



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI MILANO

**CORSO DI DOTTORATO IN SCIENZE AMBIENTALI - R24
[XXXIV Ciclo]**

Dipartimento di Scienze Biomediche per la Salute

TESI DI DOTTORATO DI RICERCA

**Interazione corpo ambiente: il *fil rouge* tra
analisi tafonomiche e tracce in contesto forense**

MED/43 BIO/08 BIO/02

Giulia Caccia
R12284

TUTOR

Prof.ssa Cristina Cattaneo

CO TUTOR

Prof. Marco Caccianiga

COORDINATORE DEL DOTTORATO

Prof. Francesco Ficetola

A.A. 2020/202

Contenuti	
Ringraziamenti	I
Lista delle pubblicazioni realizzate durante il corso del dottorato	III
Abstract	V
Introduzione	9
Capitolo 1. Il principio di interscambio di Locard, focus sull'interazione corpo-ambiente	9
1.1 Le tracce, riposta alle sette Golden W	10
1.1.1 Le tracce: significato e storia in contesto forense	10
1.2 L'ambiente corpo di Megnin	13
1.2.1 Stato dell'arte relativo a substrati dell'"Ambiente corpo": caratteristiche fisiche e persistenza	15
1.2.1.1 La cute	15
Struttura della cute	16
Alterazioni post mortali della cute-tanatologia e tafonomia della cute	16
1.2.1.2 I capelli	17
Struttura dei capelli	18
Alterazioni post mortali del capello-tanatologia e tafonomia del capello	19
1.2.1.3 Le unghie	20
Struttura dell'unghia	21
Alterazioni post mortali dell'unghia-tanatologia e tafonomia dell'unghia	21
1.2.1.4 L'osso	21
Struttura dell'osso	21
Alterazioni post mortali dell'osso-tanatologia e tafonomia dell'osso	22
1.2.1.5 I denti	23
Struttura del dente	24
Alterazioni post mortali del dente-tanatologia e tafonomia del dente	24
1.2.1.6 Gli indumenti	25
Struttura dei tessuti	25
Alterazioni dei tessuti	26
1.3 L'ambiente in senso stretto	28
1.3.1 Il fattore ambiente nel principio di interscambio: produttore di tracce ma anche fattore di alterazione su tracce e substrati	28
1.3.1.1 Le tracce ambientali	28
1.3.1.2 Tafonomia	31
Tafonomia di ambiente terrestre – Ipogeo	32
Tafonomia di ambiente terrestre – Epigeo	35
Tafonomia di ambiente aquatico-Marino	39

1.3.2 l'ambiente noto, le <i>body farm</i>	49
Capitolo 2. Finalità e obiettivi	51
2.1 La <i>body farm</i> del parco del Ticino	51
2.2 L'area urbana e naturale di Milano, Città Studi	52
2.3 Ambienti specifici indoor	53
2.4 Ambiente acquatico mediterraneo - il naufragio del 18 aprile 2015	54
2.5 Ambiente terrestre ipogeo – Il sepolcreto dell'Ospedale Ca' Granda	55
2.6 Ambienti specifici – casi forensi	55
Capitolo 3. Ambienti	57
Ambiente noti	
<hr/>	
3.1 La <i>body farm</i> del parco del Ticino	57
3.1.1 materiali e metodi	59
Ambiente	59
Ambiente fisico	59
Caratterizzazione geologica	59
Caratterizzazione idrologica	60
Caratterizzazione pedologica	60
Caratterizzazione climatica e metereologica	62
Caratterizzazione vegetazionale	67
Caratterizzazione zoologica	68
Corpo	69
Preparazione dei campioni	69
Posizionamento	70
Campionamento e analisi	71
3.1.2 risultati	74
Stato di conservazione del corpo e dei suoi substrati	74
Analisi quali-quantitativa delle tracce botaniche raccolte dal substrato corpo	78
Analisi qualitativa delle tracce biologiche sul substrato corpo	81
3.1.3 discussioni	83
Considerazioni in merito alla persistenza dei substrati corporei ai fenomeni conservativi e trasformativi in essi verificatesi	83
Considerazioni in merito la persistenza e la visibilità macroscopica dei fluidi biologici	84
Considerazioni in merito le tracce botaniche la loro variabilità quali e quantitativa in funzione della stagione e il loro potere informativo in contesto forense	85
Considerazioni in merito al potere di trattenimento dei substrati: cute e capelli	85
3.2 L'area urbana e naturale di Milano, Città Studi	87
3.2.1 Persistenza e determinabilità di tracce biologiche umane in ambienti naturali ed antropizzati	87

3.2.1.1 Materiali e metodi	89
Corpo	89
Ambiente	89
Tecniche di analisi	91
3.2.1.2 Risultati	94
Campioni con sangue	95
Ambiente di controllo	95
Ambiente antropizzato	95
Ambiente naturale	96
Campioni con sperma	96
Ambiente di controllo	96
Ambiente antropizzato	97
Ambiente naturale	98
3.2.1.3 Discussioni	99
Efficacia di diverse tecniche di identificazione del sangue su campioni di capelli	99
Efficacia di diverse tecniche di identificazione dello sperma su campioni di capelli	100
3.2.2 Persistenza e determinabilità di tracce biologiche ambientali e inorganiche umane e ambientali su iponichio	103
3.2.2.1 Materiali e metodi	105
3.2.2.2 Risultati	107
Piano in legno verniciato	107
Tessuto di cotone	108
Tessuto in lana	108
Suolo	109
Muro di mattoni e calce	110
Edera	110
3.2.2.3 Discussione	113
3.3 Ambienti specifici indoor	115
3.3.1 Micro tracce inorganiche e organiche su cute umana	115
3.3.1.1 Materiali e metodi	117
Prima fase della ricerca, il vivente	117
L'ambiente	117
Il corpo	117
Seconda fase della ricerca, il cadavere	118
Corpo	118
Ambiente	118
Elaborazione dei dati	119
3.3.1.2 Risultati	120
Fase 1: il vivente	120
Fase 2: il cadavere	127
3.3.1.3 Discussione	129

3.3.2	Micro tracce inorganiche e organiche su cute di maiale	131
3.3.2.1	Materiali e metodi	133
	Il corpo	133
	L'ambiente	133
	Tecniche analitiche	133
3.3.2.2	Risultati	134
	Osservazione macroscopica ad occhio nudo	135
	Osservazione mediante microscopio episcopico	136
	Analisi spettroscopica XRF	138
	Analisi morfologica e spettroscopica SEM-EDX	139
3.3.2.3	Discussione	142
	Efficacia delle tecniche di analisi	142
	Effetto delle seguenti variabili ambiente di permanenza, contatto vs esposizione, presenza o assenza di peli	143
	Effetto del tempo sui campioni e sui contaminanti	144

Ambienti non noti

3.4	Ambiente acquatico mediterraneo - il naufragio del 18 aprile 2015	145
3.4.1	Analisi tafonomica di resti ossei in ambiente marino	147
3.4.1.1	Materiali e metodi	149
	Ambiente	149
	Ambiente fisico	149
	Caratterizzazione faunistica e floristica	151
	Corpo	153
	Tecniche di analisi	154
3.4.1.2	Risultati	156
	Colore generale	156
	Macchie	157
	Materiale aderente	161
	Tracce imputabili ad azione di elementi biologici	161
	Tracce imputabili ad elementi abiotici fisici	167
	Tracce da calore	170
	Tracce imputabili ad azione umana	171
3.4.1.3	Discussioni	171
	Effetto del settore dell'imbarcazione di provenienza	172
	Effetto dell'intervallo post mortale su quantità e tipologia delle tracce biologiche	176
3.4.2	Analisi delle tracce vegetali incluse nel tartaro dentale	179
3.4.2.1	Materiali e metodi	181
	Corpo	181
	Analisi semi quantitativa del tartaro dentale	181
	Protocollo di prelievo ed estrazione del tartaro dentale	182
	Tecniche di analisi	183
3.4.2.2	Risultati	194

Distribuzione quantitativa del tartaro	194
Contenuto del tartaro dentale	196
Controlli	199
3.4.2.3 Discussioni	200
3.5 Ambiente terrestre ipogeo – il sepolcreto dell’ospedale Ca’ Granda	205
L’ospedale Ca’ Granda	205
La cripta	206
Le indagini archeologiche ed antropologiche	207
3.5.1 Analisi paleo nutrizionale ed antropologica di un campione di individui dell’ospedale Ca’ Granda	209
3.5.1.1 Materiali e metodi	211
3.5.1.2 Risultati	216
3.5.1.3 Discussioni	218
3.5.2 Inventario e contestuale preliminare analisi tafonomica del materiale non osseo presente in un sotto campione della camera O	221
3.5.2.1 Materiali e metodi	223
3.5.2.2 Risultati	223
3.5.2.3 Discussione	228
3.6 Ambienti specifici – casi forensi	231
3.6.1 Tracce ambientali, ed in particolare botaniche, su cadavere in diverso stato di conservazione	233
3.6.1.1 Materiali e metodi	235
3.6.1.2 Risultati	235
Fusti e foglie aiutano ad individuare un sito di occultamento	235
Frammenti di legno suggeriscono l’arma del delitto	236
L’analisi dendrocronologica fornisce un minimo PMI	237
Analisi dei muschi fornisce un minimo PMI	238
Macro resti vegetali e vegetazione sulla scena aiutano a comprendere dinamica e PMI	239
Analisi dei macroresti (foglie, frutti e fusti) e degli ambienti individua il luogo del depezzamento	241
Analisi comparativa di legno e carbone individua il luogo dell’occultamento	242
Cuticole vegetali e macroresti forniscono il minimo PMI	243
Corteccia, strumento per comprendere la dinamica di un omicidio	244
Le diatomee strumento nella diagnosi di annegamento	247
3.6.1.3 Discussione	251
3.6.2 Il cadavere, approccio a substrati compromessi da tempo e ambiente	253
3.6.2.1 Materiali e metodi	255
3.6.2.2 Risultati	256

Resti scheletrizzati, frammentati ed in parte carbonizzati con sporadici residui di tessuti molli consentono di comprendere la vitalità delle lesioni	256
Resti parzialmente scheletrizzati con sporadici tessuti molli permettono di comprendere vitalità e non vitalità di diversi tipi di lesività	257
Resti umani scheletrizzati e parzialmente carbonizzati nascondono piccoli dispositivi protesici che agevolano l'identificazione	260
Un cadavere parzialmente scheletrizzato conserva su cute e indumenti tracce inorganiche del suo aggressore	260
Un corpo parzialmente scheletrizzato conserva su cute e ossa tracce dell'arma del delitto, al contempo tuttavia la cute in decomposizione cela parte della lesività	262
3.6.2.3 Discussioni	265
Capitolo 4. Riflessioni conclusive sulle sei linee di ricerca esposte	269
Ambienti noti: La <i>body farm</i> del Parco del Ticino	269
Ambienti noti: L'area urbana e naturale di Milano Città Studi	271
Ambienti noti: Ambienti specifici indoor	272
Ambienti non noti: ambiente acquatico mediterraneo - il naufragio del 18 aprile 2015	273
Ambienti non noti: ambiente terrestre ipogeo – il sepolcreto dell'ospedale Ca' Granda	275
Ambienti non noti: Ambienti specifici – casi forensi	275
Capitolo 5. Conclusioni	277
Riferimenti bibliografici	279
Appendice	313
Appendice 3.1 A Risultati dell'analisi sulle tracce botaniche presenti sui campioni, eseguita sul campo ed in laboratorio	313
Appendice 3.2.2 A1 Parametri considerati per la descrizione del residuo	339
Appendice 3.2.2 A2 Risultati integrali dell'analisi del residuo iponichiale	347

Ringraziamenti

Al termine di questo percorso di dottorato desidero ringraziare coloro che a vario titolo mi hanno guidato attraverso questa esperienza:

Il mio primo ringraziamento va alla Professoressa Cattaneo, per aver creduto in me, per i suoi insegnamenti, per il suo entusiasmo e per avermi offerto sempre nuove occasioni di crescita.

Un grande grazie anche al Professor Caccianiga per il supporto, la disponibilità e gli insegnamenti.

Ringrazio per l'opportunità di questo dottorato il suo attuale direttore, Professor Ficotola ed il suo predecessore, Professor Saino, per la loro disponibilità e gentilezza.

Un ringraziamento inoltre va al il RIS di Parma, nelle persone del Colonnello Lago, del Tenete Colonnello Marino e a tutto il reparto, per avermi accolto e per aver condiviso con me le loro competenze e la loro esperienza, pur nel poco tempo che l'attuale situazione pandemica ci ha concesso.

Ringrazio l'Ente Parco del Ticino per aver accolto con entusiasmo il nostro progetto, il prezioso Stefano Sala per averci accompagnato ed aperto le porte del Parco, permettendoci di realizzare la piccola Body Farm nostrana.

Ringrazio tutto lo staff dell'Orto Botanico Città Studi per avermi accolto e per aver aperto le porte al mondo forense e criminalistico, grazie al già citato Professor Caccianiga, suo attuale direttore, e al suo predecessore il Professor Martin Kater, i tecnici Mario e Valerio per la disponibilità, l'aiuto e il sostegno.

Ringrazio inoltre tutto lo staff del Laboratorio di Antropologia e Odontologia Forense (LABANOF) per aver accompagnato questo mio percorso; in particolare ringrazio il Dott. Porta, il Dott. Poppa e il Dott. De Angelis. Un ringraziamento naturalmente a Debora, Annalisa, Marco, Mirko, Francesca, Barbara, Andrea, Vera e tutti coloro con cui ho condiviso, durante questi tre anni, le "gioie e i dolori" del dottorando.

Ringrazio naturalmente tutti i tesisti e tutti gli studenti che mi hanno affiancato in questo percorso, interpretando un ruolo prezioso per la mia crescita e senza i quali questa tesi non sarebbe stata possibile.

Grazie ai miei genitori per l'infinito sostegno e ai miei amici storici per essere diventati grandi con me...

*Grazie a tutti per avermi regalato la passione e per avermi dato l'opportunità e gli strumenti per coltivarla...
nella speranza di poter restituire tutto ciò*

Lista delle pubblicazioni realizzate durante il corso del dottorato

Articoli scientifici

Caccianiga M, **Caccia G**, Mazzarelli D, Caccia G, Mazzarelli M, Salsarola S, Poppa P, Gaudio G, Cappella C, Franceschetti L, Tambuzzi S, Maggioni L, Cattaneo C (2020) Common and much less common scenarios in which botany is crucial for forensic pathologist and anthropologists: a series of eight case studies. *Int J Legal Med* 135: 1067–1077. <https://doi.org/10.1007/s00414-020-02456-0>

Caccianiga M, Compostella C, **Caccia G**, Cattaneo C (2020) Contribution of plant anatomy to forensic investigation: tree bark morphology. *Forensic Sci Int* 318: 110598. <http://dx.doi.org/10.1016/j.forsciint.2020.110598>

Mattia M, Biehler-Gomez L, Palamenghi A, Nichetti D, **Caccia G**, Sguazza E, De Angelis D, Galimberti PM, Fedeli AM, Slavazzi F, Cattaneo C, Caccianiga M (2021) “Man is what he eats”. Plant residues from dental calculus in the ancient population of Milano from Roman times to modern age. *J Archaeol Sci Rep* 39: 103180. <https://doi.org/10.1016/j.jasrep.2021.103180>

Caccia G, Mazzarelli D, Amadasi A, Rizzi A, Caccianiga M, Cattaneo C (2021) SEM-EDX analysis of microscopic surface debris collected from the skin - preliminary study, *Australian Journal of Forensic Sciences* 1-21. <https://doi.org/10.1080/00450618.2021.1900393>

Caccia G, Cappella A, Castoldi E, Marino A, Colloca D, Amadasi A, Caccianiga M, Lago G, Cattaneo C (2021) Blood and sperm traces on human hair. A study on preservation and detection after 3-month outdoor exposure. *Sci Justice* 61(6): 657-666. <https://doi.org/10.1016/j.scijus.2021.08.001>

Mazzarelli D, Tambuzzi S, Maderna E, **Caccia G**, Poppa P, Merelli V, Terzi M, Rizzi A, Trombino L, Andreola S, Cattaneo C (2021) Look before washing and cleaning: A caveat to pathologists and anthropologists. *J Forensic Leg Med* 79: 102137. <https://doi.org/10.1016/j.jflm.2021.102137>

Mazzarelli D, Bertoglio B, Boscacci M, **Caccia G**, Ruffetta C, De Angelis D, Fracasso T, Baraybar JP, Riccio S, Marzagalia MM, Cattaneo C. (2021) Ambiguous loss in the current migration crisis: A medico-legal, psychological, and psychiatric perspective. *Forensic Science International: Mind and Law* 2: 100064. <https://doi.org/10.1016/j.fsimpl.2021.100064>

Caccia G, Re L, Caccianiga M, Cattaneo C (2021) Traces under nails in clinical forensic medicine: not just DNA. *Int J Legal Med* 135: 1709–1715. <https://doi.org/10.1007/s00414-021-02519-w>

Mattia M, Biehler-Gomez L, Sguazza E, Galimberti PM, Valienti F, Gibelli D, Poppa P, **Caccia G**, Caccianiga M, Vanin S, Manthey L, L. Jantz R, Di Candia D, Maderna E, Albini G, Pawaskar S, Damann F, Fedeli AM, Belgiovine E, Capuzzo D, Slavazzi F, Cattaneo C (2021) Ca’ Granda, an avant-garde hospital between the Renaissance and Modern age: a unique scenario in European history. *Medical History*, 1-10 (in press).

