identification")	36	132	95	9	1.502
("Vibrational spectroscopy" OR "Raman spectroscopy") AND (Forensic ) AND ("Blood analysis" OR "Blood identification")	4	29	7	2	248
("Raman spectroscopy") AND ("Blood analysis" OR "Blood identification") AND (Forensic) AND ("non- destructive")	0	11	1	0	113
("Raman spectroscopy") AND ("Kastle-Meyer test" OR "Luminol test" OR "presumptive test") AND (blood ) AND (Forensic)	3	29	1	0	12
<b>Total</b>			<b>3.037</b>		

De acuerdo con la tabla 1, se evidencia que existe un amplio margen de especificidad de los resultados obtenidos, tomando en consideración las diferentes muestras y/o técnicas convencionales o no convencionales por lo que la técnica por espectroscopía Raman es una técnica analítica poderosa utilizada para estudiar las propiedades moleculares de diferentes materiales. Permitiendo así, la comprobación de fluidos presentes en muestras con potencial de ser insuficientes o descartables especialmente en torno a las escenas de un crimen. Eventualmente, la técnica a través de la dispersión de la luz, incide sobre una muestra, con capacidad de dispersión de manera inelástica, proporcionando una vibración de fotones; basado en este principio, expone como resultado las vibraciones similares a la muestra estudiada, de relevancia dentro de la investigación el comportamiento de la sangre.

A continuación, en la Tabla 2, se presentan los estudios seleccionados en esta revisión sistemática que analizaron la aplicación de diferentes modalidades de espectroscopía Raman para la identificación no destructiva de sangre, diferentes técnicas actuales y métodos tradicionales. También se muestra en la Figura 2 la distribución porcentual de las modalidades de espectroscopía Raman utilizadas, destacándose el predominio del Raman convencional, seguido de enfoques portátiles y mejorados por superficie (SERS), lo cual evidencia la diversidad de estrategias espectroscópicas aplicadas en el ámbito forense.

**Tabla 2.** Estudios seleccionados sobre técnicas de detección de sangre, incluyendo espectroscopía Raman y métodos tradicionales.

AUTOR	AÑO	TIPO DE MUESTRA	TECNICA UTILIZADA	TIEMPO DE ANÁLISIS	LIMITE DE DETECCIÓN	VENTAJAS	LIMITACIONES
(Russell & Amankwaa, 2025)	2025	Sangre humana	Análisis de persistencia de ADN	Recuperación y extracción de ADN: 4–6 horas; análisis completo de PCR hasta 24 horas.	No específica	Demuestra que ADN nuclear todavía puede recuperarse tras exposición ambiental hasta 28 días.  Simula condiciones de escena de crimen realistas en ambientes exteriores.	No evalúa la detección visual de sangre (solo recuperación de ADN).  Factores ambientales aceleran degradación en suelos arenosos más que en algodón.
(Dickler et al., 2024)	2024	Manchas secas de sangre humana y de 18 especies animales	Espectroscopía Raman	~1 s por espectro; cálculo de la razón y decisión < 0,1 s.	No se evalúa en términos de concentración; el método clasifica siempre que el espectro contenga picos de hemoglobina con S/N aceptable ( $\approx > 5$ )	Clasificación 100 % sangre humana vs 18 especies animales.  Algoritmo extremadamente simple basado en dos picos espectrales.	Método sensible a ruido espectral.  No evalúa envejecimiento ni variabilidad ambiental.
(H. Wang et al., 2024)	2024	120 manchas de sangre periférica y menstrual en vidrio	ATR-FTIR	6 s de adquisición	No específica	Acierto externo del 90 %.  Distingue sangre periférica y menstrual hasta 6 semanas.	Solo un rango de temperatura/humedad ambiental evaluado.  Se requiere disolver parcialmente la mancha para análisis.
(Mengual-Pujante et al., 2024)	2024	960 manchas de sangre en ocho superficies	ATR-FTIR	6 s/espectro; modelado $\approx$ 1 min.	No específica	Modelos independientes para superficies rígidas y no rígidas.  Excelente ajuste estadístico (RPD > 3; $R^2 > 0.90$ ).	Procesos de medición largos (múltiples días de adquisición).  Necesita equipamiento de FTIR de laboratorio, no portátil.

(Seki et al., 2024)	2024	Manchas de sangre	Colorimetría espectrofotométrica	<1 min por mancha (disolución 1 %, lectura colorimétrica).	No aplica (método de datación, no detección).	Sistema económico y portátil para estimar el tiempo de depósito de manchas ( $\pm 1$ día de error).  Funciona bajo distintas iluminancias y temperaturas (0–10 000 lux, 10–40 °C).	Método destructivo: requiere disolver la mancha para análisis.  Solo mide parámetros de color, no composición molecular específica.
(Weber et al., 2024)	2024	Manchas de sangre menstrual frescas	Raman	<10 min por mancha (mapeo).	N/A (datación).	Primer modelo específico para el envejecimiento de sangre menstrual. - Error de predicción RMSE $\approx 2$ horas durante el primer día.	Base de datos inicial limitada a 4 donantes. - Las condiciones de humedad relativa no fueron variadas durante la validación.
(Jaremko et al., 2024)	2024	Sangre humana	Sensibilidad de Kastle-Meyer (KM) y Leucomalachite Green (LMG)	~5 minutos tras aplicación de reactivo y observación de coloración.	Sangre diluida hasta 1:5000 en tela; menor en cerámica tras limpieza.	Ambos tests (KM y LMG) detectan sangre hasta diluciones de 1:5000 en telas.  Permite prueba directa en hisopos, simulando condiciones reales de caso forense.	LMG mostró falsos positivos en presencia de lejía.  Detección variable en superficies limpiadas (particularmente en cerámica).
(Bardan et al., 2024)	2024	Sangre humana fresca	HemaTrace® inmunocromatográfica modificada para hemoglobina humana.	~10 minutos por prueba (tiempo de migración estándar de test inmunocromatográfico).	Mejorado respecto a versiones anteriores, detecta hasta diluciones 2.4 veces más bajas.	Nueva versión de las tarjetas mostró ser 2.4 veces más sensible que la anterior.  Permite una identificación más confiable de pequeñas cantidades de sangre.	Mayor susceptibilidad al efecto hook a altas concentraciones de sangre.  Se requiere reevaluación de posibles reacciones cruzadas con otros fluidos.

(Kistenev et al., 2023)	2023	Trazas de sangre seca sobre plástico, cerámica, papel y polvo ambiental.	Raman	5–10 s de adquisición; post-procesado algorítmico 2–3 s	No específica	<p>Elimina interferencias del sustrato sin necesidad de extraer la muestra.</p> <p>Reducción de falsos positivos en escenas contaminadas</p>	<p>Requiere espectros de referencia limpios en aluminio.</p> <p>Algoritmos de procesamiento complejos para interpretación.</p>
(Zhang et al., 2023)	2023	Sangre humana, bovina y porcina	Raman	1 min por espectro.	No específica	<p>Modelos altamente predictivos (<math>R^2 &gt; 0.98</math>) para múltiples condiciones ambientales (11 combinaciones de temperatura y humedad).</p> <p>Identifica claramente cambios clave en hemoglobina (disminución oxyHb, aumento hemicromo) durante el envejecimiento.</p>	<p>Cada ambiente (combinación de T y HR) requiere su calibración específica para máxima precisión.</p> <p>Estudio realizado solo con tres especies (humano, bovino y porcino); falta extensión a más especies o contextos forenses complejos.</p>
(Vajpayee et al., 2023)	2023	Sangre humana seca envejecida	Raman	~15 segundos por espectro; análisis deconvolutivo en 1–2 minutos.	No específica	<p>Identificación precisa de cambios estructurales en hemoglobina durante envejecimiento.</p> <p>Cálculo de índices de envejecimiento Raman (pico 1224/1355 <math>\text{cm}^{-1}</math>).</p>	<p>Solo sangre en vidrio; no validado en textiles u otros sustratos comunes.</p> <p>Escasa consideración de humedad ambiental en los experimentos.</p>
(G. Wang et al., 2022)	2022	Manchas de sangre humana, bovina y ovina en algodón y servilletas	ATR-FTIR	8 s por espectro x 3 réplicas	No específica	<p>Análisis rápido sin necesidad de extraer la muestra.</p> <p>Alta sensibilidad y especificidad en algodón y servilletas.</p>	<p>No se estudió el efecto de la humedad ambiente.</p> <p>Requiere presión adecuada de la sonda ATR.</p>