Cappella A, De Angelis D, Mazzarelli D, Vitale A, **Caccia G**, Fracasso T, Cattaneo C (2021) Rediscovering the value of photographs in supporting personal identification in the dead migrant crisis: a descriptive study of antemortem photographic materials of missing migrants. *Legal Medicine* (Tokyo, Japan) 54:101985. <https://doi.org/10.1016/j.legalmed.2021.101985>

Cattaneo C, De Angelis D, Mazzarelli D, Porta D, Poppa P, **Caccia G**, D'Amico ME, Siccardi C, Previderé C, Bertoglio B, Tidball Binz M, Ubelaker DM, Piscitelli V, Riccio S (2022) THE RIGHTS OF MIGRANTS TO THE IDENTIFICATION OF THEIR DEAD An attempt at an identification strategy from Italy. *Int J Legal Med* (in press).

Capitoli di Libri

Cattaneo C, Mazzarelli D, Mattia M, Sguazza E, **Caccia G** (2019) Lo studio antropologico. Osservazioni generali, inventario delle ossa e attribuibilità dei resti. In *Apparuit Thesaurus Ambrosius. Le reliquie di Sant'Ambrogio e dei martiri Gervaso e Protaso tra storia, scienza e fede* (eds. Silvana)

Cattaneo C, Mazzarelli D, Olivieri L, De Angelis D, Cappella A, Vitale A, **Caccia G**, Piscitelli V, Iadicicco A (2020) The approach to unidentified dead migrants in Italy. In *Forensic Science and Humanitarian Action* (eds. R.C. Parra, S.C. Zapico and D.H. Ubelaker). <https://doi.org/10.1002/9781119482062.ch36>

Abstract

Il principio di Locard, noto come principio di interscambio, nella sua semplicità, razionalizza l'esistenza di tutte le tracce oggetto di studio delle scienze forensi. Il criminologo francese Edmond Locard, attraverso tale principio, sostiene che la traccia è l'inevitabile risultato dell'interazione tra due entità, aggiungendo poi che questa traccia è vieppiù giustificata nella sua esistenza quando è il risultato di atti violenti come un crimine. Il presente elaborato ha voluto indagare in particolare le tracce esito dell'interazione tra il corpo della vittima e l'ambiente, interazione che si estrinseca in molteplici forme: essa genera tracce ambientali che permangono sul corpo, in grado di fornire informazioni in merito gli ambienti che la vittima ha attraversato nell'intervallo perimortale, ma è responsabile anche dell'alterazione post mortale del corpo, in particolare di tutti i fenomeni tafonomici che su di esso hanno luogo. Tali fenomeni, se da un lato vanno ad agire su substrati e tracce pregresse alterandole o obliterandole, dall'altro generano nuove evidenze in grado di fornire informazioni sulla la storia post mortale di una vittima.

Questa vasta tematica è stata affrontata mediante sei linee di ricerca, le prime tre, prettamente sperimentali, hanno testato diversi substrati corporei: unghie, capelli, cute e ossa nel loro interagire con ambienti vari, naturali aperti e antropizzati, fino anche ad ambienti estremamente specifici quali luoghi di lavoro. In questi contesti sono stati condotti studi che hanno preso in esame la determinabilità e la specificità di tracce ambientali di varia natura nonché la persistenza di tracce e substrati su diversi intervalli temporali, anche mediante la realizzazione di una piccola *body farm* con carcasse animali. Le seconde tre linee di ricerca invece hanno indagato la medesima relazione in contesti reali: attraverso lo studio dei resti delle vittime del naufragio del 18 aprile 2015, rimasti per diversi mesi sul fondo del Mar Mediterraneo, quelli dei degenti sepolti per secoli nelle camere della cripta dell'ospedale Ca' Granda di Milano ed infine i resti recenti riferibili a quasi venti morti sospette le cui vittime sono rimaste per tempi più o meno lunghi in vari ambienti del nord Italia.

Il lavoro ha permesso di implementare le informazioni attualmente a disposizione sullo studio e l'interpretazione dell'interazione corpo-ambiente, beneficiando di contesti controllati e della raccolta di set continui di dati, si veda la sperimentazione del Parco del Ticino. Esso ha inoltre fornito informazioni nuove in merito a specifici substrati corporei ed al loro potere di trattenere tracce ambientali, si veda gli studi realizzati su unghie e cute. Ha testato applicabilità ed efficacia di tecniche di analisi note e riconosciute a contesti nuovi, è il caso della determinazione di tracce biologiche umane cu capelli realizzata secondo i protocolli in uso ai reparti scientifici delle forze dell'ordine ma anche delle indagini nutrizionali da tarato dentale prese a prestito dall'archeologia e condotte su popolazioni attuali. Inoltre, ha consentito di ampliare le conoscenze in merito la tafonomia di specifici ambienti quale quello marino mediterraneo, contesto poco noto da un punto di vista tafonomico forense e di estrema rilevanza data l'attuale problematica migratoria le cui rotte coinvolgono proprio questo ambiente e l'enorme numero di vittime che questa genera. La ricerca ha altresì mostrato i limiti attualmente esistenti nell'approccio a queste tematiche e la necessità di ulteriore ricerca e sperimentazione anche mediante l'applicazione di tecniche che negli ultimi anni stanno dimostrandosi estremamente valide in ambito forense; è il caso della spettroscopia Raman che sarebbe auspicabile applicare sul residuo da iponichio, ma anche sul micro particolato da cute ma anche del SEM ambientale, la cui efficacia potrebbe essere testata anche sul campo. Sono altresì emersi i limiti dell'analisi nutrizionale sulla popolazione migrante, analisi dal grosso potenziale che tuttavia soffre attualmente di una collezione di confronto ancora in via di sviluppo.

Ricerche diverse sottese dal *fil rouge* dell'interazione corpo-ambiente ed accomunate dal concorrere tutte al medesimo obiettivo, trovare risposte, ma soprattutto strumenti nuovi, per rispondere ai quesiti dell'indagine criminalistica avendo sempre in mente quei principi di verità, dignità e giustizia in grado di elevare la disciplina forense da mero esercizio di stile della scienza.

Locard's principle, known as the principle of interchange, in its simplicity, rationalizes the existence of all traces studied in forensic sciences. The French criminologist Edmond Locard, through this principle, argues that the trace is the inevitable result of the interaction between two entities, then adding that this trace is all the more justified in its existence when it is the result of violent acts such as a crime. This paper wanted to especially investigate the traces resulting from the interaction between the victim's body and the environment, an interaction that takes many forms: it generates environmental traces that remain on the body, able to provide information about the environments that the victim has crossed in the peri-mortal period, but it is also responsible for the post-mortal alteration of the body, in particular of all the taphonomic phenomena that take place on it. These phenomena, if on the one hand they act on substrates and previous traces, altering or obliterating them, on the other hand they generate new evidence that can provide information on the post-mortal history of a victim.

This vast subject has been addressed through six lines of research, the first three, purely experimental, have tested different body substrates: nails, hair, skin, and bones in their interaction with various environments, natural open and anthropized, up to extremely specific environments such as workplaces. In these contexts, studies have been conducted to examine the determinability and specificity of environmental traces of various kinds, as well as the persistence of traces and substrates over different time periods, including through the creation of a small *body farm* with animal carcasses. The second three lines of research instead investigated the same relationship in real contexts: through the study of the remains of the victims of the shipwreck of April 18, 2015, which remained for several months on the bottom of the Mediterranean Sea, those of patients buried for centuries in the crypt chambers of the Ca' Granda hospital in Milan and finally the recent remains referable to almost twenty suspicious deaths whose victims remained for more or less time in various environments of northern Italy.

The work has allowed us to implement the information currently available on the study and interpretation of body-environment interaction, benefiting from controlled contexts and the collection of continuous datasets, see the Ticino Park experiment. It has also provided new information about specific body substrates and their power to retain environmental traces, see the studies carried out on nails and skin. It has tested the applicability and efficacy of known and recognized analytical techniques to new contexts, as in the case of the determination of human biological traces in the hair, carried out according to the protocols used by the scientific departments of law enforcement, but also in the case of nutritional investigations from dental calculus borrowed from archaeology and conducted on current populations. In addition, it has allowed us to expand our knowledge about the taphonomy of specific environments such as the Mediterranean Sea, a little-known context from a forensic taphonomic point of view and of extreme importance given the current migration problem whose routes involve this environment and the huge number of victims that this generates. The research has also shown the limits that currently exist in the approach to these issues and the need for further research and experiments through the application of techniques that in recent years are proving extremely valuable in forensics; this is the case of Raman spectroscopy that would be desirable to

apply on the hyponychium residue, but also on micro particulate matter from skin but also the environmental SEM, whose effectiveness could be tested in the field. The limits of nutritional analysis on the migrant population have also emerged, an analysis with great potential which, however, currently suffers from a collection of comparisons still under development.

Different research under the common thread of the interaction between body and environment and united by the fact that they all concur to the same objective: to find answers, but above all new tools, to answer the questions of criminal investigation, always keeping in mind those principles of truth, dignity, and justice capable of raising the forensic discipline from a mere exercise of style of science.

Introduzione

Capitolo 1. Il principio di interscambio di Locard, focus sull'interazione corpo-ambiente

“Toute action de l’homme, et a fortiori, l’action violente qu’est un crime, ne peut pas se dérouler sans laisser quelque marque”

Edmond Locard, 1930

Il principio di Locard, nella sua semplicità, razionalizza l'esistenza di tutte le tracce oggetto di studio delle scienze forensi e in ultima analisi delle tracce in generale. Il criminologo francese Edmond Locard, attraverso tale principio, sostiene che la traccia è l'inevitabile risultato dell'interazione tra due entità, aggiungendo poi che questa traccia è vieppiù giustificata nella sua esistenza quando è il risultato di un atto violento come un crimine.

Edmond Locard visse in Francia a cavallo tra il XIX e il XX secolo, dove nel 1910 creò il primo laboratorio di polizia scientifica nella soffitta del Palazzo di Giustizia di Lione. Le sue ricerche e i suoi studi nonché la formulazione del principio sopra esposto lo incoronano padre delle moderne scienze forensi, ossia di quell'insieme di discipline così definite oggi dal National Institute Justice degli Stati Uniti:

- *The application of sciences such as physics, chemistry, biology, computer science and engineering to "law" issues. Forensic sciences can help understand how blood splatters, the composition and source of toxic substances, or establish the offender's identity.*
- *Forensic sciences play an important role in the criminal justice system by providing scientific information based on physical evidence. During an investigation the evidence is gathered, analysed in the laboratory and then the results are presented in court.*

Dalle definizioni riportate è possibile comprendere come appartenga alla classe delle scienze forensi qualsiasi disciplina scientifica che si trovi a prestare le sue conoscenze al contesto giudiziario.

Se la lista delle discipline forensi è quindi quasi infinita, alcune più di altre sono entrate nella pratica comune per la ricorrenza dei loro oggetti di studio e il valore probatorio dei dati che esse forniscono, tra le principali discipline forensi si annoverano quindi: genetica, tossicologia, balistica, dattiloscopia, chimica, merceologia, antropologia, archeologia, entomologia, botanica e geologia.

Tutte le discipline citate così come quelle non citate assurgono al ruolo di scienze forensi nel momento in cui al loro ambito di interesse pertiene un elemento potenzialmente utile a fine investigativo, e tale utilità risiede in ultima analisi nell'essere stato in un certo modo esito o parte dell'interscambio.

L'interazione descritta nel principio con cui si è aperta questa trattazione, circoscritta al contesto criminale, vede essenzialmente tre protagonisti: la vittima, il reo e l'ambiente. Ognuno di questi attori gioca un duplice ruolo; vittima, reo e ambiente sono produttori di tracce, ma, allo stesso tempo, ricettori di tracce nel momento in cui agiscono quali substrato. Inoltre, intorno ad essi ruota un quarto elemento che agisce su tutto, il tempo; il tempo è decisivo nell'interazione, infatti, il momento dello scambio determinerà il valore della traccia nel contesto giudiziario. Inoltre, il tempo agisce sulla traccia determinandone l'iter tafonomico (quell'insieme di processi di alterazione che un organismo vivente subisce dal momento della sua morte al suo ingresso nella litosfera (Blau, 2014)) e allo stesso modo sul substrato, andando ad incidere sulla sua persistenza e di conseguenza su quella della traccia.

La fitta rete di interazioni a cui si è accennato sarà oggetto delle pagine seguenti con il fine ultimo di approfondire la tematica dell'interazione corpo ambiente in contesto forense, nonché lo studio delle sue implicazioni.

Questa tesi ha come finalità quella di colmare il vuoto attualmente esistente riguardo l'interazione tra il corpo, nella sua eterogeneità (cute, capelli, unghie, denti, ossa etc.) e l'ambiente, nelle sue diverse forme (terrestre, marino, epigeo, ipogeo), indagando anche l'effetto di quest'ultimo su tracce lasciate dal possibile reo. Questo *fil rouge* dell'interazione corpo ambiente, come è facile intuire, obbligherà a spaziare, tanto da un punto di vista geografico ed ecologico quanto scientifico, obbligando a fornire, nel capitolo in oggetto, un richiamo a ciascuno di quelli che saranno gli oggetti della trattazione.

Dopo una prima introduzione finalizzata a contestualizzare la problematica nonché a fornire un resoconto della letteratura attualmente disponibile riguardo substrati corporei, loro caratteristiche e persistenza, tracce ambientali e alterazioni tafonomiche, verranno presentate le linee di ricerca seguite, le attuali conclusioni e la loro lettura critica. Il filo conduttore attraverso cui intende svolgersi la trattazione sarà quello degli ambienti, saranno presi in considerazione ambienti terrestri aperti noti, che avranno il ruolo di piccole *body farm*, luoghi dove condurre sperimentazioni in condizioni controllate. Tali ricerche fungeranno da controllo e da linea guida all'interpretazione di quelle in contesto non noto. In questa modalità saranno condotte ricerche in ambiente terrestre epigeo, ipogeo e in ambiente acquatico. Tutti questi ambienti fungeranno da elemento dominante dell'interscambio che in ciascuno di loro avrà luogo, interscambio che verrà indagato tramite l'osservazione e l'analisi del corpo attraverso i suoi molteplici substrati.

1.1 Le tracce, risposta alle sette Golden W

What happened?

When?

Where?

What with?

Which manner?

Why?

Who?

Quelle sopra riportate sono le sette domande attorno alle quali ruota l'investigazione criminalistica; trovarvi risposta costituisce in definitiva la ragione dell'esistenza della scienza forense. Quale di queste domande potrà trovare soluzione e mediante quali strumenti dipenderà dagli attori coinvolti e dalle modalità con cui l'interazione avrà avuto luogo. Ad esempio, l'interazione della vittima con un particolare ambiente naturale come un bosco di querce poco prima della morte e la conseguente traccia botanica trovata sui capelli della stessa può fornire informazioni relative alla dinamica del delitto, e quindi rispondere alla domanda Cosa è successo? (*What happened?*). La stessa traccia sull'aggressore può collocarlo sul luogo del crimine e quindi rispondere alla domanda Chi? (*Who?*). I quattro fattori, vittima, aggressore, ambiente e tempo sono gli elementi che nel loro interagire determinano come le tracce racconteranno la storia dell'evento che li ha visti protagonisti.

1.1.1 Le tracce: significato e storia in contesto forense

L'esigenza di rispondere ai quesiti dell'indagine è un'esigenza antica, cosicché, se anche la nascita delle moderne scienze forensi viene solitamente fissata ai primi del 1900, anno in cui molte delle discipline vedono per la prima volta i loro oggetti di studio portati in aula come prove, già molto tempo prima hanno avuto luogo alcune empiriche applicazioni di discipline scientifiche al contesto

investigativo. Una delle prime di cui vi è testimonianza è l'entomologia. Il testo di medicina-legale *Hsi yüan chi lu*, riporta un caso avvenuto in Cina nel XIII secolo, un assassino confessò l'omicidio messo di fronte all'evidenza che le mosche erano attratte solo dal suo tra tutti i falchetti ispezionati quali armi del delitto (Benecke, 2001). Molto più antiche possono essere considerate le prime testimonianze di applicazione delle geoscienze in contesti legali, il riferimento è alla storia di Archimede e Gerone e la corona d'oro (Di Maggio, 2018) ma anche a *Il Commentarii De Bello Gallico*. In questo scritto infatti Gaio Giulio Cesare racconta che i romani, durante le loro campagne di conquista nel nord Europa, osservavano il terreno sotto gli zoccoli dei cavalli catturati per capire dove si trovavano gli accampamenti dei nemici. Infine, estremamente antica è la conoscenza delle impronte digitali (dattiloscopia) come strumenti di identificazione, lo dimostra il loro uso in Cina già intorno al 200 a.C., quando le impronte digitali venivano utilizzate per certificare l'autenticità dei documenti (Sonderegger e Urs, 2012). Inoltre, più tardi, durante la dinastia Song, 960 - 1278 d.C., vi sono prove di un'ottima conoscenza delle impronte digitali e del loro valore, esse venivano, per esempio, richieste alle madri che abbandonati i loro figli sulla ruota degli esposti, decidevano di riconoscerli (Sonderegger e Urs, 2012).

Nonostante la precocità di alcune applicazioni si dovrà attendere il XIX secolo per vedere le prime apparizioni in un'aula di tribunale di alcune discipline scientifiche e la loro consacrazione ufficiale a scienza forense.

La prima disciplina è la tossicologia, il primo processo basato su prove tossicologiche ebbe infatti luogo nel 1840, fu il caso di Marie Lafarge, una giovane donna francese accusata di aver ucciso il marito con l'arsenico. A rendere storico questo caso furono le varie analisi chimiche effettuate per provare l'accusa nonché la partecipazione, come consulente, della massima autorità nel campo della tossicologia, Mathieu Orfila, medico e chimico considerato il padre della disciplina (Lynch, 1840).

Nove anni più tardi sarà la volta dell'antropologia forense, a consacrarla è il cosiddetto caso Parkman. Nel 1849 infatti, il dottor Parkman, membro di una nobile e ricca famiglia di Boston, scompare misteriosamente dopo essere stato visto entrare in uno degli edifici dell'Università di Harvard. Il dottor Parkman era un uomo noto in città per la sua abitudine di prestare denaro. Tra i suoi debitori c'era un professore di chimica della prestigiosa università, il professore John White Webster, con il quale Parkman si incontrò proprio il giorno della sua scomparsa. Le ricerche che ne seguirono portarono alla scoperta di resti umani nell'ufficio del professor Webster. Tuttavia, le condizioni dei resti resero necessario eseguire esami specialistici per identificare la vittima. Fu così che per la prima volta in un'aula di tribunale, evidenze antropologiche e odontologiche furono portate come prove (Christen e Christen, 2003).

Bisognerà attendere i primi anni del 1900 per vedere le impronte digitali usate come prova in un tribunale occidentale. La dattiloscopia fu importata in Europa da Henry Foulds, medico inglese che, intorno al 1880, ne osservò l'uso in oriente. Poco dopo, Francis Galton, inizialmente scettico, riconobbe le caratteristiche uniche e preziose di questo strumento a fini identificativi: le impronte digitali erano infatti, uniche, immutabili e classificabili. Il 27 marzo 1905, a Defford, in Inghilterra, il processo ai fratelli Stratton per rapina e duplice omicidio vide per la prima volta le impronte digitali portate in un moderno tribunale come prova. Per velocizzare e automatizzare l'uso di questo fondamentale strumento identificativo, nel 1977, l'FBI introduce il sistema AFIS per l'archiviazione automatica delle impronte digitali, questo sistema contiene oggi le impronte di oltre 7 milioni di individui e costituisce ancora uno dei principali strumenti identificativi in tutto il mondo (Sonderegger e Urs, 2012).

Il primo caso che portò invece il dato genetico in aula come prova ebbe luogo all'inizio del 1980 in Inghilterra. Un caso di duplice omicidio e stupro vide il colpevole condannato grazie alla prova del DNA (Butler, 2009). Tuttavia, il DNA a scopo di identificazione ha avuto una storia relativamente breve e movimentata che era già iniziata nei primi anni del 1900 con la scoperta dei gruppi sanguigni A, B e 0 e l'invenzione del sistema corrispondente. Questo primo passo fu seguito dalla proposta della teoria dei geni da parte di Thomas Hunt Morgan che pose le basi per lo sviluppo della successiva genetica forense. Seguì la scoperta del fingerprinting genetico da parte di Alec Jeffreys nel 1984. Infine, la scoperta della reazione a catena della polimerasi, PCR, da parte di Kary Mullis nello stesso anno abbatté quello che era stato fino a quel momento un limite all'applicazione della genetica al contesto forense, data la cronica scarsità di materiale disponibile (Carracedo, 2013; Saad, 2005).

Ritornando all'antropologia, un altro fatto degno di nota in questo contesto, anche per la rilevanza che avrà sul resto della discussione, è la fondazione, nel 1981, da parte dell'antropologo William Bass, della University of Tennessee Anthropological Research Facility, meglio conosciuta come *body farm*. La *body farm* è dedicata allo studio diretto dei corpi umani donati alla scienza e, in particolare, all'indagine dei processi tafonomici che li interessano (Bass, 1984; Vidoli et al., 2017).

Le ultime tre discipline di cui vale la pena menzionare l'ingresso nel mondo delle scienze forensi rientrano, insieme all'antropologia sopra citata, nella categoria delle discipline naturalistiche. La prima in ordine cronologico è l'entomologia, seguiranno le geoscienze ed infine la botanica.

Per vedere la consacrazione a scienza forense dell'entomologia sarà necessario fare temporalmente un passo indietro al 1850, quando Bergeret, un medico francese, risolse un caso di omicidio utilizzando gli insetti come indicatori dell'epoca della morte. Simile utilizzo della materia, anche se di un paio di decenni successivo, fu quello che vide coinvolto Lazzaretti a Padova (Benecke, 2001). Se queste prime applicazioni sfruttavano la determinazione dell'età dell'insetto più vecchio presente su un corpo per stimare l'intervallo post mortale, si dovrà attendere altri dieci anni per la comparsa della seconda tecnica di tipo entomologico per la stima dell'intervallo post mortale. Nel 1894 infatti Jean-Pierre Megnin individuò ondate prevedibili di insetti nella colonizzazione del cadavere, tali ondate si modificano con il modificarsi del cadavere stesso al procedere della decomposizione, cosicché l'ambiente, il cadavere, e i suoi abitanti, l'entomofauna, co evolvono con un andamento temporale prevedibile. Nel suo testo *La faune des cadavres. Application de l'Entomologie à la Médecine Legale*, l'autore descrive diversi gruppi di insetti, specifici per ogni stadio di decomposizione del cadavere, che Megnin chiama "squadre di artropodi". Questa scoperta fu in grado di estendere significativamente l'intervallo temporale sul quale l'entomologo potrebbe avere voce in capitolo nella stima del minimo PMI (Megnin, 1894).

Cambiando disciplina, la prima applicazione delle geoscienze al campo forense risale al 1904, quando George Popp, un geologo forense tedesco, portò per la prima volta in aula prove geologiche (Murray e Tedrow, 1975). Lo scienziato, coinvolto in un caso di omicidio, fu in grado di collegare un uomo alla sua vittima dimostrando la presenza degli stessi particolari minerali su un fazzoletto trovato sulla scena del crimine e sotto le unghie del sospetto. Dopo di allora si ricorse spesso all'uso di questo tipo di discipline in contrasto forense, noto è il caso del rapimento dell'onorevole Aldo Moro. Un'accurata analisi dei residui geologici presenti sui vestiti della vittima e sull'automobile all'interno della quale verrà rinvenuto il corpo, fu analizzata per localizzare il luogo dove questo era stato tenuto rinchiuso e i responsabili del rapimento (Lombardi, 1999).

Per concludere questo breve excursus storico, uno dei casi di cronaca più famosi del '900 vede la botanica diventare scienza forense. È il 1935 quando il figlio dell'eroe dell'aviazione americana Charles Lindbergh viene rapito dalla sua abitazione. Il bambino verrà trovato morto pochi giorni

dopo. L'analisi dendrocronologica effettuata da un esperto del legno del Forest Product Laboratory, Arthur Koehler, sulla scala utilizzata per il rapimento, porta a localizzare l'origine del legno e successivamente all'identificazione del responsabile (Graham, 1997).

1.2 L'ambiente corpo di Megnin

Naturalmente le tracce possono essere rinvenute in luoghi diversi connessi all'evento criminoso e su substrati diversi, tuttavia, per quella che è la prospettiva medico legale ed antropologica, un substrato più di tutti gli altri gioca un ruolo chiave, il cadavere.

Prendendo spunto dal famoso testo sopra citato di Jean-Pierre Mégnin (Megnin, 1894), padre della moderna entomologia forense e inventore del Metodo Successionale, il corpo può essere interpretato come un ecosistema dinamico che, nella sua evoluzione, influenza tutto ciò che interagisce con esso. Comprendere questo iter trasformativo del cadavere è fondamentale per comprendere come esso agisce nell'interscambio, ed in particolare, per quello che è il focus di questa trattazione, quali sono le sue potenzialità e i suoi limiti quale substrato accettore di tracce. Il corpo, infatti, dopo la morte passa attraverso una serie di processi trasformativi distruttivi, interrotti e rallentati da processi conservativi fino alla sua decomposizione in unità inorganiche elementari. La tanatologia e la tafonomia sono le discipline coinvolte nello studio di questi processi, fenomeni complessi soggetti a un numero quasi illimitato di variabili ma che tuttavia, in assenza di distruzione fisica, congelamento o trattamenti mirati alla conservazione, seguono uno schema prevedibile. La tanatologia si occupa dello studio dei fenomeni intrinseci che si verificano nell'organismo durante il passaggio tra la vita e la morte, e che consentono di accertare la realtà del decesso, identificabile, secondo l'attuale legislazione (diagnosi di morte Legge 29/12/1993 n. 578, Art. 1 e decreto ministeriale n. 136 dell'11 aprile 2008 art. 4, norme per l'accertamento e la certificazione di morte e durata dell'osservazione), nella cessazione irreversibile di tutte le funzioni dell'encefalo.

La Tafonomia si occupa invece di quei fenomeni estrinseci seguenti la deposizione del corpo, che determinano il passaggio di questo dalla biosfera alla litosfera, in contesto forense si usa il termine per indicare tutti i processi che interessano un corpo nell'intervallo compreso tra la morte ed il rinvenimento (Ubelaker, 1997; Blau, 2014).

Muovendoci nella sfera di interesse della tanatologia e procedendo in ordine cronologico, i primi cambiamenti post mortali visibili sono l'*algor mortis*, il *livor mortis* e il *rigor mortis*.

L'*algor mortis* è il raffreddamento del corpo dopo la morte. Durante la vita, il corpo mantiene una temperatura di circa 37°C (Knight, 2002). Dopo la morte, il corpo inizia a raffreddarsi e la temperatura tende a equilibrarsi con quella ambientale disperdendo il proprio calore per conduzione, convezione, irraggiamento ed evaporazione. In accordo con la legge di Newton la velocità della perdita di calore da parte di un oggetto che si raffredda all'aria a temperatura costante e in assenza di variabili è in rapporto di proporzionalità lineare con la differenza tra la temperatura dell'oggetto stesso e quella dell'ambiente ed è in relazione con la propria conduttività termica. Tuttavia, data l'eterogeneità dei tessuti che lo compongono il corpo non segue esattamente la legge di Newton ma procede secondo un andamento sigmoide decrescente con variazioni di temperatura meno rapide nelle prime ore dopo la morte e nelle ore più prossime all'allineamento tra la temperatura corporea e quella ambientale (circa 0,5°C/ora) e maggiori nelle fasi intermedie (circa 1°C/ora) (Puccini, 2003).

Il *livor mortis* (chiamato anche ipostasi) è il ristagno del sangue nel corpo dovuto alla gravità e alla mancanza di circolazione sanguigna come risultato della cessazione dell'attività cardiaca (Knight, 2002). Questi fattori fanno sì che il sangue si accumuli nei punti declivi del corpo, generando macchie

rosso-violacee. Questo fenomeno appare solitamente tra i trenta minuti e le quattro ore dopo la morte. Il *livor* presenta due diverse fasi, la prima è la fase mobile precedente alla coagulazione del sangue, se il corpo viene spostato in questa fase, il sangue si accumulerà nelle nuove aree di ristagno. Nella seconda fase invece il fenomeno è ormai fisso, il sangue si è coagulato, ciò fa sì che quando anche il corpo venga spostato le macchie ipostatiche rimangono nella posizione iniziale (Puccini, 2003).

Il *rigor mortis* è l'irrigidimento muscolare causato dal legame acto-miosinico delle fibre muscolari. I muscoli richiedono una molecola chiamata adenosina trifosfato (ATP) per decontrarsi; dopo la morte, le riserve di ATP del corpo sono rapidamente esaurite e i muscoli rimangono contratti fino a quando le fibre muscolari stesse iniziano a decomporsi per autolisi delle proteine strutturali. Il *rigor mortis* si rende manifesto prima nei muscoli piccoli poi in quelli di maggior volume immobilizzando prima le articolazioni provviste di muscolatura breve e poi quelle azionate dai muscoli più robusti pur comparando simultaneamente in tutti i distretti come dimostrato da molteplici studi che hanno quindi confutato l'assolutezza della Legge di Nysten (Puccini, 2003). Inoltre, oggi è ben noto quanto il fenomeno sia soggetto a molteplici fattori intrinseci ed estrinseci che ne possono influenzare tanto l'andamento quanto la cronologia, tuttavia generalmente il *rigor* inizia a manifestarsi diverse ore dopo la morte (2-3 ore), si estende a tutti i muscoli intorno alle 12 ore e si risolve intorno alle 72 con il medesimo andamento di comparsa (Knight, 2002).

Parallelamente ai fenomeni sopra descritti, dopo la morte, hanno avvio i processi decompositivi, che andranno convertire la materia organica del corpo in forma più semplice. La decomposizione si esplica attraverso due processi chimici essenziali, l'autolisi e la putrefazione. L'autolisi è un fenomeno asettico causato, dopo la morte della cellula, dal rilascio e dalla successiva attività incontrollata di enzimi intracellulari che rompono per idrolisi le componenti cellulari che possono servire da substrati catalitici, essa è ostacolata dal freddo e favorita da temperature medie (37°C).

La putrefazione è la degradazione microbica dei tessuti conseguenza del fiorire di batteri nel corpo che competono per l'energia che il corpo stesso rappresenta. Tradizionalmente si identificano quattro fasi della putrefazione:

1-*colorativa*: il cadavere assume una colorazione verdastria, dovuta alla presenza di idrogeno solforato prodotto dalla scissione delle sostanze proteiche, il quale si diffonde nei tessuti e si combina con il pigmento ematico liberato dalla lisi dei globuli rossi, formando la solfometeoemoglobina. Si ritiene tuttavia esistano altri emopigmenti verdi cadaverici. Tipicamente questo fenomeno ha inizio in corrispondenza dei quadranti addominali e, nello specifico, in sede iliaca destra, dove c'è una più alta concentrazione batterica e poi da lì si estende a tutto il corpo. La macchia verde nella sede sopra citata compare mediamente tra le 18 e le 36 ore dalla morte, in funzione della stagione e di vari altri fattori intrinseci ed estrinseci.

2-*enfisematosa*: con il procedere dell'attività dei batteri si va incontro allo sviluppo e accumulo di gas, con conseguente gonfiore del cadavere. Dal punto di vista colorativo, questa fase è associata a uno scurimento del corpo che assume un tono bruno verdastro. Questa fase si rende manifesta tra i tre e i sei giorni dopo la morte in estate e nell'ordine di qualche settimana in inverno, tempo necessario affinché i gas diffondano dall'intestino alla rete vascolare e quindi al tessuto sottocutaneo e alle cavità interne. Il cadavere subisce una generale distensione: l'addome si presenta tumido, il sottocutaneo è teso e crepitante per l'enfisema putrefattivo. Il volto è tumefatto, le palpebre le labbra sono rigonfie, i bulbi oculari e la lingua fanno protrusione generando la così detta facies negroide. L'addome è disteso e i gas si raccolgono in uno spazio cavitario, ad esempio lo scroto. In questa fase si possono osservare fenomeni di epidermolisi con formazione di bolle cutanee, l'epidermide di piedi e mani si stacca a modi guanto e capelli e peli si possono distaccare.