(P. Wang et al., 2022)	2022	Sangre fresca	SERS (Surface-Enhanced Raman Spectroscopy)	0,5 s/exposición; inferencia CNN 3–5 ms.	No especifica	Espectrómetro compacto y portátil, resolución mejorada.  Acierto en clasificación > 94 %, incluso con especies cercanas.	Requiere uso de nanopartículas de plata o de oro para SERS.  Modelo entrenado principalmente en sangre líquida, no en manchas secas.
(Nichols et al., 2022)	2022	Sangre humana fresca y envejecida	Raman	~10 segundos por espectro + modelado en menos de 1 minuto.	No especifica	Predicción precisa del tiempo de deposición (TSD) con $R^2 > 0.90$ .  Técnica no destructiva, portátil y rápida para estimación de antigüedad de manchas.	Validación limitada a sangre fresca en condiciones controladas de laboratorio (25 °C, HR 40 %).  Precisión disminuye tras 5 días de envejecimiento.
(Matheson et al., 2022)	2022	Sangre humana y de 12 especies animales	Raman portátil	5–10 segundos por espectro + inferencia inmediata (<1 s).	No especifica	Algoritmos SVM permiten clasificación inmediata y alta precisión (>95 %).  Análisis directo sin necesidad de preparación previa ni destrucción de la evidencia.	Rendimiento disminuye en muestras muy contaminadas o envejecidas más de 7 días.  Algoritmos requieren ser reentrenados si se usa diferente equipo o condiciones.
(Verma, 2022)	2022	Sangre humana y varias sustancias similares (óxido de hierro, zumo de remolacha, pintura roja) sobre vidrio y algodón.	Raman portátil	5–10 segundos por espectro; clasificación instantánea ( $\leq 1$ segundo).	No especifica	Discrimina sangre real frente a imitadores visuales comunes con alta precisión (>95 %).  Método no destructivo aplicable directamente en la escena.	Clasificación afectada si la sangre está mezclada con contaminantes externos fuertes.  Dependencia de librerías espectrales completas para identificación automática.

(Tsai et al., 2022)	2022	Sangre humana seca y envejecida	Raman	~5 segundos por espectro + inferencia en ~1 segundo.	No específica	<p>Transfer Learning mejora la precisión de clasificación en conjuntos de datos pequeños.</p> <p>Permite la identificación de sangre con alta precisión incluso sobre fondos textiles complejos.</p>	<p>Dependencia de bases de datos bien curadas para entrenamiento inicial.</p> <p>Clasificación menos precisa en muestras altamente fluorescentes o contaminadas.</p>
(Reese et al., 2021)	2021	Sangre humana periférica y sangre animal (7 especies)	SERS (Surface-Enhanced Raman Scattering)	~5 min (1 min extracción, ≤4 min adquisición espectral).	Manchas diluidas $10^{-5}$ (v/v) con señal-a-ruido ≥3.	<p>Detección sensible y específica de sangre humana vs sangre animal.</p> <p>El método elimina interferencias del sustrato gracias a hisopado químico selectivo.</p>	<p>Requiere preparación de nanopartículas de oro y extracción química controlada.</p> <p>Aplicación menos directa en escenarios de alta contaminación ambiental.</p>
(Weber et al., 2021)	2021	Sangre periférica y menstrual	Fluorescencia	Segundos por lectura.	Equivalente a dilución 1:104 para NADH.	<p>Permite seguir las cinéticas específicas de degradación de moléculas endógenas en sangre.</p> <p>Técnica no destructiva, rápida y aplicable en laboratorio de fluorescencia.</p>	<p>Útil solo en las primeras 24 horas tras la deposición de la mancha.</p> <p>Requiere espectrómetro de fluorescencia de estado estacionario especializado.</p>
(Indalecio-Céspedes et al., 2021)	2021	Sangre humana fresca y envejecida sobre diversas superficies (azulejos, alfombra, madera, textiles).	Luminol y fuentes de luz alternativa (ALS)	~5 minutos por área de búsqueda.	No específica	<p>Luminol demostró ser más sensible que las fuentes de luz forense tradicionales.</p> <p>Detecta manchas de sangre oculta en condiciones reales de escena (pintura,</p>	<p>Alta tasa de falsos positivos con hipoclorito de sodio (lejía).</p> <p>ALS muestra baja sensibilidad para sangre envejecida.</p>

						productos de limpieza).	
(Casali et al., 2020)	2020	Diluciones de sangre animal (1:4 – 1:65 536) depositadas en filtros, algodón y vidrio.	Kastle–Meyer (KM) y Hemastix (HX)	10–15 s hasta aparición del color + ≤ 1 min para confirmar visualmente; manipulación previa prácticamente nula.	Se define como la mayor dilución que aún produce un viraje cromático inequívoco. KM: 1 : 16 384 (ensayo directo). HX: 1 : 64 (ensayo por frotado sobre superficie porosa).	Hemastix permite usar el mismo hisopo para análisis de ADN.  Mayor sensibilidad para manchas en sustratos porosos.  Define protocolo comparativo estándar entre tests.	Hemastix produce falsos positivos frecuentes (alimentos, óxidos).  KM-direct puede inhibir la PCR a altas diluciones.  Solo se evalúa sangre animal, no sangre humana.
(Kumar et al., 2020)	2020	Sangre humana	ATR-FTIR	8 s por espectro; procesado estadístico < 1 min.	No especifica	Permite estimar la edad de las manchas con error ±3–4 días.  Primer estudio comparativo entre tres modelos matemáticos.	Solo se estudió a 25 °C (sin variación de humedad).  Pequeño número de muestras (n = 5 donantes)
(Menzyk et al., 2020)	2020	Sangre humana	Raman	30 s de rotación continua para un espectro promedio; análisis 2 s.	No especifica	Evita daños por láser al mover constantemente la muestra.  Mejora la separación temporal (TSD) en sangre envejecida	Necesita construcción especial de plataforma giratoria.  Estudio limitado a 21 días de envejecimiento.
(Vyas et al., 2020)	2020	Sangre humana seca depositada en vidrio, tela y madera.	Raman convencional y Raman mejorado por superficie (SERS)	~5–10 segundos por espectro.	Sangre diluida hasta 1:10 000 (SERS); mínimo volumen de detección ~0.1 µL.	SERS aumenta la sensibilidad de Raman hasta 10 <sup>4</sup> veces, permitiendo detección de trazas muy pequeñas.  Discriminación de sangre en superficies absorbentes como algodón o madera.	Variabilidad alta en la respuesta de SERS debido a la heterogeneidad de los sustratos metálicos.  SERS requiere preparación previa del sustrato con nanopartículas.

(Saito et al., 2020)	2020	Sangre humana fresca y envejecida	Raman	~20 segundos por espectro; clasificación en ~5 segundos.	No especifica	Permite discriminar sangre real de interferentes (óxidos, pinturas) incluso en superficies heterogéneas.  No requiere pretratamiento ni extracción química de la muestra.	La clasificación depende de la calidad del preprocesado espectral.  Requiere bases de datos espectrales específicas para cada tipo de sustrato.
(Fujihara et al., 2019)	2019	Sangre de 5 donantes infantiles (< 1 a) y 5 adultos	Micro-Raman (láser 632,8 nm) de alta resolución	10 espectros × 10 s	No especifica	Identifica presencia/ausencia de histidina (pico 1105 cm <sup>-1</sup> ).  Técnica no destructiva y de alta resolución espacial.	Estudio preliminar con solo 5 muestras por grupo.  Falta validación externa amplia.
(Huang et al., 2019)	2019	Sangre de 20 especies	Raman + CNN (Convolutional Neural Network) 1-D.	0,5 – 1 s por espectro; inferencia de la CNN ≈ 5 ms.	No especifica	Más del 97 % de precisión en clasificación ciega.  Red neuronal robusta frente a ruido espectral.	Necesidad de grandes bases de datos para entrenamiento.  No probado en espectros de muestras contaminadas.
(Rosenblatt et al., 2019)	2019	Sangre periférica seca	Raman	30 s por espectro; <10 min con pre-procesado.	N/A estudio cualitativo	Clasifica sangre frente a 24 tipos de interferentes ambientales sin falsos positivos (>70 % certeza).  Fortalece la especificidad del Raman en campo forense real.	Entrenamiento inicial del modelo requiere librerías espectrales muy extensas.  Clasificación sensible a variaciones sutiles en condiciones de medición.

(Takamura et al., 2019)	2019	Manchas de sangre humana	Raman	~1 min por espectro.	No especifica	Establece un índice de envejecimiento de sangre independiente de la temperatura.	Se requiere series espectrales largas bajo condiciones controladas (días o semanas). El modelo está validado solo para superficies plásticas.
(Howard et al., 2019)	2019	Sangre humana seca	TMB, Luminol, Bluestar Magnum, Hematrace, RSID-Blood	~5 minutos por prueba química, dependiendo del reactivo usado.	No especifica	RSID-Blood demostró ser robusto incluso después del lavado con percarbonato.  Luminol retuvo sensibilidad parcial, dependiendo de la temperatura de lavado.	TMB, Bluestar y Hematrace fallaron tras exposición a detergentes con percarbonato.  Riesgo de falsos negativos significativos en evidencia lavada.
(Doty & Lednev, 2018b)	2018	Sangre de 49 donantes humanos y 129 animales de 16 especies; manchas secas	Raman	30 s de adquisición por punto	No especifica; se requiere señal clara de hemoglobina (picos 1 550–1 640 $\text{cm}^{-1}$ ).	Alta sensibilidad (1.00) y especificidad (0.93).  AUC de validación cruzada ~0.99.	Evaluado solo en seis especies animales.  No considera envejecimiento de las muestras ni diferentes superficies.
(Doty & Lednev, 2018a)	2018	Sangre de recién nacidos, adolescentes (11–13 a) y adultos (43–68 a); gotas secas.	Raman	10 acumulaciones de 10 s	No especifica	Permite estimar grupo etario de la sangre.  Alta sensibilidad y especificidad ( $\geq 0.96$ ).	Tamaño de muestra pequeño ( $n = 3$ grupos).  Requiere múltiples espectros (~50) para buena clasificación.

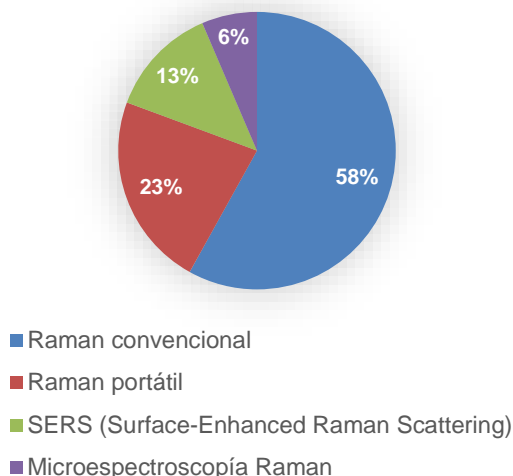
(Polacco et al., 2018)	2018	Sangre ovina fresca y seca	Luminol (Weber) + luminómetro	Primer pico a los $\approx 8$ s; semivida lumínica 12–25 s; curva completa 3 min	Señal > basal en dilución 1 : 1 000 000 (0,1 $\mu$ L en 100 mL) bajo oscuridad controlada.	Medición objetiva de la intensidad de luminiscencia (RLU) cada 4 segundos.  Permite construir curvas de degradación cinética para diferentes diluciones.	Estudio realizado solo con sangre de oveja (no humana).  Luminol degrada la muestra, impidiendo análisis genético posterior
(Khandasammy et al., 2018)	2018	Sangre humana	Raman (convencional, SERS, DUV-Raman, SORS)	Variable según técnica específica.	No específica	Revisión exhaustiva de estrategias emergentes para la detección de sangre no destructiva.  Destaca el potencial de Raman-SERS para analizar fluidos a nivel de trazas.	Muchas técnicas revisadas aún no validadas plenamente en condiciones de campo.  La reproducibilidad de SERS depende de la calidad y estabilidad de los sustratos metálicos.
(Brenzini & Pathak, 2018)	2018	Sangre humana seca depositada sobre cerámica, pintada posteriormente	Luminol	Aplicación y lectura en menos de 5 minutos.	No reportado cuantitativamente; evaluación cualitativa de luminiscencia residual.	Permite la detección de manchas invisibles tras lavados parciales.  Diferencia eficacia de métodos de limpieza (agua, jabón, lejía, solventes).	Reducción significativa de luminiscencia en superficies tratadas con pintura solvente o lejía.  No preserva ADN ni composición bioquímica original.
(Cassidy et al., 2017)	2017	Manchas latentes de sangre humana	Luminol	15 s de pulverización + 60 s de filmación; procesado digital < 1 min	Se define como la dilución cuya intensidad lumínica es $\geq 3 \times$ desviación estándar del ruido de fondo. Valor medio $\sim 1 : 200\ 000$ .	Controla tiempo y variables de emisión de luminiscencia.  Define estadísticamente el límite de detección ( $\sim 1:200\ 000$ ).	El luminol destruye la muestra.  Solo se evalúa en algodón y con un solo tipo de formulación de luminol.

(Muro & Lednev, 2017)	2017	Eritrocitos individuales aislados de sangre	Microscopía Raman	30 s/exposición; predicción instantánea	1 célula roja → 5000 × menos volumen que el mínimo para STR-DNA (≈ 300 pL); se corrige por S/N	Límite de detección extremo: un solo glóbulo rojo (~10 fg Hb).  Clasificación correcta de sangre periférica a nivel celular	Necesidad de microscopía Raman de alta precisión.  Mapeo espectral extenso para obtener un espectro promedio fiable.
(Nagesh & Ghosh, 2017)	2017	Sangre en panel yeso, madera y metal	Pulverizado de luminol estándar (Weber) + fotografía de quimioluminiscencia.	Brillo máximo a los 5–10 s tras la aplicación; visible ≥ 30 s.	No dilucional; evalúa visibilidad fenotípica bajo pintura; señal desaparece >3 capas.	Permite visualizar manchas ocultas bajo hasta 3 capas de pintura.  Procedimiento sencillo y reproducible.	El luminol degrada el ADN, comprometiendo la evidencia genética.  Evaluado solo hasta 50 días de ocultamiento.
(Sikirzhitskaya et al., 2017)	2017	Manchas de sangre periférica humana	Raman	20–30 s por punto, mapeo total ≈ 5 min.	No específica	Discriminación masculino/femenino con 98 % de acierto usando sangre seca.  Basado en diferencias sutiles de proteínas y lípidos.	Requiere múltiples puntos de medición para generar modelos robustos.  No evaluado en manchas envejecidas ni contaminadas.
(Sloots et al., 2017)	2017	Sangre en hisopos	Kastle-Meyer-rub; cuantificación de ADN (qPCR) y STR	Prueba cromática <30 s; extracción ADN estándar.	Se recupera perfil completo hasta 10 µL 1:100	Demuestra que el reactivo NaOH del test KM destruye el ADN, impactando perfiles genéticos.  Propuesta de KM-rub para preservar ADN mientras se detecta sangre.	Método tradicional (KM-direct) es altamente destructivo para muestras forenses genéticas.  Evaluaciones limitadas a sangre diluida 1:100 en hisopos, no en superficies reales de crimen.

(Bentolila et al., 2017)	2017	Sangre humana depositada en huellas dactilares	Espectrofotometría UV-Vis portátil	~2 minutos por huella (lectura espectral inmediata).	No cuantificado; detección cualitativa visible.	No destructivo; permite visualizar huellas contaminadas sin necesidad de químicos adicionales.  Método rápido aplicable en la escena del crimen.	No diferencia sangre humana de animal.  Depende de la correcta interpretación del espectro UV-Vis.
(Fujihara et al., 2017)	2017	Sangre humana y sangre de 10 especies animales	Raman	~10–20 segundos por espectro.	No específica	Técnica rápida, portátil y no destructiva.  Discrimina eficazmente entre sangre humana y de otras especies, incluso tras envejecimiento prolongado.	Solapamiento parcial de espectros en ciertas especies (ej. perro y cerdo).  Necesidad de entrenamiento estadístico para interpretar el PCA.
(Barros et al., 2017)	2017	Sangre humana seca en superficies porosas, semiporosas y no porosas de distintos colores.	Tinción fluorescente de benzazoles	~5 minutos por superficie tras aplicación y secado de la tinción.	No específica	Alta estabilidad fotoquímica; no interfiere con análisis genético posterior.  Excelente contraste en superficies oscuras y multicolores.	Aplicable solo con luz ultravioleta de 365 nm.  No específica para sangre: puede teñir residuos proteicos similares.
(Muro et al., 2016)	2016	Sangre humana seca	Raman	~15 segundos por espectro + procesamiento multivariado (~30 segundos).	No específica	Alta especificidad para distinguir entre distintos fluidos biológicos secos.  Clasificación correcta de sangre en más del 95 % de los casos.	Alta sensibilidad a fluorescencia de fondo en textiles y maderas oscuras.  Necesidad de múltiples espectros para robustez (>10 espectros por muestra).