3-colliquativa: in questa fase i tessuti della vittima vanno incontro alla fusione putrida. Il lavoro della fermentazione distruttiva inizia assai precocemente ma si rende manifesto dopo circa 2-3 settimane dalla morte in estate e dopo alcuni mesi in inverno. A mano a mano che cessa la produzione dei gas il cadavere perde l'aspetto gigantesco che aveva assunto nello stadio precedente e il suo colore da verdastro diviene bruno-nerastro per trasformazione del pigmento ematico in ematina, in questa fase si sviluppa il tipico odore di ammoniaca. Gli organi e i tessuti colliquano ma non contemporaneamente bensì in tempi diversi in funzione della loro struttura parenchimatosa o fibrosa, della vascolarizzazione e delle condizioni di partenza (integrità e presenza di eventuali patologie). I prodotti ormai liquidi della lisi cadaverica si raccolgono nelle cavità e poi si diffondono all'esterno.

4-riduzione scheletrica: la riduzione scheletrica si completa in media dopo 3-5 anni pur con le variabili ben note, in condizioni ottimali un corpo può infatti scheletrizzare anche in poche settimane (Mann et al., 1990). Avvenuta la distruzione delle parti molli scompaiono poi i tessuti fibrosi tendine e cartilagine e restano solo le ossa. Il processo termina con la scomparsa di tutti i residui di tessuti molli, dopodiché anche il tessuto osseo andrà incontro a modificazioni con la progressiva disidratazione e polverizzazione (Puccini, 2003).

Se questo è l'iter di degradazione del cadavere, tuttavia, non tutti i suoi substrati condividono lo stesso destino con le medesime modalità e tempistiche; il corpo è composto da una molteplicità di elementi diversi con persistenza e proprietà proprie.

1.2.1 Stato dell'arte relativo a substrati dell'”Ambiente corpo”: caratteristiche fisiche e persistenza

Come sopra accennato il cadavere dispone di diversi substrati, principalmente: cute, capelli, unghie e ossa e tessuti molli. Qualora si indaghi il cadavere in qualità di accettore e trattenitore di tracce, può essere utile distinguere tali substrati in due macrocategorie: i substrati di interazione diretta e i substrati di interazione indiretta. I primi vengono definiti come quei substrati esposti al momento della morte, ossia che già al momento della morte interagivano con l'esterno e quindi ne raccoglievano le tracce. Nei substrati di interazione diretta rientrano quindi cute, capelli e unghie. I substrati indiretti invece sono quelli che non erano esposti al momento della morte quindi generalmente impossibilitati a raccogliere direttamente tracce dell'intervallo perimortale, tra questi si può annoverare l'osso, eccezion fatta naturalmente per particolari dinamiche lesive. Per praticità includeremo nei substrati corporei anche gli indumenti che, come è facile intuire, rientrano nella categoria dei substrati di interazione diretta.

Per ciascun substrato principale verrà indagata la morfologica e l'iter di degradazione post mortale, così da meglio comprendere il suo agire come accettore di tracce.

1.2.1.1 La cute

La cute risulta, per estensione (2m² di superficie nell'adulto) (Hughes, 2001) e posizione l'organo del corpo umano che più di tutti interagisce con l'ambiente esterno, esso ha infatti funzione di protezione da lesioni e invasioni, previene la disidratazione, regola la temperatura ed infine è responsabile del rilascio di sostanze di scarto e dell'assorbimento di alcuni nutrienti (Lawton, 2019). In tutte queste sue funzioni la cute interagisce quindi con l'ambiente esterno e durante questa interazione, soprattutto se violenta, ne raccoglie tracce. Proprio per questo, attualmente è prassi nella pratica medico legale il campionamento da cute di tracce quali residui di polvere da sparo, fluidi biologici, tracce da contatto e anche tracce di oggetti quali l'arma del delitto (WHO, 2003; RCPA, 2018; Romolo e Margot, 2001).

Nettamente meno standardizzata e routinaria è invece la raccolta di tracce ambientali, specialmente se microscopiche; tali indagini vengono poi del tutto trascurate nel caso di cadaveri mal conservati.

Struttura della cute

La cute è composta da due strati, uno più sottile esterno, conosciuto come epidermide e uno più interno noto come derma. L'epidermide è lo strato esterno, relativamente sottile e resistente composto prevalentemente da cellule dette cheratinociti. Questi hanno origine dalle cellule nello strato più profondo dell'epidermide, lo strato basale. I nuovi cheratinociti migrano lentamente verso l'alto in direzione della superficie dell'epidermide, quando hanno raggiunto la superficie della cute, gradualmente si sfaldano e vengono sostituiti da nuove cellule spinte anch'esse dal basso verso l'alto. La porzione più esterna dell'epidermide è nota come strato corneo. Questo strato non ha un suo apporto di sangue, i nutrienti gli vengono quindi forniti attraverso lo strato papillare del derma.

Il derma è la matrice di tessuto connettivo della pelle, fornisce sostegno strutturale, consente lo stoccaggio di acqua e interagisce con l'epidermide. Consiste in strati papillari e reticolari che contengono collagene e fibre di elastina, canali vascolari, ghiandole sudoripare, follicoli piliferi e nervi. Lo strato papillare fornisce ossigeno e nutrimento all'epidermide mentre lo strato reticolare è di fondamentale importanza per l'integrità della cute. La giunzione epidermide-derma è composta dalla membrana basale che è di aspetto ondulato con proiezioni digitiformi nel derma. Le funzioni di questo strato sono: fornire una membrana permeabile tra queste due strutture, influenzare le cellule dell'epidermide durante la differenziazione, consentire la crescita e la riparazione e permettere l'adesione dell'epidermide ai tessuti sottostanti.

Sotto il derma è presente uno strato di grasso che contribuisce a isolare il corpo dal caldo e dal freddo, fornisce un riempimento protettivo e serve quale deposito di riserve energetiche. Il grasso è contenuto in cellule viventi dette adipociti, tenute insieme da tessuto fibroso. Lo strato adiposo presenta uno spessore variabile (Lawton, 2019).

Alterazioni post mortali della cute-tanatologia e tafonomia della cute

Dopo la morte, la cute va incontro ad una serie di processi trasformativi indagati negli anni da diversi autori, tuttavia, di particolare interesse per il lungo lasso di tempo considerato, è quello di (Wei et al., 2020), gli autori analizzano in microscopia ottica i cambiamenti di un campione di cute umana a diversi intervalli dalla morte fino ad un massimo di 32 giorni. Questo lavoro verrà preso a riferimento per riassumere i cambiamenti che interessano epidermide e derma nell'intervallo post mortale.

Epidermide - lo strato epidermico non mostra alcun cambiamento evidente al momento della morte così come nel primo *post-mortem* (< 24 ore), la picnosi nucleare comincia infatti ad apparire nelle cellule dopo 24 ore. Con il prolungamento del PMI, la degenerazione cellulare e i cambiamenti graduali come la frammentazione nucleare e la lisi aumentavano gradualmente, il ventesimo giorno, le cellule epidermiche appaiono tutte dissolte. Il 24 giorno, il derma era completamente separato mentre a 32 giorni l'epidermide risulta completamente scomparsa.

Derma - i primi cambiamenti a livello del derma vengono osservati solo dopo 72 ore, quando è visibile un certo rigonfiamento delle fibre. Dal sesto giorno si osserva invece la dissoluzione focale delle fibre e dal sedicesimo si verifica un'estesa omogeneizzazione delle fibre stesse.

Considerando poi le diverse strutture cellulari presente nel derma, nessun cambiamento strutturale significativo viene osservato nelle ghiandole sebacee prima delle 84 ore, dopo 96 ore esse iniziano invece ad andare incontro a alterazioni visibili quali dissoluzione e scomparsa del nucleo dei sebociti, alterazione del citoplasma fino alla completa scomparsa della ghiandola sebacea dopo 28 giorni.

La ghiandola sudoripara non mostra alcun cambiamento evidente al momento della morte ma già dopo 24 ore, gli autori osservano vacuoli nel citoplasma delle cellule. Da quel momento si osserva un progressivo aumentare dei fenomeni degradativi fino a che, al trentaduesimo giorno, la ghiandola sudoripara non è più visibile.

Il follicolo pilifero non mostra alcun cambiamento evidente al momento della morte e fino alle 72 ore, tuttavia, dopo 16 giorni, la maggior parte delle cellule del follicolo pilifero non è più visibile e dopo 24 giorni nessuna struttura del follicolo pilifero è osservabile.

Simili cambiamenti, seppur su tempi più brevi, sono descritti da Bardale et al. (2020), tale discrepanza temporale tuttavia può trovare giustificazione nelle maggiori temperature presenti negli ambienti testati da quest'ultimo autore (4-6°C nello studio di Wei e colleghi rispetto a 23-37°C in quello di Bardale).

Oltre ai fenomeni intrinseci di cui sopra, la cute, influenzata da condizioni esterne particolari quali abbondanza di acqua e scarsità di ossigeno, ambienti umidi o al contrario clima secco e ventilato, può andare incontro ai fenomeni conservativi quali: corificazione, saponificazione e mummificazione.

La *corificazione* consiste in una trasformazione dei tessuti della salma che diventano macroscopicamente simili al cuoio a seguito di una modificazione del tessuto connettivo, dovuta al rallentamento dei processi putrefattivi. Essa è tipica dei cadaveri che si decompongono in ambienti umidi e chiusi (Dominicis et al., 2017).

La *mummificazione*, che essenzialmente consiste in una disidratazione dei tessuti e una generale perdita di peso del cadavere, risulta, a livello cutaneo, macroscopicamente simile alla corificazione; tuttavia, mentre nel primo caso il tessuto ha perso la sua struttura cellulare e conserva solo la rete di collagene, nel secondo la struttura cellulare è ancora integralmente conservata pur avendo perso la sua componente acquosa. Tale processo è favorito da ambienti asciutti come suoli molto drenanti in climi aridi ma anche da ambienti domestici se chiusi e asciutti e/o ventilati (Galloway et al., 1989). Questo fenomeno consente la conservazione di cute e tessuti molli in genere anche per lungo tempo (Mayer, 2012; Micozzi, 1991).

Vi è poi la *saponificazione* che consiste nella formazione di adipocera per l'idrolisi dei trigliceridi dei grassi neutri in acidi grassi, che vengono poi convertiti in acidi grassi saturi e idrossidi insolubili dall'azione di batteri anaerobi, in particolare il *Clostridium perfringens*. L'adipocera così formata, consistente in un materiale di colore compreso tra il bianco, il grigio ed il beige che presenta consistenza tra la crema e il gesso, sotto questa forma la cute ed i tessuti sottostanti possono persistere pressoché indefinitamente. Questo processo è tipico dei corpi che rimangono a lungo in acqua o in ambienti inondati o molto umidi e poveri di ossigeno (O'Brien e Kuehner, 2007).

1.2.1.2 I capelli

I capelli sono il secondo substrato di interazione diretta del corpo umano, essi infatti forniscono un enorme superficie di interazione con l'esterno (se si considera un valore medio di 20 cm di lunghezza, ed un diametro medio di 80 µm per capelli/pelo), inoltre sono piuttosto persistenti grazie alla cheratina che li compone e hanno un alto coefficiente di attrito grazie alle scaglie della cuticola che li ricopre (Velasco et al., 2009). Tuttavia, sono scarsamente riconosciuti quale substrato in contesto forense; molto più diffuso è il loro utilizzo quali tracce, utilizzati come strumento di identificazione, prima per mezzo del confronto morfologico poi tramite DNA (Houck e Budowle, 2002; Robertson e Aitken, 1986; Kolowski et al., 2004), o per le analisi tossicologiche (Daniel et al., 2004; Pragst e Balikova, 2006; Kintz et al., 2006; Sachs e Kintz, 1998; Boumba et al., 2006). Tra i pochi autori che hanno

svolto studi che sfruttano capelli e peli come substrato va ricordata Elisa Montali che propone la realizzazione di un calendario pollinico “criminale” attraverso la comparazione tra pollini rinvenuti su soggetti morti in diversi periodi dell’anno e dati stagionali sul particolato pollinico aereo. L’autrice campiona il particolato sul cadavere focalizzandosi su sopracciglia, cavità nasali pelle del viso e attaccatura dei capelli. Altri lavori indagano i capelli quali substrato per la raccolta di residui di sparo (Zeichner e Levin, 1993, 1995; Kage et al., 2001; MacCrehan et al., 2003) e come trattenitori di fibre (Salter e Cook, 1996), tuttavia molte tipologie di elementi non sono ancora contemplate in questo tipo di studi né tantomeno nella pratica medicolegale quotidiana.

Struttura dei capelli

Il capello è un’appendice cheratinizzata costituita da tre regioni anatomiche: cuticola, corteccia e midollo. I suoi componenti principali sono: cheratina (proteina prodotta dalla pelle, rende il capello resistente e flessibile), melanina (pigmento) e elementi metallici in tracce. Questi ultimi possono depositarsi sul capello durante la crescita e essere contaminanti assorbiti o adsorbiti dall’ambiente esterno.

In direzione prossimo-distale il capello è costituito da un fusto, che si proietta al di sopra della cute e una radice, che invece attraversata l’epidermide affonda nel derma, la parte terminale della radice si espande a formare il bulbo, la cui morfologia e funzione sarà soggetta alle diverse fasi di crescita del capello stesso. Il ciclo di crescita del capello si compone infatti di tre fasi: Anagen, Catagen e Telogen. La prima è la fase di crescita, ha una durata compresa tra i due e i sei anni, si tratta di una fase attiva durante la quale il capello non cessa mai di allungarsi. All’Anagen segue una fase di progressiva sospensione delle funzioni vitali, detta Catagen, essa ha una durata compresa tra una e tre settimane. Il ciclo termina poi con l’ultimo stadio, detto Telogen, che dura tra i due e i quattro mesi, durante il quale le attività vitali sono completamente cessate.

Analizzando il capello in sezione si può osservare:

La *cuticola*, più esterna, costituisce uno strato di scaglie che ricoprono il fusto, è formata da un’unica fila di cellule trasparenti e appiattite che si sovrappongono in direzione longitudinale in senso baso-apicale e lateralmente in modo da circondare l’intera struttura del capello. Si tratta di una struttura compatta con funzione difensiva, sulla superficie è presente un film idrolipidico composto da 10% di acqua e 90% lipidi del sebo. La forma e il tipo di sovrapposizione delle cellule della cuticola è caratteristica per le diverse specie animali (Robbins, 1994).

Sotto la cuticola vi è la *corteccia*, porzione quantitativamente dominante, formata da cellule allungate e fusiformi. La corteccia contiene: cellule di riempimento piene di aria dette fusi corticali, pigmenti (melanina che dà la colorazione al capello) e cellule ovoidali dette corpi ovoidali. I corpi ovoidali hanno forme irregolari e spazi pieni di aria di varia forma e dimensioni. Si trovano di norma vicino alla radice, in capelli umani maturi, ma anche nel fusto. I pigmenti sono strutture piccole, scure e solide dalla forma granulare, ci sono due tipi di pigmenti: l’eumelanina nera-marrone (che contribuisce alla colorazione scura) e la feomelanina rosso-bionda (che contribuisce alle colorazioni chiare). Il tipo di melanina contenuta, la sua distribuzione e la densità dei granuli concorrono alla determinazione del colore del capello. Le strutture ovoidali infine sono corpi solidi di grosse dimensioni, con aspetto da sferico a ovoidale e margini regolari, non sempre presenti nei capelli umani.

Infine, nella porzione più interna, si trova il midollo, che può essere o meno presente nel capello. Il midollo dei capelli umani, se presente, occupa solo una piccola parte dell’intero capello e si ritiene

che contribuisca in minima parte alle proprietà meccaniche dello stesso (Robbins, 1994; Wei et al., 2005).

Il *midollo* è formato da una colonna di cellule che, collassando le une sulle altre, determinano una struttura cellulare delimitante spazi pieni d'aria. Esso può non essere presente in tutti i capelli umani, specialmente in quelli più sottili; generalmente l'aspetto della trama cellulare è globulare e irregolare, caratteristica che lo differenzia da altre specie animali. Il midollo può essere continuo lungo l'asse dell'intero capello, tranne che in punta e alla radice, o discontinuo; quando è discontinuo il midollo può essere interrotto trasversalmente a intervalli regolari da materiale corticale (midollo interrotto) o può presentare delle irregolarità costituite da piccole quantità immerse nella corteccia (midollo frammentato). Occasionalmente i capelli possono presentare un doppio midollo (Robertson, 1999).

Alterazioni post mortali del capello-tanatologia e tafonomia del capello

La cheratina, di cui il capello è in buona parte costituito, è riconosciuta come recalcitrante a molti enzimi proteolitici comuni, e come tale, solo i microrganismi cheratinolitici, che producono enzimi cheratinasi, hanno la capacità di sfruttarla come fonte di nutrimento, a meno che queste strutture non abbiano già subito qualche alterazione (Gupta e Ramnani, 2006). La persistenza del capello fa sì che in circostanze eccezionali possa perfino accadere che tutto ciò che rimane di un corpo siano i cheratotici, come capelli e unghie, ciò accade generalmente quando dominano, nell'ambiente di deposizione, basse temperature e/o acqua impregnata di acidi. Queste condizioni infatti distruggono le strutture mineralizzate come ossa e denti. Tuttavia, anche i capelli non sono immuni da deterioramento (Wilson e Tobin, 2010a).

I capelli possono presentarsi già indeboliti al momento della morte o indebolirsi nell'intervallo post mortale ad opera di agenti fisici; è il caso dell'abrasione fisica della cuticola esterna, che genera danni ai margini delle singole cellule della cuticola fino alla rottura e alla perdita della stessa con conseguente esposizione della corteccia sottostante e separazione delle cellule corticali (doppie punte). Questo fenomeno può presentarsi a causa di trattamenti aggressivi quali spazzolamento eccessivo o abrasione dovuta al contesto di deposizione. Un'altra fonte di alterazione fisica per i capelli, ante o post mortale, è il calore, i capelli infatti hanno un significativo contenuto d'acqua e calore eccessivo dato da trattamenti o condizioni ambientali particolari, può causare gonfiore e quindi danni fisici ai capelli (Christian et al., 2011).

Tali cambiamenti progressivi sono chiamati "weathering" e data la natura incrementale del capello si presentano di solito maggiormente sulle punte a causa del danno cumulato (Bottoms et al., 1972; Dawber, 2002). Anche i cambiamenti fisici del capello dovuti all'invecchiamento possono influenzare la loro suscettibilità all'alterazione da agenti esterni, ad esempio l'aumento della midollosità delle fibre insieme alla diminuzione della pigmentazione, possono offrire una maggiore superficie all'attacco chimico e biologico, oltre a ridurre la quantità di pigmento (Messenger, 2011; Van Neste e Tobin 2004).

Dal punto di vista chimico, condizioni fortemente acide o alcaline, dovute a fattori ambientali *post mortem* o ad azione di trattamenti *ante mortem* (quali tinture o in generale spray e gel a base alcolica), possono denaturare il capello (Gavazzoni Dias, 2015; Miranda-Vilela et al., 2014; Tate et al., 1993). Tuttavia, data la natura leggermente acida della cute, sono le condizioni alcaline a risultare maggiormente aggressive sulla cheratina, nondimeno condizioni di acidità o alcalinità marcata possono denaturare la cheratina. I pigmenti, eumelanina e feomelanina, possono subire alterazioni che determinano modificazioni nel colore del capello stesso in condizioni sia ossidanti che riducenti;

tuttavia, questo generalmente richiede condizioni estreme di essiccazione o un estremo ristagno d'acqua. In queste circostanze l'eumelanina, meno stabile della feomelanina, si decolora (condizioni ossidanti) o diventa rossa (condizioni riducenti), determinando un accentuarsi della colorazione rosso-gialla (Wilson, 2017).

Per quanto riguarda l'alterazione biologica, come accennato, solo le specie cheratinolitiche possono sfruttare i capelli e le unghie come unica fonte di nutrimento, tuttavia questi funghi hanno una distribuzione geografica abbastanza diffusa, essendosi coevoluti con uomo e altri animali (Chermette et al., 2008; Nweze, 2011; Okafor e Ada, 2000; Spiewak e Szostak, 2000; Weitzman e Summerbell, 1995; Abdel-Fattah et al., 1982; Deshmukh e Verekar, 2014; Filipello Marchisio et al., 1991; Kaul e Sumbali, 1997). Anche alcuni batteri e attinobatteri possono sfruttare la cheratina come unica fonte di nutrimento (Brandelli et al., 2010; Kornilowicz-Kowalska e Bohacz, 2010, 2011).

I funghi cheratinolitici agiscono sulla fibra capillare attraverso la produzione di ife con le quali penetrano nel capello andando ad attaccare i legami disolfuro del substrato di cheratina (Deshmukh e Agrawal, 1982, 1985; English, 1963; Kunert e Krajci, 1981). Si generano così lesioni ovoidali che sfociano nei cosiddetti "tunnel fungini" (DeGaetano et al., 1992) che inizialmente corrono perpendicolarmente all'asse principale della fibra e successivamente si ramificano lateralmente all'interno di corteccia e midollo. Inoltre, una volta che il cambiamento biologico o chimico è stato avviato, il tessuto diventa accessibile allo sfruttamento da parte di una gamma più ampia di batteri e funghi, che possono penetrare oltre la cuticola e utilizzare le strutture interne meno resistenti dal punto di vista chimico e i prodotti di degradazione (Wilson AS et al., 2010b; Wilson et al. 2007a).

Considerando infine i cambiamenti della fibra capillare connessi alla decomposizione del corpo i capelli possono andare incontro, durante la fase umida della decomposizione, al distacco dal corpo a seguito del distacco dell'epidermide. La fibra capillare può poi subire cambiamenti in corrispondenza dell'estremità prossimale con il generarsi *post mortem* di un bandeggio sulla radice (Koch et al., 2013) la cui velocità di comparsa va di pari passo con quella della decomposizione. Anche insetti tipici delle fasi tardive della decomposizione cadaverica possono attaccare la fibra capillare, è il caso della famiglia Dermestidae e Tineidae le cui larve sono in grado di sfruttare la cheratina che attaccano grazie ad un apparato buccale masticatore e digeriscono grazie ad enzimi cheratinolitici (Cohen, 2015).

1.2.1.3 Le unghie

Le unghie sono annessi cutanei con funzione protettiva rispetto alle falangi e ai tessuti dell'estremità del dito. Anche le unghie costituiscono un substrato di interazione diretta con l'esterno anche se forniscono una superficie nettamente inferiore rispetto a quelli precedentemente trattati. Esse sono da lungo tempo oggetto di indagine criminalistiche soprattutto nel campo della genetica e della tossicologia, per quanto riguarda la prima disciplina è ormai prassi consolidata il campionamento e l'analisi del residuo iponichiale in tutti i casi di morte nel quale si sospetti l'intervento di una terza persona o in presenza di altri reati, quali la violenza sessuale (Protocolli GEFI, AILF, FBI). Spostandoci invece sulla tossicologia forense l'unghia diventa oggetto di studio in quanto tale; infatti, essa risulta un prezioso archivio di informazioni relative al consumo di farmaci e droghe ma anche all'esposizione, per esempio, a metalli pesanti da parte della vittima durante un periodo di vita piuttosto lungo, fino anche ad alcuni anni precedenti la morte (Cappelle et al., 2015; Hussein et al., 2008; Picozzi e Intini, 2009). Raro, tuttavia, è l'uso dell'unghia quale substrato per la raccolta di tracce ambientali o merceologiche dal residuo iponichiale.

Struttura dell'unghia

La lamina ungueale, comunemente detta unghia, è formata da cheratinociti differenziati detti onicociti, cellule cheratinizzate piatte che non desquamano ma si sovrappongono nell'unghia formando una superficie piatta, dura e resistente, con una certa elasticità e traslucenza. La lamina ungueale umana è formata da un 80% di alfa cheratina più resistente e dura e da un 20% di beta cheratina più morbida. La lamina ungueale varia notevolmente in spessore (Mogensen et al., 2007) e nel tasso di crescita, tra le unghie delle mani e dei piedi, essa comprende tre strati principali strati che vanno dalla superficie esterna dura, densa e liscia (~200 µm, di spessore), composta da solo poche cellule, al più sottile strato ventrale, che collega la lamina ungueale con il letto ungueale sottostante. Infine, vi è lo strato intermedio, con una struttura fibrosa che è orientata perpendicolarmente alla direzione di crescita dell'unghia.

Alterazioni post mortali dell'unghia-tanatologia e tafonomia dell'unghia

Le unghie hanno una composizione molto simile a quella del capello e con esso condividono molti dei processi degradativi come il danno fisico da calore eccessivo che può indurre deformazione della struttura dell'unghia o danni chimici da condizioni acide estreme o alcaline ma in generale come i capelli anche le unghie hanno buona tolleranza ad un ampio intervallo di pH. Come i capelli sono suscettibili all'azione di organismi cheratinolitici quali funghi, batteri e insetti, infine, come i capelli, possono distaccarsi dal cadavere durante le fasi di decomposizione umida quando si ha lo scollamento dell'epidermide (Wilson, 2017).

1.2.1.4 L'osso

L'osso è il primo e unico substrato di interazione indiretta che verrà considerato in questa sede; tuttavia, la sua inclusione trova ragione nell'estrema persistenza che lo distingue da altri substrati indiretti e nella sua estensione. Tutto ciò lo rende un prezioso in tutti quei casi in cui i substrati diretti ed in particolare la cute, che gli corrisponde come posizione, non siano più disponibili.

L'osso, anche se non ancora in modo routinario, è indagato sovente alla ricerca di tracce riconducibili a lesività, quali colpi di arma da fuoco o lesività da arma bianca in tutti quei casi in cui esso sia rimasto il solo substrato a poter conservare tali tracce, ma anche in presenza di cadaveri relativamente ben conservati. Molteplici, infatti, sono i casi in cui la lettura dell'osso si rivela un valido supporto per l'interpretazione della lesività, qualora naturalmente l'evento sia stato tale per tipologia ed intensità da attingere l'osso (Spitz, 1993; Pechníková et al., 2012; Gibelli et al., 2012; Taborelli et al., 2012). Inoltre, l'osso può essere un valido substrato al quale ricorrere quando i substrati diretti siano ormai in decomposizione, stato che cela e altera pressoché ogni tipo di traccia. Anche in questo caso ben meno comune è l'indagine dell'osso per la ricerca di tracce ambientali o merceologiche.

Struttura dell'osso

Il tessuto osseo è un tessuto dinamico e plastico che si modifica rispondendo a stimoli organici e meccanici. Esso è formato da una parte organica ed una parte inorganica: la prima composta da quattro tipi di cellule: le cellule osteoprogenitrici, gli osteoblasti, gli osteociti e gli osteoclasti che provvedono all'accrescimento, alla produzione e al riassorbimento del tessuto osseo. Alla componente cellulare si affianca la matrice extracellulare composta da sostanza amorfa e fibre collagene di tipo I, che conferisce robustezza ed elasticità al tessuto. La parte inorganica è costituita

da numerosi sali minerali come i fosfati di calcio e magnesio e i citrati di Na, Mn, K, questa componente conferisce al tessuto osseo compattezza e durezza.

Tornando alle cellule del tessuto osseo, le cellule osteoprogenitrici, sono cellule di origine mesenchimale con proprietà staminali: esse possono proliferare e differenziare in osteoblasti. Si trovano nel periostio e nell'endostio: riattivate provvedono alla formazione di nuovo tessuto osseo.

Gli osteoblasti sono i precursori degli osteociti, sono cellule voluminose, altamente polarizzate con funzioni osteogeniche, provvedono alla produzione sia della matrice organica che alla deposizione di quella inorganica.

Quando gli osteoblasti hanno terminato la formazione dell'osso, rimangono intrappolati all'interno di lacune nella matrice da loro stessi prodotta, diventando osteociti. Gli osteociti sono cellule di forma irregolare, con un nucleo ben evidente e un citoplasma che presenta diversi prolungamenti. Essi sono alloggiati nelle lacune ossee dalle quali si dipartono, in ogni direzione, numerosi canalicoli. Attraverso questi canalicoli i prolungamenti citoplasmatici di osteociti diversi prendono contatto tra di loro tramite giunzioni comunicanti e con capillari sanguigni presenti nei canali ossei, permettendo così scambi metabolici tra gli osteociti stessi e tra osteociti e sangue. Gli osteociti provvedono al mantenimento della matrice extracellulare dell'osso.

Gli osteoclasti sono deputati al riassorbimento e al rimaneggiamento del tessuto osseo. Sono cellule plurinucleate, altamente polarizzate: quando attivate presentano una faccia citoplasmatica in prossimità dell'osso con increspature molto mobili ed aderiscono alla superficie dell'osso creando un microambiente isolato da quello circostante che viene acidificato. Questo processo porta all'erosione della matrice ossea e alla formazione di una depressione definita lacuna di Howship.

Il tessuto osseo si organizza poi in due strutture differenti: tessuto osseo non lamellare e tessuto osseo lamellare, il primo è presente durante la vita prenatale o durante processi particolari quali quelli riparativi, il secondo invece è tipico della maggioranza dei mammiferi adulti. Il tessuto osseo lamellare si divide in tessuto osseo lamellare compatto, composto prevalentemente da lamelle concentriche complete, attraversato da numerosi canali contenenti vasi sanguigni e dotti linfatici, è presente ad esempio nelle diafisi. Vi è poi il tessuto osseo lamellare spugnoso, composto da lamelle incomplete, incastonate fra di loro a formare un reticolo tridimensionale di trabecole ossee che viene a delimitare uno spazio labirintico ripieno di midollo osseo, tipico per esempio delle epifisi.

Nel tessuto lamellare compatto le lamelle ossee sono organizzate in strati concentrici a formare gli osteoni, in cui gli osteociti sono posti circolarmente, secondo diverse orbite, intorno a canali, detti canali di Havers, contenenti uno o due piccoli capillari sanguigni. I vari canali di Havers comunicano tra di loro grazie ad altri canali posti trasversalmente od obliquamente, detti canali di Volkmann, anch'essi contenenti capillari sanguigni. Le sostanze nutritive arrivano agli osteociti tramite la rete capillare e vengono distribuite mediante la fitta rete di prolungamenti citoplasmatici che li collegano. Gli spazi che si creano fra i diversi osteoni sono occupati da frammenti di osso lamellare di forma e dimensioni variabili, detti sistemi interstiziali. I confini fra gli osteoni e i sistemi interstiziali sono rilevabili da uno strato di tessuto connettivo rifrangente detto linea cementante. La superficie ossea a contatto con il periostio e l'endostio è formata da lamelle disposte parallelamente alla superficie libera dell'osso; queste lamelle sono chiamate lamelle circonferenziali (Atlante di Istologia- Università di Genova).

Alterazioni post mortali dell'osso-tanatologia e tafonomia dell'osso

L'osso è un tessuto resistente, la cui alterazione è visibile solitamente su tempi piuttosto lunghi, tuttavia, come tutti i substrati organici, non ne è immune, esso può andare incontro ad una serie di

fenomeni post mortali imputabili a differenti agenti tafonomici biotici e abiotici. Uno di questi fenomeni è la formazione di macchie da contatto che vanno ad alterare il classico colore giallognolo dell'osso; macchie possono generarsi come esito del contatto con metalli e loro ossidi, è il caso delle macchie verdi del rame o di quelle marrone rossicce del ferro, ma anche di contatto con il suolo che può causare uno scurirsi del tessuto osseo e la comparsa di macchie marroni. La presenza poi di particolari minerali nel suolo può produrre in aggiunta macchie diverse come quelle bianche del calcio o quelle nere del manganese. Anche la presenza di acqua percolante nel suolo può indurre la formazione di macchie di diverso colore.

Un altro fattore di alterazione è il sole, prolungata esposizione all'irradiazione solare può produrre uno sbiancamento di ossa e denti, unita ad una maggior fragilità e leggerezza.

Le ossa possono inoltre andare incontro a deformazione plastica a seguito della pressione dei sedimenti o dell'acqua nel suolo, l'esposizione per lungo tempo all'acqua o ad ambienti molto umidi inoltre può indurre erosione superficiale, con perdita progressiva dell'osso corticale.

Vi è poi l'insieme delle fratture post mortali, indotte da agenti diversi quali perdita di umidità, che genera solitamente fratture longitudinali superficiali ma anche a tutto spessore in alcuni casi. Riconducibili alla perdita di acqua sono anche le fratture da fuoco, in questo caso si tratta però di un evento estremamente brusco che può generare fratture longitudinali intersecate da corte fratture trasversali. Il fuoco, tuttavia, è un potentissimo fattore di alterazione che lascia diversi tipi di tracce, in funzione dello stato dell'osso e della temperatura del fuoco, tali cambiamenti si esplicano principalmente come cambiamenti di colore e appunto le sopra citate fratture. I cambiamenti di colore sono legati all'umidità e alla perdita di collagene e iniziano come uno scurimento localizzato, il tessuto assume tonalità sul marrone, questa fase è seguita dalla colorazione nera, se l'osso è stato sottoposto a temperature intorno ai 100-200 °C. Gli elementi anneriti indicano che l'osso è carbonizzato e ha raggiunto temperature intorno ai 300 °C. Le ossa e i denti diventano poi blu scuro, grigio blu e grigio con temperature vicine ai 600 °C, intorno ai 700 °C infine l'osso inizia a calcinare, fino a quando diventa totalmente bianco, quando quasi tutto il collagene è ormai bruciato (Symes et al., 2015).