(Mistek et al., 2016)	2016	Sangre seca	Raman	10 acum. x 10 s = 100 s; clasificación < 0,5 s.	No específica	Modelo logra AUC de 0.83 en discriminación de grupos raciales.  Técnica no destructiva y rápida.	Alta variabilidad intraespecífica (individual).  Solo estudia dos grupos étnicos, limitado para poblaciones mixtas.
(De Vittori et al., 2016)	2016	Sangre humana	Combur3 Test® E basado en tetrametilbencidina (TMB)	~2-3 minutos por muestra.	No específica	Alta sensibilidad para detectar sangre extremadamente diluida.  Formato sencillo de un solo paso, portable para uso en campo.	Falsos positivos posibles con peroxidasas vegetales y agentes oxidantes.  Interferencia potencial en recuperación de ADN en sangre muy diluida.
(Li et al., 2014)	2014	Sangre humana fresca y seca	HSI-VIS (Hyperspectral Imaging en 400-720 nm)	Barrido completo 30 longitudes x 0,5 s ≈ 15 s; reconstrucción espectral < 1 min.	Dilución detectable 1 : 512 en papel blanco y 1 : 32 en tela roja; criterio: relación señal-sangre > 3xruído.	Permite identificar sangre sobre fondos de color sin contacto químico.  Detecta manchas diluidas hasta 1:512 en papel blanco.	Equipos de captura (LCTF + CMOS) son costosos.  No logra buena penetración en tejidos gruesos (>20 μm).
(McLaughlin et al., 2014)	2014	Sangre seca de 11 especies + humano	Raman	1 s/exposición x 10 acum. ≈ 10 s; clasificación < 1 s	No específica	Alta precisión (99 %) en la identificación entre humano y 11 especies animales.  Modelo multinivel robusto contra variabilidad individual.	Requiere bases de datos espectrales extensas.  No se analiza el envejecimiento de la muestra.

## Modalidades de espectroscopía Raman utilizadas



**Figura 2.** Distribución porcentual de las técnicas de espectroscopía Raman aplicadas en estudios forenses de identificación de sangre

### 3.2.1. Estudios de aplicaciones de la espectroscopía Raman en la identificación de sangre en escenas del crimen

Los diferentes artículos confirman que la espectroscopía Raman se ha convertido en una herramienta versátil y cada vez más robusta para la identificación, caracterización y contextualización de sangre en escenarios forenses reales. Casali et al. (2020) implementaron la detección stand-off a 1064 nm hasta dos metros de la muestra, minimizando fluorescencia y, sobre todo, evitando el contacto directo con la evidencia; sin embargo, reconocieron la necesidad de altas potencias láser y de condiciones ambientales estables para mantener la relación señal-ruido. Por otro lado, Dickler et al. (2024) demostraron que el cociente de intensidades entre  $1003\text{ cm}^{-1}$  (fenilalanina) y  $1341\text{ cm}^{-1}$  (modos proteicos) permite clasificar con el 100 % de acierto la sangre humana frente a la de 18 especies animales sobre vidrio y algodón, incluso tras siete días de envejecimiento, aunque los propios autores advierten que un cociente único podría ser vulnerable a variaciones instrumentales y a contaminantes no considerados.

La capacidad de obtener datos adicionales relacionados con el individuo del cual provenía la sangre fue demostrada por Doty y Lednev (2018a), quienes, con un láser de 785 nm y modelos SVM, discriminaron tres grupos etarios (recién nacidos, adolescentes y adultos) con sensibilidad y especificidad  $> 96\%$ ; su hallazgo de firmas espectrales distintivas de la hemoglobina fetal sugiere que la edad biológica puede inferirse de forma no invasiva. En su otro estudio del mismo año (2018b) estos autores emplearon PLS-DA para separar sangre humana de seis especies animales habituales en escena (perro, cerdo, vaca, oveja, caballo y pollo), alcanzando sensibilidad 1, especificidad 0,93 y AUC 0,99, aunque con espectros de  $\leq 48\text{ h}$  y sin contaminantes ambientales. Fujihara et al. (2017) reforzaron el enfoque in situ usando un equipo portátil para diferenciar sangre humana de 10 especies animales tras tres meses de envejecimiento, valiéndose de PCA para separar las firmas hemoglobínicas aun cuando la oxidación modificaba ciertos picos; dos años después, los mismos autores Fujihara et al. (2019) recurrieron a micro-Raman 632,8 nm y mostraron que la banda de  $1105\text{ cm}^{-1}$  (histidina) discrimina sangre infantil y adulta pese al pequeño  $n = 5$ .

La confluencia de Raman con inteligencia artificial ha impulsado la clasificación automática de gran escala: Huang et al. (2019) integraron redes neuronales convolucionales (CNN-1D) para distinguir sangre de 20 especies con precisión  $> 97\%$ , sin preprocesar los espectros; P. Wang et al. (2022) amplificaron la sensibilidad mediante SERS-Echelle y CNN, identificando sangre de 26 especies próximas filogenéticamente con  $> 94\%$  de acierto; y Tsai et al. (2022) aplicaron transfer learning para adaptar una CNN pre-entrenada a la detección de sangre en textiles, manteniendo precisión  $> 95\%$  frente a variaciones de color y textura. Kistenev et al. (2023) se centraron en la limpieza de señales contaminadas: la combinación de RSC y MCR-AD aisló espectros de hemoglobina depositada

sobre aluminio, papel o madera, subrayando que la calidad del procesamiento es tan crucial como el hardware. Rosenblatt et al. (2019), con un modelo Random Forest entrenado sobre > 1200 espectros, confirmaron que el aprendizaje automático puede sostener tasas de acierto > 85 % aun mezclando la sangre con tierra, pintura o residuos orgánicos, aunque la precisión disminuyó en mezclas muy degradadas.

El envejecimiento de la sangre y su datación espectroscópica han recibido atención constante. Nichols et al. (2022) aplicaron PLS-R a manchas de 0–7 días y obtuvieron  $R^2 > 0,90$  bajo 25 °C y 40 % HR; Vajpayee et al. (2023) introdujeron un índice 1224/1355  $\text{cm}^{-1}$  fiable en las primeras 72 h; Takamura et al (2019) modelaron la cinética de oxidación hemoglobínica (1547→1375  $\text{cm}^{-1}$ ) y evidenciaron independencia relativa frente a cambios térmicos moderados; y Zhang et al. (2023) combinaron SVR y CNN para predecir el tiempo de deposición en rangos 4–40 °C y 20–80 % HR con  $R^2 > 0.98$ , mostrando que cada condición ambiental requiere su propia calibración. Por su parte, Menzyk et al. (2020) recordaron que la degradación fototérmica inducida por el láser modifica la cinética: su plataforma rotatoria preserva la muestra y estabiliza las mediciones, aunque sigue sin portabilizarse.

Varias investigaciones abordaron interferentes y falsos positivos. Reese et al. (2021) emplearon SERS-Au para distinguir sangre de óxidos de hierro, jugo de remolacha o pintura roja; Verma (2022) consiguió > 95 % de precisión sobre algodón y madera tras normalización y corrección de fondo; y Vyas et al. (2020) evidenciaron que SERS multiplica la sensibilidad hasta  $10^4$  veces, detectando diluciones 1:10000, aunque el paso destructivo de nanopartículas y su escasa reproducibilidad siguen siendo inconvenientes. Matheson et al. (2022) mostraron que un Raman portátil a 785 nm, asistido por SVM, supera el 95 % de exactitud frente a 12 especies animales en superficies reales, pero la precisión cae con manchas > 7 días o cargadas de polvo y detergente. Saito et al. (2020) añadieron t-SNE a esa estrategia y alcanzaron > 90 % de acierto sobre madera, cemento y textiles contaminados, destacando la importancia de calibraciones iniciales sólidas.

El potencial de Raman para inferir atributos biológicos complementarios ha ido más allá de la edad. Sikirzhyskaya et al. (2017) lograron predecir el sexo a partir de la sangre analizada mediante una red neuronal genética (GA-ANN) con una precisión superior al 95 %, identificando diferencias en perfiles lipídicos y proteicos. Mistek et al. (2016) exploraron diferencias raciales entre caucásicos y afroamericanos con SVM (AUC 0,83), aunque con n pequeño y factores confusores no controlados; Muro y Lednev (2017) llegaron al nivel de eritrocitos individuales, estableciendo un límite de detección ultrabajo útil cuando sólo quedan trazas hemáticas; Muro et al. (2016) ampliaron la diferenciación a saliva y semen, logrando > 95 % de acierto mediante PLS-DA pese a la fluorescencia de textiles oscuros. Weber et al. (2024) demostraron que el fluido menstrual envejece con una cinética espectral distinta a la sangre periférica, exigiendo modelos específicos para delitos sexuales.

Por último, varios estudios recalcan los obstáculos aún pendientes. La fluorescencia de los sustratos (Casali et al, 2020) (Verma, 2022), la dependencia de espectros de referencia limpios (Kistenev et al., 2023), la pérdida de precisión tras una semana de exposición ambiental (Matheson et al., 2022) y la variabilidad inter-lote de nanopartículas metálicas en SERS (Reese et al., 2021) (Vyas et al., 2020) limitan la estandarización. Los autores coinciden en que la miniaturización de equipos, la integración de láseres 785/1064 nm con filtros adaptativos y la expansión de bases de datos multientorno alimentadas por IA son pasos esenciales para consolidar la aplicación rutinaria de Raman.