Tornando alle fratture, anche l'azione combinata di fattori atmosferici (temperatura, cambi di umidità e irradiazione solare) può indurre fratture longitudinali, si parla di *weathering*, in questo caso esse saranno associate a schiarimento della superficie che apparirà rugosa al tatto, si potrà avere anche delaminazione della superficie e perdita di peso. Va citato a questo proposito la classificazione dei diversi stadi di *weathering* dell'osso ad opera di Behrensmeyer (1978).

Tra gli agenti di alterazione biologica vi è poi la classe delle alterazioni dovute all'azione di animali, essenzialmente carnivori e roditori e quella dovuta all'azione di vegetali, in particolare radici e alghe. Sia le radici che le alghe possono lasciare sull'osso tracce cromatiche e, nel caso delle radici, anche veri e propri solchi (Schultz, 1997; Pokines, 2014).

1.2.1.5 I denti

I denti sono un altro substrato di interazione diretta dalle enormi doti di persistenza, naturalmente la loro collocazione li rende substrati il cui coinvolgimento è meno frequente rispetto a quelli fin ora trattati; tuttavia, possono risultare preziosi per la raccolta di materiale genetico in caso di colluttazione, ma anche merceologico in analoghe circostanze. Attualmente i denti vengono utilizzati comunemente a scopo identificativo tramite sovrapposizione di calchi, materiale radiografico, fotografico o tramite l'analisi dei così detti *bite marks*, ma anche per mezzo di tecniche biomolecolari data l'elevata persistenza di tale struttura (Shah et al., 2019). Sul dente come sugli altri tessuti possono

venir inoltre ricercate tracce di lesività e perfino tracce ambientali infatti è relativamente diffusa, in ambito archeologico l'analisi del tartaro dentale, placca batterica mineralizzata (Radini et al., 2017), e di ciò che in esso può trovarsi (amido, fitoliti, fibre, residui animali quali scaglie di pesce o frammenti di osso), indagini che hanno lo scopo di condurre analisi paleo nutrizionali di popolazioni del passato ma anche l'obiettivo di comprenderne occupazione e ambienti di vita. In contesto forense al contrario la ricerca di tracce ambientali dal dente è poco diffusa poiché l'analisi del tartaro per sua stessa natura non permette di indagare l'intervallo peri mortale o post mortale ma solo quello *ante mortem* e poiché, non protetto dal deposito minerale, il materiale che passa per la cavità orale tende facilmente a venir perso o deteriorato.

Struttura del dente

I denti sono composti principalmente da tre tessuti: smalto, dentina e cemento. Lo smalto è la parte del dente esposta che riveste la corona (la porzione emersa del dente nella cavità buccale), esso è composto per circa il 99% da componente minerale acellulare. La dentina costituisce, dal punto di vista volumetrico, la maggior parte del dente; è al di sotto dello smalto e forma la radice (porzione del dente che rimane all'interno dell'alveolo. Al suo centro si trova la camera della polpa che ospita nervi e vasi sanguigni. La dentina è per circa il 75% minerale e, sebbene non abbia corpi cellulari distribuiti, ha uno strato di cellule viventi che rivestono la cavità pulpare, rendendola un tessuto vivo. Il cemento riveste la radice ed è composto da circa il 65% di sostanza minerale (Ten Cate, 1994).

Alterazioni post mortali del dente-tanatologia e tafonomia del dente

Pur essendo il dente una struttura piuttosto resistente anche esso va incontro a diversi tipi di alterazione, in particolare i principali rientrano nella categoria dell'alterazione meccanica e dell'alterazione termica, da calore. Le fonti di alterazione meccanica possono essere molteplici e la conseguenza di questo tipo di danno potrà essere sia la frammentazione del singolo dente che la frammentazione dell'arcata dentaria con conseguente dispersione degli elementi dentari, questo può avvenire a seguito di un impatto violento, è il caso per esempio degli incidenti aerei. I danni termici sono di solito documentati sia come fratture che come cambiamenti di colore. I cambiamenti di colore del dente a seguito dell'esposizione al calore non procedono esattamente in parallelo con quelli dell'osso; tuttavia, il pattern generale è il medesimo, i denti che sono esposti a temperature più basse e/o a durate di calore minore tendono ad essere di colore nero scuro o marrone. Con l'aumentare della temperatura e/o della durata, i denti assumono colorazione grigio-blu, poi bianco gesso quando oramai hanno raggiunto la calcinazione. In questa fase, la maggior parte delle proteine e dell'acqua sono bruciate ed evaporate e tutto ciò che rimane sono i componenti inorganici. Tuttavia, poiché i denti hanno una composizione eterogenea, costituita da tessuto con diverso contenuto minerale, essi non si modificano uniformemente. Un dente isolato può avere frammenti di smalto apparentemente incombusti e allo stesso tempo dentina nera o grigia. Questa differenza si verifica perché la dentina ha un contenuto maggiore di materiale non mineralizzato che brucia e porta a cambiamenti di colore, lo smalto invece è già quasi interamente minerale, nelle prime fasi i cambiamenti saranno più modesti. Anche il modello di frattura, che si trova nei denti bruciati è simile a quella dell'osso, anche se alcuni tipi di fratture sono più comuni negli elementi dentari. Generalmente, le radici si fratturano trasversalmente, mentre le corone tendono a fratturarsi lungo i solchi tra le cuspidi dove il tessuto è più sottile. Un altro pattern abbastanza tipico del dente combusto, dovuto proprio alla eterogeneità della sua struttura, vede il distacco dello smalto e il restringimento della dentina con conseguente totale perdita dell'integrità dell'elemento dentario (Schmidt e Symes, 2015).

Un altro agente di alterazione importante per gli elementi dentari, che può in condizioni estreme portare alla distruzione del dente stesso è il pH, in caso di permanenza in suoli estremamente acidi, con pH inferiore al 5.3 infatti, il tessuto viene demineralizzato al punto che nulla del dente si conserva (Gordon e Buikstra, 1981).

1.2.1.6 Gli indumenti

Gli indumenti, pur non facendo parte dei substrati corporei veri e propri costituiscono una sorta di seconda pelle e di conseguenza, spesso più di quest'ultima, si trovano ad interagire con l'ambiente in contesto ordinario così come in quello straordinario come l'intervallo perimortale.

Gli indumenti sono un substrato piuttosto noto come accettore e trattenitore di tracce e numerosi sono gli studi che li sfruttano per la ricerca e l'analisi di tracce di varia natura, prevalentemente inorganiche come i residui di sparo (Maitre et al., 2017), ma anche organiche come i fluidi biologici (Sterzik et al., 2016), tracce ambientali quali pollini (Mildenhall, 2006) o diatomee (Scott et al., 2014; Uitdehaag et al., 2010).

Struttura dei tessuti

I vestiti sono ormai parte della vita di tutti i giorni e quindi risulteranno spesso presenti anche in contesti forensi ed archeologici dove costituiscono, oltre che una preziosa fonte di informazioni di tipo culturale, anche un prezioso substrato per la raccolta di tracce biologiche o abiotiche utili a comprendere elementi essenziali, quali la dinamica della morte o l'epoca della stessa. Gli indumenti possono essere composti da fibre naturali e artificiali intrecciate tra loro a comporre una superficie piana; le prime possono avere origine animale o vegetale, le seconde, comparse verso la metà del ventesimo secolo (Hearle e Schwaller 2011; Mather e Wardman 2011), derivano da un grande numero di polimeri sintetici. Entrambe vengono lavorate fino a produrre dei filati e poi intrecciate in tessuti differenti in funzione del loro utilizzo. Dopo questa prima fase possono andare incontro ad altri processi, estremamente comune è la fase di tintura ma possono essere sottoposti anche a processi fisici che ne alterano l'aspetto e processi chimici con l'obiettivo di conferire al tessuto particolari proprietà come l'impermeabilità e infine processi biologici che possono alterarne la struttura fisica finale.

Tra le fibre naturali se ne annoverano quattro principali: il lino, noto per essere stata la prima fibra utilizzata dall'uomo, è prodotto dagli steli della pianta del lino (Janaway 2002; Goffer 2007). Le fibre di lino sono estratte da un processo batterico noto come macerazione, che ha il compito di separare lignine e pectine così da scindere il nucleo dalla corteccia interna ed esterna, sarà quest'ultima che andrà a comporre le fibre di lino una volta rimossa ed essiccata. Oltre a contenere circa il 70% di cellulosa (un polisaccaride composto da monomeri di glucosio), il lino contiene anche emicellulosa, lignina e pectina, che producono una matrice in grado di conferire particolare forza e rigidità a questo tessuto. Quest'ultimo è ad oggi una delle fibre naturali di origine vegetale più usata, è utilizzato in forma pura o in miscele con fibre sintetiche (Goffer 2007; Janaway 2002).

La fibra di cotone è ottenuta dalla bambagia del seme di cotone ed è composta prevalentemente da cellulosa (90-99%).

Vi sono poi le fibre di origine animale, principalmente, lana e seta. La prima è ottenuta dal vello delle pecore ed è stata utilizzata nei tessuti per migliaia di anni, risultando la fibra dominante per l'abbigliamento fino alla comparsa dell'industria del cotone nel XIX secolo (Goffer, 2007; Janaway, 2002; Zahn et al. 2003).

La seta è secreta dalle larve di una particolare specie di falena è composta principalmente dalla proteina fibrosa fibroina; il suo uso come fibra tessile molto pregiata, risale a diverse migliaia di anni fa in Cina (Goffer, 2007; Janaway 2002, 2008).

Sono quattro anche i principali tipi di fibre sintetiche: poliestere, nylon, acrilico e poliolefina (Fenichell, 1996; Mather e Wardman, 2011). Il poliestere è usato da solo o misto a fibre di cotone, esso può vantare delle ottime proprietà meccaniche e una buona capacità di trattenere il colore. Il nylon invece è un poliamide nato espressamente con l'intento di creare un sostituto sintetico alla seta. Le fibre di acrilico sono copolimeri, che contengono almeno l'85% di acrilonitrile, un copolimero composto da monomeri quali l'acetato vinilico o il metil acetato. Le fibre di olefina e includono polietilene e polipropilene. Vi sono poi altri tipi di tessuti sintetici meno noti, quali la viscosa, nome comune per indicare una cellulosa rigenerata ottenuta dalla precipitazione della cellulosa in una soluzione acida. Infine, vi sono fibre metalliche, composte da metallo puro o da una fibra polimero coperta di metallo, tra i metalli utilizzati via loro l'argento, utilizzate fin dall'antichità, sostituiti oggi dall'alluminio.

Infine, tra i tessuti naturali, non si può dimenticare la pelle, la pelle animale è tradizionalmente usata per produrre indumenti; tuttavia, deve essere sottoposta a processi che ne favoriscono la conservazione e l'impermeabilizzazione e che le attribuiscono delle buone proprietà meccaniche (Cronyn, 1990; Goffer, 2007; Kite e Thomson, 2006). Questo procedimento è definito concia delle pelli, un procedimento chimico che ha lo scopo di legare le proteine e creare una struttura che sia meno solubile in acqua, una volta conciata la pelle viene lubrificata con oli o grassi per renderla maggiormente morbida.

Alterazioni dei tessuti

La conservazione dei tessuti dipende da un numero molto elevato di fattori tra questi l'attività di insetti, animali necrofagi ma anche ad esempio la presenza di microrganismi, fluidi di decomposizione, il tasso di umidità, la temperatura, il pH, l'elettrochimica della superficie in esame. Come questi fattori influiranno sul tessuto dipende dalle caratteristiche del tessuto stesso.

La biodegradazione è il principale processo di degradazione delle fibre tessili in ambiente, microrganismi inclusi batteri e funghi producono enzimi in grado di attaccare le molecole dei polimeri sia di fibre naturali che di fibre sintetiche. La presenza e la tipologia di microrganismi del suolo è correlata a diversi fattori, quali la presenza o assenza di ossigeno nel suolo ma anche alla quantità di acqua, i batteri richiedono un ambiente umido ma non inondato in quanto suoli perennemente inondati sono correlati a scarsi quantitativi di ossigeno. Anche la temperatura è un fattore importante, i batteri tendenzialmente vivono in un *range* compreso tra i 10 e 40 gradi e hanno il loro optimum tra i 25 e i 35, quindi temperature estreme possono favorire la conservazione dei tessuti. Inoltre, il pH influisce sulla conservazione, i batteri del suolo tendenzialmente sono presenti in un range di pH compreso tra 4 e 10. Inoltre, la presenza di particolari metalli a contatto con il tessuto può favorirne la conservazione inibendo l'attività batterica, è il caso per esempio delle leghe di rame o dei metalli ferrosi, che generano delle condizioni chimiche che inibiscono l'attività microbica (Chen et al., 1998; Janaway 1987, 1996, 2002, 2008). Infine, i particolari trattamenti che il tessuto ha subito in fase di lavorazione possono influire sulla sua conservabilità, alcune sostanze possono inibire l'attività microbica ma anche particolari tipi di tessitura possono rendere il materiale meno soggetto all'alterazione: i tappeti, per esempio, per la loro struttura complessa e fitta risultano meno soggetti all'alterazione microbica rispetto a tessuti più delicati quali quelli destinati all'abbigliamento (Heywood, 2003).

Il cotone è particolarmente suscettibile alla degradazione a causa del suo alto contenuto in cellulosa, agenti microbici possono facilmente distruggere la componente cellulosica del tessuto in ambienti con una buona disponibilità di acqua (Cardamone et al., 1991; Janaway, 2002; Raschle, 1989). Il cotone inoltre è molto suscettibile alla idrolisi in ambienti acidi, è possibile invece che questo tessuto sopravviva in ambienti fortemente basici se molto asciutti o in ambienti ghiacciati poiché queste condizioni inibiscono i processi responsabili della rottura della struttura della cellulosa. La conservazione del cotone può essere favorita dalla vicinanza e dall'associazione con rame.

Come il cotone anche il lino è suscettibile alla degradazione in molti ambienti di deposizione ma può sopravvivere in ambienti asciutti e ghiacciati. Il lino tende ad assorbire acqua e per questo è facilmente degradato dai microrganismi, tuttavia, risulta in un certo modo più resistente alla degradazione in ambiente acido e meno resistente in ambiente basico rispetto al cotone (Cronyn, 1990; Janaway 2002). La lana è un tessuto particolarmente resistente rispetto ai precedenti grazie alla sua struttura principalmente composta da cheratina, risulta tuttavia suscettibile ad ambienti fortemente basici mentre è resistente in ambienti acidi fino a pH 2. La degradazione della lana può avvenire come esito dell'attacco da parte di organismi specializzati, microrganismi cheratinolitici, questa biodegradazione tuttavia è inibita in ambienti non favorevoli a batteri e funghi come ambienti freddi e umidi di torbiera, ambienti molto salati o molto secchi (Peacock, 1996). I cambiamenti fisici osservati come degradazione della lana sono lo scolorimento, il *pitting* superficiale e/o la defibrillazione. La lana si conserva meglio quando in contatto con metalli ferrosi (Janaway, 2002).

Infine, la seta si comporta in modo simile alla lana in ambienti deposizionali ma è meno resistente alla degradazione, è noto che la seta sopravviva per lunghi periodi in ambienti anaerobici, in suoli anaerobici e in suoli inondata anossici, tuttavia, in condizioni aerobiche, essa tende ad andare incontro a discolorazione e disintegrazione della fibra (Janaway, 2002, 2008; Sibley e Jakes, 1984).

Le fibre sintetiche sono generalmente più resistenti all'alterazione rispetto a quelle naturali tuttavia, possono subire, in alcuni casi, ossidazione e attacco enzimatico (Janaway, 2008; Quye, 2014; Szostak-Kotowa, 2004).

Le fibre di poliestere mostrano una buona resistenza a fattori di alterazione chimica e biologica, il nylon è piuttosto resistente alla biodegradazione, tuttavia, è suscettibile all'alterazione da parte di radiazione luminosa e alla termo ossidazione, questi fattori possono provocare discolorazione e fragilità della fibra. Il tessuto acrilico è molto resistente alla biodegradazione e alla radiazione ultravioletta grazie alla stabilità del gruppo acrilonitrile dominante. Le fibre di polietilene come il polipropilene e polietilene sono molto resistenti alla degradazione biologica, ma possono subire alterazioni se esposte alla radiazione ultravioletta. La cellulosa rigenerata, fibra sintetica meno comune delle precedenti, risulta suscettibile all'azione di funghi a causa della sua tendenza ad assorbire acqua.

Anche la pelle come tessuto può andare incontro a degradazione, anche se le pelli moderne, per via dei moderni procedimenti di conciatura, sono meno suscettibile all'alterazione rispetto a quelle archeologiche. Tuttavia, non è immune dal deterioramento che può renderla via via più fragile e scura (Cronyn, 1990; Kite e Thomson, 2006; Strzelczyk et al., 1997). I grassi o gli oli di superficie possono ossidarsi e causare l'irrigidimento della pelle. In generale però è l'umidità il fattore che più ne influenza la conservazione: in ambienti secchi la pelle può perdere il suo contenuto in acqua, restringersi e mostrare crepe e sulla superficie, al contrario, in ambienti umidi può idrolizzarsi generando un materiale resinoso di colore nero. Anche il pH però gioca un ruolo generando potenzialmente alterazione nel colore, imbrunimento della pelle ad esempio può essere indicativo di

un aumento del pH. In generale, tuttavia, terreni acidi risultano favorevoli alla conservazione della pelle, poiché l'acidità può avere un effetto antisettico inibendo la decomposizione batterica della pelle (Janaway, 2008).

È facile immaginare come la presenza e la tipologia di indumenti influenzi in modo determinante la decomposizione di un corpo (Anderson, 2010; Forbes et al., 2005; Kelly et al., 2009; Mann et al., 1990; Voss et al., 2011). I vestiti infatti possono accelerare o rallentare la decomposizione, possono creare un microambiente diverso da quello esterno favorevole, per esempio, al subentrare dei processi conservativi, quali la saponificazione oppure possono costituire una barriera protettiva rispetto all'ambiente esterno che ad esempio impedisce l'accesso all'entomofauna o agli apparati radicali delle piante (Pokines, 2009).

1.3 L'ambiente in senso stretto

Il termine ambiente deriva dal latino *ambiens*, ambire. È inteso come “andare intorno, circondare”. Si potrebbe quindi definire ambiente come “tutto ciò che sta intorno o che circonda qualcosa”. In ecologia, infatti, l'ambiente è il contesto fisico e biologico (clima, umidità, aspetti floristici...) che circonda un organismo, una popolazione di individui o una comunità biotica.

In questa sua azione, l'ambiente agisce in modo importante su sugli organismi, prima dopo e durante la loro morte, entrando a vario titolo tra gli oggetti di pertinenza delle scienze forensi.

1.3.1 il fattore ambiente nel principio di interscambio: produttore di tracce ma anche fattore di alterazione su tracce e substrati

L'ambiente, come è stato detto, è uno dei soggetti coinvolti nell'interazione descritta dal principio di interscambio e in esso agisce con un duplice ruolo, in primo luogo esso fornisce tracce: tracce vegetali, zoologiche, geologiche etc. Al contempo tuttavia l'ambiente, nell'intervallo post mortale, può costituire un fattore di alterazione che agisce modificando e degradando ciò che in esso permane. Spesso, il medesimo elemento gioca entrambi i ruoli come si vedrà meglio nelle pagine che seguono.

1.3.1.1 Le tracce ambientali

Considerando il ruolo dell'ambiente quale produttore di tracce, esso genera evidenze diverse in grado, in funzione della loro natura, di contribuire a formulare risposte ad alcuni essenziali quesiti dell'indagine. Tracce botaniche possono essere di aiuto nel comprendere la dinamica di un evento delittuoso discriminando tra incidente, suicidio e omicidio (Coyle, 2005; Aquila et al., 2014; Aquila et al., 2018) ma possono anche essere preziose per individuare il luogo di occultamento di un cadavere o l'intervallo post mortale di una vittima (PMI) (Lane et al., 1990; Quatrehomme et al., 1997; Brown et al., 2002; Brown, 2006; Montali et al., 2006; Caccianiga et al., 2012), possono costituire evidenze per collegare il luogo di rinvenimento di un cadavere con un possibile sospetto, verificare un alibi, comprendere se una scena è primaria o secondaria (Coyle, 2005; Coyle et al., 2005; Aquila et al., 2014; Margiotta et al., 2015) e in alcuni casi anche fornire informazioni sull'arma del delitto (Coyle et al., 2005).

Pare opportuno dedicare uno spazio un po' più ampio ad un ultimo elemento botanico prezioso in contesto forense, il primo ad essere entrato quasi di routine, nella pratica medico legale, le diatomee; alghe microscopiche, unicellulari, solitarie o coloniali che popolano la maggior parte dei sistemi idrici marini e continentali.

Da un punto di vista strutturale, le diatomee hanno caratteristiche uniche, possiedono infatti un involucro siliceo che avvolge il protoplasto come una scatola dalle dimensioni comprese tra i 2µm e

i 200 μm , con i margini del coperchio che avvolgono quelli del fondo. Le due metà sono dette teche (Figura 1.1).

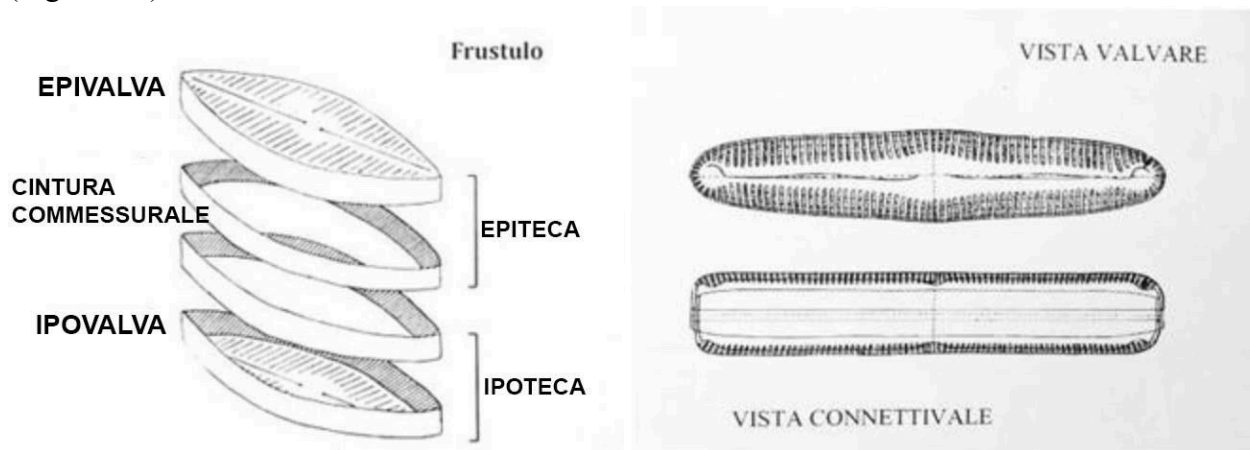


Figura 1.1 Struttura del frustolo di una diatomea tipo, a sinistra, vista valvare e commessurale di una diatomea tipo, a destra.

Le diatomee rivestono un ruolo privilegiato tra le evidenze ambientali in contesto forense per la rilevanza che hanno nella diagnosi di annegamento. L'annegamento è una forma di asfissia meccanica dovuta all'inalazione di un fluido che va ad ostruire le vie respiratorie con sostituzione di un medium liquido all'aria atmosferica (Kaushik et al., 2017; Cazzaniga et al., 2018).

Fu a metà del 1800 che per la prima volta si considerò la possibilità che il liquido annegante penetrasse nel torrente circolatorio; oggi è noto che durante la fase di annegamento (*ante-mortem*), l'acqua inalata provoca una dilatazione dei setti alveolari polmonari con conseguente creazione di micro-soluzioni di continuo nella barriera alveolo-capillare di tali organi, immettendosi prima nel piccolo circolo, quindi nella grande circolazione. In questo scenario, il fluido che va ad ostruire le vie respiratorie, giunto nel circolo sanguigno diventa veicolo di tutto ciò che di sufficientemente piccolo in esso è contenuto, come le diatomee. La presenza di diatomee in organi interessati dal grande circolo, quindi, può essere considerata un possibile elemento probatorio di un certo peso a favore di una morte per annegamento o nella quale esso sia stato almeno uno dei fattori contribuenti. Distinguibile dalla condizione sopra descritta è quella di un corpo che viene posto in acqua *post-mortem*; le diatomee in questo caso, infatti, potranno entrare passivamente nell'albero tracheo-bronchiale fino agli alveoli per percolazione, ma non potranno disseminarsi nei tessuti periferici, non essendoci flusso ematico (Pollanen, 1998) (Figura 1.2).

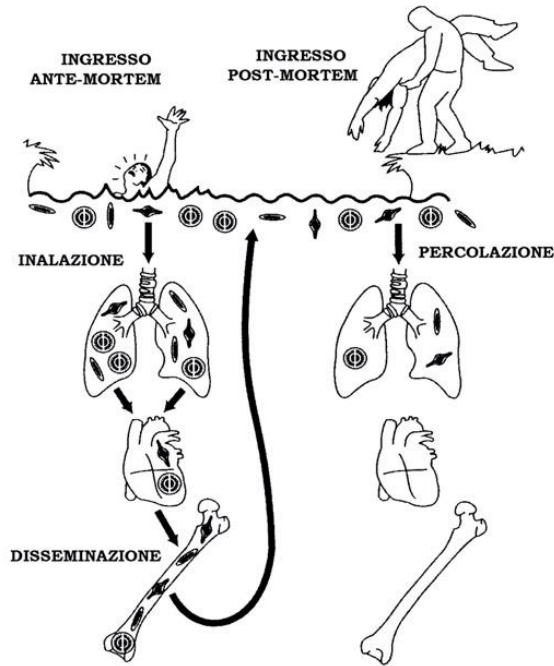


Figura 1.2 Modalità di ingresso delle Diatomee durante l'annegamento (da Pollanen modificato)

In tale contesto, le peculiari caratteristiche strutturali delle diatomee ne fanno degli strumenti di valore. Infatti, nel corso dei processi putrefattivi che interessano un individuo le alghe muoiono, ma il loro guscio, costituito di silice, si preserva integro e può essere estratto dai tessuti e dal midollo osseo (in caso di completa scheletrizzazione), utilizzando sostanze quali ad esempio acidi o perossidi che intaccano la sostanza organica rimasta, ma non la silice del guscio.

Diatomee vennero individuate per la prima volta nel fluido polmonare da Hofmann (1896), anni dopo Incze (1942) rilevò con successo diatomee nel sangue e negli organi parenchimali, infine, a metà del '900, Tamasaka individuò diatomee nel midollo osseo (1949). Le ricerche sono poi proseguite negli anni successivi fino ad oggi, epoca in cui la ricerca delle diatomee è ormai diffusa ed avvallata dalla comunità scientifica quale ausilio nella diagnosi di annegamento, pur con i limiti che verranno esposti in seguito.

Tale indagine prevede che queste alghe vengano ricercate in diversi organi (quali fegato, cervello, reni e midollo osseo) e, dove possibile, che venga ricercata una concordanza tra le risultanze delle indagini sugli organi e le diatomee del bacino di annegamento (Kaushik et al., 2017).

La comparazione del campione da organi e di quello da acqua ha lo scopo di limitare il rischio di falsi positivi (rinvenimento di diatomee in cadaveri deceduti per cause diverse dall'annegamento) dovuti a contaminazione, ossia presenza di diatomee di provenienza diversa rispetto al bacino di annegamento. Queste alghe infatti, come già accennato, sono resistenti ed estremamente diffuse cosicché la loro presenza per contaminazione è un rischio sempre presente; diatomee contaminanti possono essere dovute ad esempio a ingestione di carni di animali nutriti a organismi acquatici, assunzione di organismi acquatici stessi, o inalazione di particolato aereo contaminato, posto che possono avere accesso al torrente ematico anche attraverso il tratto gastroenterico. Tuttavia, le diatomee, come ogni organismo vivente, hanno esigenze ecologiche che variano da specie a specie, il fatto quindi che ciascuna viva in ambienti contrassegnati da ben determinati parametri di

temperatura, salinità, profondità delle acque, ecc., permette di aggiungere al dato di presenza/assenza un dato di concordanza e non concordanza con la popolazione algale del bacino di rinvenimento, elemento che aumenta notevolmente il valore del test. La comparazione sopra descritta può naturalmente aiutare anche a discriminare tra diversi bacini quello nel quale attendibilmente ha avuto luogo l'annegamento e, parimenti, quelli non coerenti con tale prospettiva (Zimmerman e Wallace, 2008).

Se quindi in caso di rinvenimento di diatomee negli organi sarà necessario considerare e limitare i rischi di un falso positivo mediante attenta identificazione degli esemplari e successiva analisi di concordanza con il bacino di annegamento, l'assenza di diatomee non potrà essere in nessun caso considerata prova sufficiente per escludere la morte per annegamento. Il test in esame, infatti, è soggetto anche al rischio di falsi negativi (assenza di diatomee in cadaveri deceduti per annegamento) imputabili a basse concentrazioni di diatomee nel mezzo di annegamento, basso volume di liquido inalato o volume insufficiente di tessuto campionato all'autopsia (Lunetta, 2016).

Abbandonando il regno vegetale, tracce entomologiche sono da lungo tempo ritenute preziose per la stima del minimo *post mortem interval* (Lord e Stevenson, 1986; Greenberg, 1991; Catts e Goff, 1992; Goff et al., 1993; Wells e LaMotte, 2001; Amendt et al., 2007; Amendt et al., 2011; Tomberlin et al., 2011) ma possono anche aiutare a comprendere se una scena è primaria o secondaria valutando ad esempio la coerenza di determinato tipo di colonizzazione con il luogo del rinvenimento o collegare un sospetto con il luogo del delitto o con il cadavere (Goff, 1991; Anderson e Byrd, 2010; Sanford, 2017a, 2017b). Infine, tracce entomologiche possono fornire informazioni sulla vittima sia di tipo tossicologico (Introna et al., 2001) che genetico, qualora questa non sia più in grado di farlo (Wells et al., 2001, DiZinno et al., 2002).

Infine, le geoscienze forensi come terzo macro-gruppo di tracce ambientali possono fornire collegamenti tra una persona e la scena del crimine (Morgan e Bull, 2007; Morgan et al., 2009; Fitzpatrick e Raven, 2012; Murray et al., 2016, 2017) ma anche collegamenti con oggetti e altre persone.

In realtà quello riportato è solo un accenno del potenziale delle tracce ambientali in contesto forense, illimitato è il numero di informazioni che esse possono fornire così come gli elementi in cui possono concretizzarsi. Lo sbiancamento di una porzione di un cranio rinvenuto in un ambiente chiuso potrà ad esempio suggerire che quella non sia la scena primaria e che quell'elemento provenga da un ambiente diverso, essendo lo sbiancamento localizzato una traccia tipica dell'azione della radiazione solare su ossa esposte. Tuttavia, tale traccia è al contempo evidenza di un'azione di degradazione di cui l'ambiente è il fattore responsabile, come è facile osservare quindi è ampio complesso e difficilmente schematizzabile il ruolo dell'ambiente in questo contesto.

1.3.1.2 Tafonomia

L'ambiente con la sua azione va ad agire anche simultaneamente quale fattore di alterazione su tracce e substrati: precipitazioni, radiazione solare, umidità etc, come si è visto nei paragrafi precedenti, sono fattori tafonomici per i substrati ma anche per le tracce stesse, comprese quelle di origine ambientale. Come accennato, i fenomeni tafonomici comprendono tutti gli eventi imputabili a fattori estrinseci che avvengono su un individuo dal momento della sua morte e fino al momento del suo rinvenimento. Saranno quindi fenomeni che interesseranno sia il corpo nel suo complesso che le porzioni di esso dotate di maggiore persistenza, in particolare le ossa.

Naturalmente ambienti diversi agiranno come fattore tafonomico in modo differente, in questa sede si farà una breve revisione bibliografica dei fattori di alterazione e delle modalità di agire di ciascuno di essi considerando quelli più tipici delle tre macrocategorie di ambiente: ambiente terrestre ipogeo, ambiente terrestre epigeo e ambiente marino.

Tafonomia di ambiente terrestre - Ipogeo

In quanto componente dotato della maggiore persistenza, è solitamente il tessuto osseo oggetto di indagini tafonomiche. La conservazione dell'osso a breve e lungo termine si basa su una complessa serie di fattori, comprese le proprietà intrinseche dell'osso, l'azione di micro e macroorganismi, la temperatura, la composizione minerale del suolo e il suo pH (Child, 1995; Hedges et al., 1995; Henderson, 1987; Nielsen-Marsh e Hedges, 2000).