### **3.2.2. Principales ventajas y limitaciones asociados con su implementación en el ámbito forense para la identificación de sangre**

Uno de los principales ventajas evidenciadas es la capacidad de identificación no destructiva, Casali et al. (2020) lograron detectar sangre a distancia utilizando un sistema stand-off a 1064 nm, evitando el contacto físico que podría contaminar o degradar la evidencia, en este estudio, los autores demostraron que, a una distancia de hasta 2 metros, los picos característicos de la hemoglobina, como los correspondientes a los modos vibracionales del grupo porfirínico (1520  $\text{cm}^{-1}$ ), podían ser detectados claramente, incluso en superficies como telas o metales; esta modalidad resalta el valor de Raman en la preservación de la escena del crimen. Otro aspecto relevante es la alta especificidad química. Dickler et al. (2024) propusieron un método basado en la relación de intensidades de los picos a 1003 y 1341  $\text{cm}^{-1}$ , correspondientes a la fenilalanina y estructuras proteicas, respectivamente. Su modelo no solo logró una clasificación del 100 % de sangre humana frente a 18 especies animales, sino que, además, el análisis se aplicó tanto a muestras frescas como envejecidas hasta 7 días, y sobre diferentes sustratos (vidrio y algodón), demostrando robustez en condiciones de campo controlado.

Por su parte, Doty y Lednev (2018a) desarrollaron un enfoque pionero utilizando máquinas de vectores soporte (SVM) para inferir la edad biológica a partir de las propiedades espectrales de la sangre seca analizada. Analizaron muestras de recién nacidos, adolescentes y adultos, logrando una sensibilidad y especificidad superior al 96 %, gracias a las diferencias detectadas en la composición espectral de la hemoglobina fetal en los recién nacidos. Este hallazgo sugiere que Raman puede extraer información contextual del donante más allá de la mera presencia del fluido. Estos mismos autores Doty y Lednev (2018b) y McLaughlin et al. (2014) en relación a la capacidad de diferenciación entre especies, demostraron que modelos basados en PLS-DA permiten separar con precisión espectros de sangre humana frente a los de animales domésticos y de granja, alcanzando áreas bajo la curva (AUC) superiores a 0,99. En ambos estudios, las diferencias químicas específicas en proteínas hemo y aminoácidos fueron las principales responsables de la discriminación espectral.

El envejecimiento de la sangre también ha sido explorado, Fujihara et al. (2017) utilizaron espectroscopía Raman portátil para distinguir sangre humana de 10 especies animales incluso tras tres meses de envejecimiento, emplearon PCA para analizar los espectros y detectaron que, aunque algunas bandas asociadas a la hemoglobina se desplazaban debido a oxidaciones progresivas, la separación estadística seguía siendo clara. Además, Fujihara et al. (2019) observaron, mediante micro-Raman 632,8 nm, que la banda de  $1105\text{ cm}^{-1}$  (histidina) se expresaba de manera diferenciada entre sangre infantil y adulta, consolidando el uso de biomarcadores específicos. Una innovación crítica es la aplicación de inteligencia artificial para mejorar la clasificación y predicción. Huang et al. (2019) entrenaron redes neuronales convolucionales (CNN) sobre espectros sin preprocesar, logrando una precisión de clasificación superior al 97 % para sangre de 20 especies. A su vez, P. Wang et al. (2022) integraron espectroscopía Raman Echelle con SERS y CNN, detectando sangre diluida en matrices ambientales complejas, manteniendo tasas de identificación  $>94\%$  incluso entre especies filogenéticamente cercanas.

La estimación del tiempo de deposición (TSD) ha sido otro avance realizado por Nichols et al. (2022) que aplicaron regresión PLS a muestras envejecidas de 0 a 7 días, obteniendo un  $R^2$  superior a 0,90, apoyados en biomarcadores oxidativos de hemoglobina. Takamura et al. (2019) modelaron cinéticamente la transformación de la hemoglobina ( $1547\text{ cm}^{-1}$  hacia  $1375\text{ cm}^{-1}$ ), estableciendo curvas reproducibles de envejecimiento. Complementariamente, Vajpayee et al. (2023) diseñaron un índice espectroscópico (picos  $1224/1355\text{ cm}^{-1}$ ) útil para datar sangre seca en vidrio en las primeras 72 horas.

A pesar de estos avances, se identifican limitaciones importantes. Un problema recurrente es la fluorescencia de fondo, especialmente en sustratos como maderas o textiles coloreados (Verma, 2022) (Saito et al., 2020). Aunque el uso de láseres de 1064 nm Casali et al. (2020) mitiga parcialmente este problema, implica utilizar sistemas más costosos y menos manejables en campo. Otro obstáculo es la sensibilidad ambiental. Matheson et al. (2022) mostraron que la degradación espectral por exposición ambiental disminuye la precisión de los modelos de clasificación tras siete días. Zhang et al. (2023) establecieron que las variables temperatura y humedad afectan significativamente la cinética de envejecimiento espectral de la sangre, requiriendo calibraciones específicas para cada escenario.

La contaminación superficial representa otra amenaza crítica. Rosenblatt et al. (2019) demostraron que, si bien Random Forest mejora la clasificación bajo presencia de tierra o pintura, el rendimiento del modelo cae al mezclarse sangre con materia orgánica en descomposición. Reese et al. (2021) abordaron este problema utilizando SERS, diferenciando sangre de interferentes como óxido de hierro y jugo de remolacha, pero a costa de un paso químico destructivo para la muestra. En términos de portabilidad, aunque equipos compactos como los usados por Tsai et al. (2022) permiten análisis rápidos en textiles mediante transfer learning, aún persisten desafíos en autonomía energética y resistencia a la humedad. Igualmente, el uso de nanopartículas metálicas en SERS (Vyas et al., 2020) (Reese et al., 2021) aumenta la sensibilidad entre 1000 y 10000 veces, pero añade complejidad técnica y riesgos de contaminación cruzada. Finalmente, existe una carencia de bases de datos espectrales universales. Huang et al. (2019) y Polacco et al. (2018) enfatizan que la mayoría de los modelos de clasificación y predicción se basan en conjuntos de entrenamiento limitados, lo que compromete la extrapolación a escenarios no representados en el entrenamiento inicial.

En conclusión, la espectroscopía Raman ofrece ventajas críticas en la identificación de sangre en escenarios forenses, destacándose por su especificidad molecular, su naturaleza no destructiva y su creciente integración con inteligencia artificial. Sin embargo, sus limitaciones operativas y ambientales, la necesidad de estandarización

metodológica y la dependencia de bases de datos robustas deben ser abordadas para garantizar su adopción masiva como herramienta de rutina en el análisis de escenas de crimen.

### 3.2.3. Comparación de la espectroscopía Raman frente a técnicas de detección de sangre tradicionales

La espectroscopía Raman y los métodos tradicionales para la identificación de sangre, como las pruebas de luminol, Kastle-Meyer y fluoresceína, revela diferencias profundas en cuanto a sensibilidad, especificidad, preservación de la evidencia, facilidad de uso y confiabilidad bajo condiciones de escena, en cuanto a la naturaleza no destructiva, uno de los atributos principales de Raman, Casali et al. (2020) demostraron que mediante un sistema stand-off operando a 1064 nm fue posible detectar sangre hasta a dos metros de distancia sin contacto físico, evitando la alteración de la muestra, una ventaja clave frente a pruebas químicas como luminol, que implican la rociadura de reactivos sobre la evidencia, en sus resultados experimentales, Casali et al. (2020) reportó una clara identificación de los picos vibracionales de hemoglobina en manchas secas depositadas sobre diferentes superficies, evidenciando que el método no altera ni la estructura molecular ni la integridad de la muestra. Por otro lado, Li et al. (2014) señalaron que las pruebas con luminol tienden a degradar químicamente las manchas de sangre al reaccionar con el hierro de la hemoglobina para producir quimioluminiscencia, afectando la posibilidad de realizar análisis de ADN posteriores; en este mismo estudio, se evidenció que, aunque el luminol era altamente sensible, presentaba falsos positivos frente a óxidos de hierro y algunas plantas.

Respecto a la especificidad, Verma (2022) llevó a cabo un estudio en el que aplicó espectroscopía Raman portátil a manchas de sangre humana y a falsos positivos comunes como pintura roja, jugo de remolacha y óxidos metálicos. Los resultados mostraron que Raman, mediante el análisis de picos vibracionales específicos (como 754, 1224 y 1547  $\text{cm}^{-1}$  asociados a la hemoglobina), discriminó de manera confiable entre sangre verdadera y estos imitadores, logrando una precisión de clasificación superior al 95 %. En cambio, los métodos tradicionales como Bluestar reaccionaban positivamente ante todos los materiales mencionados, poniendo en riesgo la interpretación de la escena. Howard et al. (2019) compararon de manera operativa el uso de luminol, fluoresceína y Raman portátil en condiciones de campo simulado. Mientras que luminol y fluoresceína lograban revelar sangre diluida en proporciones mayores (1:100 000), Raman mostró capacidad de detección sin necesidad de manipular las evidencias. No obstante, señalaron que Raman requería mayor tiempo de adquisición (entre 30 segundos y 2 minutos por espectro) frente a la inmediatez de la reacción química luminiscente. Además, reportaron que, en escenas contaminadas con tierra o detergentes, el luminol generaba altos índices de falsos positivos, mientras que Raman, aunque más específico, necesitaba condiciones de iluminación controladas para un óptimo desempeño.

En el estudio de Sloots et al. (2017), donde se evaluó la especificidad de luminol y fluoresceína en presencia de contaminantes como moho, pintura vieja y tierra, se encontró que ambos tests daban respuestas positivas falsas en más del 25 % de los ensayos. Estos resultados ponen de manifiesto la desventaja crítica de los métodos tradicionales en escenas complejas, donde materiales ambientales pueden inducir errores significativos.

La capacidad de diferenciación entre sangre humana y sangre animal es otra ventaja de la espectroscopía Raman frente a las técnicas tradicionales. Doty y Lednev (2018b) desarrollaron un modelo de análisis discriminante por mínimos cuadrados parciales (PLS-DA) que permitió diferenciar sangre humana de seis especies animales (perro, cerdo, vaca, oveja, caballo y pollo) con una sensibilidad de 1,00 y especificidad de 0,93, utilizando espectros Raman de muestras secas. En cambio, métodos tradicionales como el luminol o el test de Kastle-Meyer no distinguen la especie de origen, reaccionando positivamente ante cualquier fuente de hemoglobina Li et al. (2014).

En cuanto a la detección en muestras envejecidas, Nichols et al. (2022) demostraron que mediante espectroscopía Raman portátil y regresión parcial de mínimos cuadrados (PLS-R), era posible estimar el tiempo de deposición de manchas de sangre humana seca entre 0 y 7 días con un coeficiente de determinación ( $R^2$ ) superior a 0,90. Esto representa una ventaja notable frente a luminol o fluoresceína, que solo revelan la presencia de sangre, pero no permiten inferir su antigüedad.

Respecto a la portabilidad y facilidad de uso, los métodos tradicionales aún dominan debido a su simplicidad operativa. Russell y Amankwaa (2025) señalaron que kits de luminol o fluoresceína son económicos, fáciles de transportar y de aplicar en cuestión de segundos, sin necesidad de entrenamiento especializado. Sin embargo,

también resaltaron que, en investigaciones sensibles, la alta tasa de falsos positivos de estos métodos tradicionales puede comprometer la interpretación correcta de los hallazgos.

Weber et al. (2024), trabajaron específicamente en la diferenciación de sangre menstrual y periférica mediante espectroscopía Raman, logrando identificar patrones espectrales diferenciados debido a componentes lipídicos y endometriales presentes en el fluido menstrual, algo que es completamente inalcanzable con métodos clásicos como luminol o fluoresceína.

Sobre la sensibilidad en condiciones ambientales adversas, Saito et al. (2020) aplicaron espectroscopía Raman portátil en manchas de sangre sobre superficies contaminadas como madera, cemento y textiles. Empleando reducción de dimensionalidad por t-SNE, lograron una sensibilidad superior al 90 % en ambientes simulados con contaminación real, mientras que los métodos tradicionales, según reportaron, no podían distinguir adecuadamente sangre real de interferentes en esos mismos escenarios.

Finalmente, en términos de costos y accesibilidad, es cierto que los dispositivos Raman portátiles, aunque cada vez más accesibles, siguen teniendo costos iniciales significativamente más altos (entre USD 30000 y 80000 según Howard et al. (2019), en comparación con los kits químicos tradicionales, cuyo costo puede ser menor a USD 100 por unidad de uso.

#### **4. CONCLUSIONES**

La espectroscopía Raman ha demostrado, a partir de la evidencia sistematizada, ser una técnica altamente específica para la identificación de sangre humana en escenas del crimen, permitiendo diferenciarla de otros fluidos biológicos y materiales contaminantes. En los diversos estudios incluidos de esta revisión se evidenciaron que esta técnica permite extraer información forense adicional relevante a partir de la sangre analizada, como estimaciones de edad, sexo o especie de origen, consolidando su valor como herramienta forense de alta sensibilidad y aplicabilidad; en varios de estos trabajos, la interpretación de los espectros Raman mediante algoritmos de aprendizaje automático alcanzó niveles de sensibilidad y especificidad superiores al 96 %, lo que abre nuevas posibilidades para la reconstrucción avanzada de escenarios criminales.

Dentro de las ventajas de la espectroscopía Raman destacan su carácter no destructivo, su especificidad molecular y su capacidad de integración con sistemas de inteligencia artificial, lo que ha permitido lograr tasas de clasificación superiores al 94 % en la identificación automática de sangre humana, incluso en condiciones de degradación o contaminación ambiental. La combinación de espectros Raman con algoritmos de aprendizaje profundo ha demostrado fortalecer la capacidad de discriminación entre sangre verdadera y materiales interferentes, consolidando a esta técnica no solo como un método preciso para la detección, sino también como una herramienta adaptable a escenarios forenses complejos mediante sistemas inteligentes de análisis. Sin embargo, persisten limitaciones técnicas como la fluorescencia de fondo, la variabilidad ambiental, los altos costos de los dispositivos portátiles y la falta de estandarización internacional en bases de datos espectrales, aspectos que deben ser abordados para su adopción rutinaria en el análisis forense.

La comparación entre espectroscopía Raman y métodos tradicionales como luminol y Kastle-Meyer revela que, si bien las técnicas convencionales son más accesibles y fáciles de implementar en campo, presentan altas tasas de falsos positivos y destructividad de las muestras. Raman, por su parte, ofrece una alternativa más precisa y conservadora, capaz de preservar la integridad de la evidencia, diferenciando sangre humana de imitadores visuales y permitiendo incluso estimaciones de antigüedad, aunque su costo y necesidad de capacitación técnica siguen siendo desafíos para su implementación generalizada.

#### **5. AGRADECIMIENTOS**

Agradezco al Dr. Dennis Mauricio Ocampo Chaguendo por su invaluable guía, disposición y apoyo constante durante la realización de este trabajo de grado.

También extiendo mi gratitud a la Universidad Santiago de Cali y al Programa de Química Farmacéutica por brindarme los conocimientos, espacios y recursos necesarios para desarrollar esta investigación.

Finalmente, agradezco a mi familia por su comprensión, motivación y apoyo incondicional durante este proceso académico.

## 6. DECLARACION DEL USO DE INTELIGENCIA ARTIFICIAL

El autor declara que no ha utilizado herramientas de inteligencia artificial para la redacción o generación de contenido de este trabajo. Todas las ideas, análisis y redacción fueron desarrolladas por el autor de manera autónoma.

## 7. CONFLICTO DE INTERESES

El autor declara que no tiene ningún conflicto de interés relacionado con la elaboración y publicación de este trabajo de grado.

## 8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Almehmadi, L. M., & Lednev, I. K. (2024). Stand-off Raman spectroscopy is a promising approach for the detection and identification of bloodstains for forensic purposes. *Journal of Raman Spectroscopy*, 55(2), 227–231. <https://doi.org/10.1002/JRS.6609>
- Bardan, F., Taylor, D., & Henry, J. (2024). Sensitivity assessment of the modified ABACard® HemaTrace® and p30 immunochromatographic test cards. *Forensic Science International*, 364, 112234. <https://doi.org/10.1016/J.FORSCIINT.2024.112234>
- Barros, H. L., Mileski, T., Dillenburg, C., & Stefani, V. (2017). Fluorescent benzazole dyes for bloodstain detection and bloody fingermark enhancement. *Forensic Chemistry*, 5, 16–25. <https://doi.org/10.1016/J.FORC.2017.05.004>
- Bentolila, A., Hartman, I., & Levin-Elad, M. (2017). Blood or not blood—That is the question. A non-destructive method for the detection of blood-contaminated fingermarks. *Forensic Science International*, 278, 374–378. <https://doi.org/10.1016/J.FORSCIINT.2017.07.033>
- Brenzini, V., & Pathak, R. (2018). A comparison study of the detection of bloodstains on painted and cleaned surfaces with luminol. *Forensic Science International*, 289, 75–82. <https://doi.org/10.1016/J.FORSCIINT.2018.04.043>
- Butler, J. M. (2014). *The National Commission on Forensic Science and the Organization of Scientific Area Committees*. <http://www.promega.com/products/pm/genetic-identity/ishi-conference-proceedings/proceedings-index-home/>
- Carratto, T. M. T., Moraes, V. M. S., Recalde, T. S. F., de Oliveira, M. L. G., & Mendes-Junior, C. T. (2022). Applications of massively parallel sequencing in forensic genetics. *Genetics and Molecular Biology*, 45(3), e20220077. <https://doi.org/10.1590/1678-4685-GMB-2022-0077>
- Casali, F., Ciavaglia, S. A., Gannicliffe, C., Lidstone, N., & Webster, L. M. I. (2020). Validation of presumptive tests for non-human blood using Kastle Meyer and Hemastix reagents. *Science & Justice*, 60(1), 30–35. <https://doi.org/10.1016/J.SCIJUS.2019.10.003>
- Cassidy, B. M., Lu, Z., Martin, J. P., Tazik, S. K., Kellogg, K. W., DeJong, S. A., Belliveau, E. O., Kilgore, K. E., Ervin, S. M., Meece-Rayle, M., Abraham, A. M., Myrick, M. L., & Morgan, S. L. (2017). A quantitative method for determining a representative detection limit of the forensic luminol test for latent bloodstains. *Forensic Science International*, 278, 396–403. <https://doi.org/10.1016/J.FORSCIINT.2017.06.031>
- Crespillo Márquez, M. C., & Barrio Caballero, P. A. (2019). *GENETICA FORENSE*. DIAZ DE SANTOS.
- De Vittori, E., Barni, F., Lewis, S. W., Antonini, G., Rapone, C., & Berti, A. (2016). Forensic application of a rapid one-step tetramethylbenzidine-based test for the presumptive trace detection of bloodstains at the crime scene and in the laboratory. *Forensic Chemistry*, 2, 63–74. <https://doi.org/10.1016/J.FORC.2016.10.002>
- Duarte Andrade, & Oldemary, O. (2022). *Importancia de la práctica forense, en la determinación de causas de muerte*. <http://repositorio.ulvr.edu.ec/handle/44000/5453>
- Dickler, H. M., Weber, A. R., & Lednev, I. K. (2024). Discrimination Between Human and Animal Blood Using Raman Spectroscopy and a Self-Reference Algorithm for Forensic Purposes: Method Expansion and Validation. *Applied Spectroscopy Practica*, 2(2). <https://doi.org/10.1177/27551857241252175>
- Doty, K. C., & Lednev, I. K. (2018a). Differentiating Donor Age Groups Based on Raman Spectroscopy of Bloodstains for Forensic Purposes. *ACS Central Science*, 4(7), 862–867. [https://doi.org/10.1021/ACSCENTSCI.8B00198/ASSET/IMAGES/LARGE/OC-2018-00198N\\_0002.JPEG](https://doi.org/10.1021/ACSCENTSCI.8B00198/ASSET/IMAGES/LARGE/OC-2018-00198N_0002.JPEG)
- Doty, K. C., & Lednev, I. K. (2018b). Differentiation of human blood from animal blood using Raman spectroscopy: A survey of forensically relevant species. *Forensic Science International*, 282, 204–210. <https://doi.org/10.1016/J.FORSCIINT.2017.11.033>

- Figuroa Martínez, F., Martínez Romero, V. E., & Villavicencio Queijeiro, A. (2022). Pruebas presuntivas y confirmatorias de sangre: enseñanza de la química en la hematología forense. *Educación Química*, 33(4), 85. <https://doi.org/10.22201/FQ.18708404E.2022.4.83537>
- Fujihara, J., Fujita, Y., Yamamoto, T., Nishimoto, N., Kimura-Kataoka, K., Kurata, S., Takinami, Y., Yasuda, T., & Takeshita, H. (2017). Blood identification and discrimination between human and nonhuman blood using portable Raman spectroscopy. *International Journal of Legal Medicine*, 131(2), 319–322. <https://doi.org/10.1007/S00414-016-1396-2/METRICS>
- Fujihara, J., Nishimoto, N., Yasuda, T., & Takeshita, H. (2019). Discrimination Between Infant and Adult Bloodstains Using Micro-Raman Spectroscopy: A Preliminary Study. *Journal of Forensic Sciences*, ISSN-e 1556-4029, ISSN 0022-1198, Vol. 64, No. 3, 2019, Págs. 698-701, 64(3), 698–701. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=6980921&info=resumen&idioma=ENG>
- Gutiérrez, C. A. (2018). DE MANCHAS DE SANGRE FORENSE MODERNA. <https://es.slideshare.net/slideshow/anlisis-de-patrones-de-manchas-de-sangre-y-su-importanciapdf/251686080>
- Home, P. H., Norman, D. G., Palmer, A., Field, P., & Williams, M. A. (2022). Quantifying forensic investigations involving bloodstain pattern analysis within the UK. *Forensic Science International*, 339, 111424. <https://doi.org/10.1016/J.FORSCIINT.2022.111424>
- Howard, D., Chaseling, J., & Wright, K. (2019). Detection of blood on clothing laundered with sodium percarbonate. *Forensic Science International*, 302, 109885. <https://doi.org/10.1016/J.FORSCIINT.2019.109885>
- Huang, S., Huang, S., Huang, S., Wang, P., Wang, P., Tian, Y., Tian, Y., Bai, P., Bai, P., Chen, D., Wang, C., Wang, C., Chen, J., Chen, J., Liu, Z., Liu, Z., Zheng, J., Zheng, J., Yao, W., ... Gao, J. (2019). Blood species identification based on deep learning analysis of Raman spectra. *Biomedical Optics Express*, Vol. 10, Issue 12, Pp. 6129-6144, 10(12), 6129–6144. <https://doi.org/10.1364/BOE.10.006129>
- Indalecio-Céspedes, C. R., Hernández-Romero, D., Legaz, I., Sánchez Rodríguez, M. F., & Osuna, E. (2021). Occult bloodstains detection in crime scene analysis. *Forensic Chemistry*, 26, 100368. <https://doi.org/10.1016/J.FORC.2021.100368>
- Jaremko, K. L., Pitts, A., Hascall, A., Briskie, A., Redmond, B., Kaur, D., Curtis, G., LaVena, H., West, J., Du, P., Hernandez, S., & Silva, D. S. B. S. (2024). Detection of sensitivity and vestigiality of presumptive tests for swabbed blood stains. *Forensic Science, Medicine, and Pathology*, 20(2), 764–767. <https://doi.org/10.1007/S12024-023-00718-Y/METRICS>
- Kalife, R. M. de la G., Mandujano, A. N. R., & González, F. G. G. (2019). La importancia de la Odontología Forense en la identificación de individuos. Revisión bibliográfica. *Revista Mexicana de Estomatología*, 6(1), 59–63. <https://www.remexesto.com/index.php/remexesto/article/view/270/497>
- Khandasammy, S. R., Fikiet, M. A., Mistek, E., Ahmed, Y., Halámková, L., Bueno, J., & Lednev, I. K. (2018). Bloodstains, paintings, and drugs: Raman spectroscopy applications in forensic science. *Forensic Chemistry*, 8, 111–133. <https://doi.org/10.1016/J.FORC.2018.02.002>
- Kistenev, Y. V., Borisov, A. V., Samarina, A. A., Colón-Rodríguez, S., & Lednev, I. K. (2023). A novel Raman spectroscopic method for detecting traces of blood on an interfering substrate. *Scientific Reports*, 13(1), 1–15. <https://doi.org/10.1038/S41598-023-31918-9/FIGURES/13>
- Kumar, R., Sharma, K., & Sharma, V. (2020). Bloodstain age estimation through infrared spectroscopy and Chemometric models. *Science & Justice*, 60(6), 538–546. <https://doi.org/10.1016/J.SCIJUS.2020.07.004>
- Li, B., Beveridge, P., O'Hare, W. T., & Islam, M. (2014). The application of visible wavelength reflectance hyperspectral imaging for the detection and identification of blood stains. *Science & Justice*, 54(6), 432–438. <https://doi.org/10.1016/J.SCIJUS.2014.05.003>
- Matheson, C. D., Veall, M. A., & Badman, L. K. (2022). A method validation for the hemoglobin chemical reagent test strip with the addition of ethylenediaminetetraacetic acid to increase the selectivity of this presumptive test for residual blood. *Forensic Science International*, 332, 111203. <https://doi.org/10.1016/J.FORSCIINT.2022.111203>
- McLaughlin, G., Doty, K. C., & Lednev, I. K. (2014). Raman spectroscopy of blood for species identification. *Analytical Chemistry*, 86(23), 11628–11633. [https://doi.org/10.1021/AC5026368/SUPPL\\_FILE/AC5026368\\_SI\\_001.PDF](https://doi.org/10.1021/AC5026368/SUPPL_FILE/AC5026368_SI_001.PDF)
- Mengual-Pujante, M., Perán, A. J., Ortiz, A., & Pérez-Cárceles, M. D. (2024). Estimation of human bloodstains time since deposition using ATR-FTIR spectroscopy and chemometrics in simulated crime conditions. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 251, 105172. <https://doi.org/10.1016/J.CHEMOLAB.2024.105172>
- Menzyk, A., Damin, A., Martyna, A., Alladio, E., Vincenti, M., Martra, G., & Zadora, G. (2020). Toward a novel framework for bloodstains dating by Raman spectroscopy: How to avoid sample photodamage and subsampling errors. *Talanta*, 209, 120565. <https://doi.org/10.1016/J.TALANTA.2019.120565>

- 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. [https://doi.org/10.1021/ACS.ANALCHEM.6B01173/ASSET/IMAGES/LARGE/AC-2016-01173B\\_0002.JPEG](https://doi.org/10.1021/ACS.ANALCHEM.6B01173/ASSET/IMAGES/LARGE/AC-2016-01173B_0002.JPEG)
- Muro, C. K., Doty, K. C., de Souza Fernandes, L., & Lednev, I. K. (2016). Forensic body fluid identification and differentiation by Raman spectroscopy. *Forensic Chemistry*, 1, 31–38. <https://doi.org/10.1016/J.FORC.2016.06.003>
- Muro, C. K., & Lednev, I. K. (2017). Identification of individual red blood cells by Raman microspectroscopy for forensic purposes: in search of a limit of detection. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 409(1), 287–293. <https://doi.org/10.1007/S00216-016-0002-2/TABLES/1>
- Nagesh, D., & Ghosh, S. (2017). A time period study on the efficiency of luminol in the detection of bloodstains concealed by paint on different surfaces. *Forensic Science International*, 275, 1–7. <https://doi.org/10.1016/J.FORSCIINT.2017.01.028>
- Nichols, N. A., Lednev, I. K., Nichols, N. A., & Lednev, I. K. (2022). Raman Spectroscopy for Forensic Identification of Body Fluid Traces: Method Validation for Potential False Negatives Caused by Blood-Affecting Diseases. *American Journal of Analytical Chemistry*, 13(1), 1–8. <https://doi.org/10.4236/AJAC.2022.131001>
- Paul Jones, J. I., Name Allison Getz, C.-A., & Name Donna Sirk, C.-A. (2022). *Encyclopedia of Forensic Sciences, Third Edition ORGANIZATION OF SCIENTIFIC AREA COMMITTEES (OSAC) FOR FORENSIC SCIENCE*. <https://www.nist.gov/>
- Polacco, S., Wilson, P., Illes, M., & Stotesbury, T. (2018). Quantifying chemiluminescence of the forensic luminol test for ovine blood in a dilution and time series. *Forensic Science International*, 290, 36–41. <https://doi.org/10.1016/J.FORSCIINT.2018.06.026>
- Reese, T., Suarez, C., Premasiri, W. R., Shaine, M. L., Ingraham, H., Brodeur, A. N., & Ziegler, L. D. (2021). Surface enhanced Raman scattering specificity for detection and identification of dried bloodstains. *Forensic Science International*, 328, 111000. <https://doi.org/10.1016/J.FORSCIINT.2021.111000>
- Rosenblatt, R., Halámková, L., Doty, K. C., de Oliveira, E. A. C., & Lednev, I. K. (2019). Raman spectroscopy for forensic bloodstain identification: Method validation vs. environmental interferences. *Forensic Chemistry*, 16, 100175. <https://doi.org/10.1016/J.FORC.2019.100175>
- Russell, C., & Amankwaa, A. O. (2025). The persistence of bloodstains on buried fabrics and robustness of the leucomalachite green test in detecting aged bloodstains on buried fabrics. *Forensic Science International*, 370, 112463. <https://doi.org/10.1016/J.FORSCIINT.2025.112463>
- Saito, K., Kogure, M., Sonoda, A., & Ito, R. (2020). Luminol chemiluminescence reaction: Optimization by image analysis method and use in distinguishing human hemoglobin from potassium hexacyanoferrate(III) by addition of ascorbic acid. *Forensic Chemistry*, 21, 100278. <https://doi.org/10.1016/J.FORC.2020.100278>
- Seki, T., Hsiao, Y. Y., Ishizawa, F., Sugano, Y., & Takahashi, Y. (2024). Establishment of a random forest regression model to estimate the age of bloodstains based on temporal colorimetric analysis. *Legal Medicine*, 69, 102343. <https://doi.org/10.1016/J.LEGALMED.2023.102343>
- Sikirzhytskaya, A., Sikirzhytski, V., & Lednev, I. K. (2017). Determining Gender by Raman Spectroscopy of a Bloodstain. *Analytical Chemistry*, 89(3), 1486–1492. [https://doi.org/10.1021/ACS.ANALCHEM.6B02986/SUPPL\\_FILE/AC6B02986\\_SI\\_001.PDF](https://doi.org/10.1021/ACS.ANALCHEM.6B02986/SUPPL_FILE/AC6B02986_SI_001.PDF)
- Sloots, J., Lalonde, W., Reid, B., & Millman, J. (2017). Kastle–Meyer blood test reagents are deleterious to DNA. *Forensic Science International*, 281, 141–146. <https://doi.org/10.1016/J.FORSCIINT.2017.10.006>
- Sosa, A. M., & Suzuri Hernández, L. J. (2019). ¿Necesita el científico forense comprender la periodicidad? *Educación Química*, 30(4), 115. <https://doi.org/10.22201/fq.18708404e.2019.4.70396>
- Takamura, A., Watanabe, D., Shimada, R., & Ozawa, T. (2019). Comprehensive modeling of bloodstain aging by multivariate Raman spectral resolution with kinetics. *Communications Chemistry*, 2(1), 1–10. <https://doi.org/10.1038/S42004-019-0217-1/FIGURES/6>
- The Organization of Scientific Area Committees for Forensic Science | NIST*. (n.d.). Retrieved April 26, 2025, from <https://www.nist.gov/adlp/spo/organization-scientific-area-committees-forensic-science>
- Tsai, L. C., Liu, K. L., Lin, W. Y., Lin, Y. C., Huang, N. E., Lee, J. C. I., Linacre, A., & Hsieh, H. M. (2022). Evaluation of three commercial kits effective identification of menstrual blood based on the D-dimer. *Forensic Science International*, 338, 111389. <https://doi.org/10.1016/J.FORSCIINT.2022.111389>
- Vajpayee, K., Desai, P., Parekh, P. B., Sitwala, H. C., Suri, K., Dash, H. R., & Shukla, R. K. (2023). A novel method for blood detection using fluorescent dye. *Microchemical Journal*, 193, 108987. <https://doi.org/10.1016/J.MICROC.2023.108987>
- Verma, H. (2022). Benzidine color-crystal test; modified test to confirm the presence of blood stain. *Forensic Science International*, 335, 111313. <https://doi.org/10.1016/J.FORSCIINT.2022.111313>

- Vyas, B., Halámková, L., & Lednev, I. K. (2020). A universal test for the forensic identification of all main body fluids including urine. *Forensic Chemistry*, 20, 100247. <https://doi.org/10.1016/J.FORC.2020.100247>
- Wang, G., Cai, W., Wu, H., Yang, C., Yu, K., Liu, R., Wei, X., Lin, H., Sun, Q., & Wang, Z. (2022). Identification of human and non-human bloodstains on rough carriers based on ATR-FTIR and chemometrics. *Microchemical Journal*, 180, 107620. <https://doi.org/10.1016/J.MICROC.2022.107620>
- Wang, H., Ding, X., He, X., Guo, G., Yang, J., Zhang, Y., Jia, Z., Zhang, J., Li, J., & Wang, Q. (2024). Application of ATR-FTIR spectroscopy and chemometrics for the forensic discrimination of aged peripheral and menstrual bloodstains. *Microchemical Journal*, 197, 109933. <https://doi.org/10.1016/J.MICROC.2024.109933>
- Wang, P., Chen, J., Wu, X., Tian, Y., Zhang, R., Sun, J., Zhang, Z., Wang, C., Bai, P., Guo, L., & Gao, J. (2022). Determination of blood species using echelle Raman spectrometer and surface enhanced Raman spectroscopy. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 281, 121640. <https://doi.org/10.1016/J.SAA.2022.121640>
- Weber, A., Wójtowicz, A., & Lednev, I. K. (2021). Post deposition aging of bloodstains probed by steady-state fluorescence spectroscopy. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 221, 112251. <https://doi.org/10.1016/J.JPHOTOBIO.2021.112251>
- Weber, A., Wójtowicz, A., Wietecha-Posłuszny, R., & Lednev, I. K. (2024). Raman Spectroscopy for the Time since Deposition Estimation of a Menstrual Bloodstain. *Sensors 2024, Vol. 24, Page 3262, 24(11)*, 3262. <https://doi.org/10.3390/S24113262>
- Wilson-Wilde, L. (2018). The international development of forensic science standards — A review. *Forensic Science International*, 288, 1–9. <https://doi.org/10.1016/J.FORSCIINT.2018.04.009>
- Zhang, R., Wang, P., Chen, J., Tian, Y., & Gao, J. (2023). Age estimation of bloodstains based on Raman spectroscopy and chemometrics. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 290, 122284. <https://doi.org/10.1016/J.SAA.2022.122284>