Il suolo risulta un fattore di alterazione importante per la sua azione distruttiva soprattutto in ragione del suo pH, suoli a pH neutro o leggermente basico assicurano usualmente un'ottima conservazione delle ossa. Generalmente, tuttavia, il suolo è acido nell'orizzonte A, il più superficiale dopo l'orizzonte O organico, questa sua acidità è imputabile a tre fattori: la lisciviazione di ioni quali calcio, magnesio e potassio, la concentrazione di materia organica in decomposizione e il rilascio di acidi organici nonché la dissoluzione dell'anidride carbonica in acqua a formare acido carbonico. Procedendo verso gli orizzonti più profondi l'acidità diminuisce, e questa diminuzione è vieppiù marcata quando il *parent material* è ricco in ioni base, come nel caso del calcare. Questa differenza fa sì che vi possa essere un effetto di alterazione più marcata su corpi più superficiali rispetto a quelli sepolti in profondità o che vi possa essere un diverso stato di conservazione tra le porzioni più superficiali e più profonde dello stesso corpo. Ad influire sul pH del suolo è anche l'acqua percolante, in una soluzione acida di acqua del suolo i cristalli di idrossiapatite, $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{OH})$, vengono impoveriti di ioni di calcio (Ca^{2+}) che viene sostituito con ioni idrogeno (H^+) (derivati da ioni idronio, H_3O^+) fino al raggiungimento dell'equilibrio chimico con l'acqua. Se il movimento di acqua nel suolo è abbondante, questo processo continuerà indefinitamente fino a privare pressoché interamente l'osso degli ioni calcio. Allo stesso modo, la concentrazione di fosfato (PO_4^{3-}) nella soluzione di acqua del suolo tende ad equilibrarsi con l'idrossiapatite, ma questi ioni si combinano con il ferro (Fe) e l'alluminio (Al) in soluzioni altamente acide e precipitano fuori. Qualsiasi aumento della portata dell'acqua può aumentare la dissoluzione della componente minerale dell'osso (che costituisce circa il 70%), anche in condizioni leggermente acide. Il risultato macroscopico di questi processi è la corrosione che tende ad apparire su tutte le superfici esposte di un elemento sepolto, compresi gli spazi interni dove questi sono entrati in contatto diretto con il suolo; essa assottiglia gradualmente la corticale dell'osso fino al generarsi di piccoli fori o all'espandersi dai naturali forami, inoltre tale azione può conferire all'osso consistenza friabile e gessosa.

Il pH del suolo, tuttavia, tende ad alterarsi nel breve periodo della decomposizione a causa dell'afflusso localizzato di sostanze organiche e minerali, prima di tornare ai livelli originali o quasi (Benninger et al., 2008). La decomposizione di un corpo sepolto causa inizialmente un grande afflusso di acidi organici, acidi che aumentano inizialmente l'acidità nelle sue immediate vicinanze. Questa fase è seguita dall'afflusso di ioni base e quindi da una diminuzione generale dell'acidità durante la successiva fase di decomposizione (Gill-King, 1997; Wilson et al., 2007a). Con il procedere della decomposizione, l'ambiente locale, leggermente alcalino, ritorna gradualmente a condizioni più acide poiché il ciclo dei nutrienti e la dissoluzione riducono la quantità di ioni base nel riempimento. L'effetto complessivo dell'interramento di un corpo intero o parziale in un terreno acido è quello di posticipare l'inizio della corrosione solitamente causata dal suolo acido, anche se la

tempistica esatta di questi eventi è ancora oggetto di studio (Damann, 2010). Nel lungo periodo, tuttavia, come è ragionevole immaginare, il pH a cui resti sepolti sono esposti è condizionato essenzialmente dalle condizioni del suolo e del clima.

Anche le radici costituiscono fattori di alterazione tafonomica riconducibili all'ambiente, oltre che naturalmente elementi preziosi per il dato temporale di una sepoltura. Le ossa costituiscono infatti un prezioso deposito di nutrienti per le radici, in particolare azoto e fosfati dai quali esse verranno attratte, inoltre la struttura trabecolare dell'osso può diventare un significativo deposito di acqua così che esso risulterà ancor più appetibile. L'azione delle radici, si esplica in particolare in regioni ad elevato quantitativo di osso spugnoso che forniscono alle radici stesse una maggior superficie di attacco rispetto a quello compatto. Tale azione può avere intensità anche molto elevata al punto da generare fratture. Ma non vi è solo l'azione di penetrazione delle radici nell'osso, anche con il loro sviluppo sulla superficie esse possono lasciare tracce e operare una locale distruzione dell'osso. Le radici infatti producono e rilasciano tutta una serie di sostanze con vari scopi, difesa contro gli erbivori, azione attrattiva o repellente verso diversi organismi, favorire l'approvvigionamento di minerali dal terreno. Alcune di queste sostanze includono acido umico, acido citrico, acido malico e acido ossalico. I composti acidi possono dissolvere il contenuto minerale dell'osso dove le radici sono cresciute a contatto con esso. Anche gli organismi associati alle radici quali i funghi e la decomposizione stessa delle radici possono generare acidi che contribuiscono all'alterazione del tessuto osseo. Questo tipo di alterazione può essere presente tanto su ossa sepolte quanto su materiale posto in superficie a contatto con il suolo anche se, naturalmente, in questo secondo caso, solo specifiche aree della superficie saranno interessate. A queste azioni si può associare la produzione di macchie (Behrensmeyer, 1978; White e Folkens, 1991; Buikstra e Ubelaker, 1994; Schultz et al., 2003; Schultz, 2012).

Altri organismi terrestri possono utilizzare ossa e tessuti molli come fonte di nutrimento, primi tra tutti i funghi. Tramite le loro ife essi possono invadere la componente spugnosa e la corticale del tessuto osseo (Jans et al., 2002) distruggendolo. I funghi possono tuttavia crescere anche sulla superficie dell'osso in grandi masse, in questi casi essi possono, in un primo momento, nutrirsi del tessuto molle ad esso adeso e poi dell'osso stesso, lasciandosi dietro aree prive dello strato più esterno del tessuto corticale con un aspetto macroscopicamente simile a quelle generato dall'azione corrosiva del suolo. I funghi sono pressoché ubiquitari nello strato superficiale di suolo cosicché l'azione di quest'ultimo e quella dei funghi possono presentarsi spesso simultaneamente. Anche alcuni insetti possono nutrirsi di tessuto osseo in particolari condizioni, è il caso per esempio delle termiti che vi ricorrono in caso di diete carenti di azoto.

Altre azioni che si possono verificare in ambiente terrestre su resti ossei sepolti sono quelle di bioturbazione ad opera dei diversi organismi del suolo quali invertebrati ma anche roditori, lagomorfi, mustelidi e talpidi. Tutti questi organismi possono, agendo su grande o piccola scala, operare un'azione di dispersione dei resti da non confondere con l'inevitabile e naturale dislocazione degli stessi conseguente la decomposizione e quindi la perdita di quegli elementi che garantivano la connessione anatomica tra gli elementi ossei.

Naturalmente non si può trascurare la componente entomologica, gli insetti sono tra i principali responsabili della riduzione scheletrica del cadavere in ambiente terrestre; ditteri, coleotteri e lepidotteri sono tra le famiglie più note per colonizzare il corpo con ondate successive a partire dalle prime ore fino a svariate settimane dopo la morte (Byrd e Tomberlin, 2019).

Alcuni di questi organismi, possono anche agire sull'osso compromettendone l'integrità, tuttavia in questo caso la morfologia sarà del tutto peculiare e non confondibile con l'azione di mammiferi o grandi animali che in ogni caso è solitamente correlata a corpi in superficie. Il principale insetto responsabile di danno sull'osso sono le termiti, che sono note per scavare tunnel attraverso le ossa. Le ragioni di questo non sono chiare, dal momento che questi insetti traggono il loro sostentamento dalla rottura della cellulosa delle piante attraverso una relazione simbiotica con protozoi (principalmente *Trichonympha* spp.) che abitano il loro tratto digestivo. Il loro scavo procede quindi normalmente attraverso il legno e altri materiali vegetali, che possono fornire questa risorsa; tuttavia, possono scavare il tessuto osseo, forse per trarne nutrienti quali azoto e fosforo (Watson e Abbey, 1986) forse solo per muoversi al suo interno; tuttavia, la loro presenza abbastanza diffusa ne fa un possibile agente di alterazione di interesse in contesto forense. Questi organismi scavano veri e propri tunnel nel tessuto osseo soprattutto in ossa sepolte. Ma le termiti non sono gli unici insetti noti per lasciare tracce sull'osso, anche l'ordine dei coleotteri annovera famiglie in grado di lasciare caratteristiche lesioni, è il caso dei dermestidi. I dermestidi infatti sono insetti solitamente rinvenuti associati a cadaveri in avanzato stato di decomposizione, quando il corpo è oramai pressoché scheletrizzato, essi creano cavità di forma ovoidale durante la fase di impupamento (Huchet et al., 2013; Wrobel e Gibbs, 2018). Le lesioni mostrano un profilo longitudinale cilindrico o conico la cui dimensione e profondità è variabile ma generalmente compresa tra 2 e 5 mm interessando la corticale e penetrando a volte fino alla cavità midollare (Huchet et al., 2013).

Un altro effetto dell'ambiente terrestre è la generazione di macchie sul tessuto osseo, le ossa per il loro colore e morfologia tendono facilmente a assumere il colore di ciò con cui vengono a contatto, questo si genera pressoché in tutti gli ambienti, tuttavia per quanto riguarda quello terrestre uno dei principali agenti sono i tannini (Barbehenn e Constabel, 2011) ma anche il carbonio derivato dalla materia organica genera inscurimento dell'osso, le argille rosse generano una colorazione rossastra mentre alcuni funghi hanno dimostrato di poter conferire colorazione rosata all'osso (Nicholson, 1996).

Prima, tuttavia, che il corpo si riduca alla sola porzione scheletrica, particolari condizioni ambientali possono indurlo ad andare incontro a quei processi conservativi a cui si è brevemente fatto cenno parlando della cute: la saponificazione, fenomeno che si può generare in corpi sepolti qualora si creassero condizioni di elevata umidità e anaerobiosi (Takatori, 2001). La mummificazione, favorita da ambienti asciutti come suoli molto drenanti in climi aridi (Galloway et al., 1989). O ancora la corificazione, che caratterizza i corpi in ambienti umidi e chiusi, come le casse in zinco, ma che, in contesto naturale, si presenta anche in corpi sepolti in ghiaccio (Micozzi, 1991, 1997). In questi contesti, che pur non potendosi considerare un vero e proprio ambiente ipogeo, tuttavia, descrivono corpi sepolti in ambiente terrestre, le particolari condizioni ambientali unite all'azione di protezione offerta dalla copertura nevosa permettono la conservazione del corpo, compresi i suoi tessuti molli, per tempi estremamente lunghi, caso emblematico è quello di Oetzi, i resti di un uomo risalenti a circa 3300 anni fa rinvenuti sulle alpi italiane.

Altri contesti ambientali particolari possono consentire una straordinaria conservazione per lunghi tempi, è il caso delle torbiere a sfagno, aree paludose, tipiche delle pianure umide ricoperte da uno strato di muschio comunemente del genere *Sphagnum*, e ricche di materia organica indecomposta, in primis lo stesso sfagno. Lo sfagno ha un'altissima capacità di trattenere acqua contribuendo a creare le condizioni per la conservazione della materia organica; sono ambienti caratterizzati infatti da: acque acide ricche in tannini, scarsità di fauna che possa nutrirsi dei corpi e condizioni anaerobiche. In queste condizioni la cute tende ad assumere una colorazione ed una consistenza simile a quella del

cuoio, gli organi interni invece tendono a conservarsi meno e le ossa vanno incontro ad una demineralizzazione (Brothwell et al., 1990; Micozzi, 1991; Stødkilde-Jørgensen et al., 2008).

Anche i più tradizionali contesti di sepoltura generano una loro tafonomia e marchiano i resti che vi permangono di una storia tafonomica tipica: è il caso delle sepolture cimiteriali.

Un primo elemento responsabile è la bara e l'ambiente che al suo interno si genera. Si tratta di un ambiente estremamente dinamico, infatti in un primo momento essa costituirà un elemento di protezione dagli agenti esterni, impedendo l'accesso di radici, entomofauna e altri agenti di disturbo. Questo fa sì che i resti sepolti si decompongano in genere più lentamente di quelli esposti in superficie, questo tuttavia non è dovuto solo all'azione di barriera esercitata dalla bara ma anche dal fatto che l'ambiente all'interno di essa risulterà generalmente più fresco di quello esterno (Haglund, 1991; Rodriguez e Bass, 1985). In generale più protezione è offerta al corpo, più lenta sarà la decomposizione del cadavere.

A mano a mano che la bara si decompone consente l'ingresso di sedimento, radici, acqua etc nell'ambiente interno che possono quindi entrare in diretto contatto con il corpo, a queste azioni va aggiunta la pressione dei sedimenti sovrastanti la bara qualora questa collassi, tale azione può generare deformazione e frattura degli elementi ossei particolarmente evidente sul cranio ma anche sulle coste (Schultz et al., 2003). Se inoltre l'ambiente di seppellimento è soggetto a fenomeni quali l'inondazione, gli elementi ossei possono andare incontro a fessurazione della superficie e a dissoluzione acida della componente minerale che può conferire all'osso una consistenza friabile e gessosa che si disintegra facilmente analogamente a quanto osservato per i corpi sepolti in terra senza l'intermediazione della bara (Berryman et al., 1991; Berryman et al., 1997; Schultz et al., 2003; Rogers, 2005). Sempre associata alla sepoltura in bara è l'usura causata dal contatto prolungato degli elementi ossei con la bara stessa. Questa colpisce di solito le porzioni in diretto contatto con la cassa come le ali iliache nella loro porzione supero-anteriore, il femore nelle aree condilari, il cranio nella regione occipitale e ogni altro elemento osseo che si trovi in contatto prolungato con la cassa (Berryman et al., 1991; Berryman et al., 1997).

Infine la sepoltura in bara può portare alla formazione di macchie ed in generale all'assunzione, da parte dell'osso, di una colorazione scura che raramente si trova in contesti forensi e comunque appare accentuata in corpi sepolti in bara a causa della permanenza delle ossa in un ambiente chiuso caratterizzato dalla presenza di abbondanti tannini, già citati come responsabili di alterazioni cromatiche del tessuto osseo, rilasciati dal legno della bara stessa che si miscelano all'acqua presente (Schultz et al., 2003). La bara in ferro o ghisa determina un iter tafonomico differente rispetto a quella in legno poiché molto più di quest'ultima isola il corpo dall'esterno determinando una conservazione eccellente di tessuti molli e indumenti. Questo ambiente artificiale può essere simile agli effetti delle sepolture in terreni umidi e ferrosi che hanno permesso un'eccellente conservazione a lungo termine dei materiali organici nei tumuli grazie alla creazione di condizioni anaerobiche (Breuning-Madsen et al., 2001).

Tafonomia di ambiente terrestre - Epigeo

Tuttavia, spesso cadaveri in contesto forense non vengono rinvenuti in bara o sepolti, ma in superficie, in questo caso su di essi vanno ad agire una serie di fenomeni tafonomici dovuti ad agenti fisici quali sole, acqua, vento etc; per questo tipo di danni si parla oggi di *weathering* dell'osso. Il termine *weathering* è stato usato per la prima volta nelle discipline della geologia e della geomorfologia per descrivere la disgregazione di rocce, suoli e minerali attraverso varie forze, incluse quelle

fisiche/meccaniche, chimiche e/o biologiche. Tale termine è infatti reperibile in alcuni dei primi studi sugli agenti atmosferici risalenti alla fine del XIX secolo (Burt et al., 2008). Più recentemente, il termine è stato impiegato da paleontologi, archeologi e antropologi forensi che lo hanno sfruttato per descrivere i processi post mortali che alterano la natura chimica (Gill-King, 1997; White e Hannus, 1983) e fisica (Haglund e Sorg, 2002) di resti umani o non umani.

Diversi fattori sia intrinseci che estrinseci possono influire sul grado di alterazione (*weathering*) dell'osso, tra i fattori intrinseci vi è il taxon di appartenenza, ma anche il tipo di osso quindi la sua robustezza e la sua dimensione, tra i fattori estrinseci vi è invece l'ambiente e il *post mortem interval* (Schotsmans, 2017).

Il danno da ambiente terrestre epigeo si esplica essenzialmente in due modalità: la formazione di soluzioni di continuo e quella di alterazioni cromatiche. Per quanto riguarda le prime, si parla di fessurazione quando le soluzioni si sviluppano in direzione radiale, verso l'interno dell'elemento osseo, si può tuttavia generare anche il fenomeno della delaminazione, in cui le soluzioni di continuo hanno andamento circonferenziale e generano così il distacco degli strati di osso più esterni. Può verificarsi tuttavia anche uno sfaldamento generalizzato dove frammenti irregolari di osso si staccano (Tappen 1969, 1976; Tappen e Peske, 1970; Buckland-Wright, 1977).

Le variazioni di temperatura giornaliera sono uno degli elementi responsabili della formazione di microfratture nel tessuto a seguito della continua espansione e contrazione del tessuto, questo tipo di effetti è molto studiato su substrati diversi, quali rocce e sedimenti (Hall, 1999) che tuttavia sono di gran lunga più disomogenei dell'osso e quindi manifestano danni più estremi causati dalla diversa risposta dei materiali componenti e dal cedimento lungo le superfici di confine. I denti, infatti, che risultano più mineralizzati e eterogenei come composizione rispetto all'osso manifestano danni più marcati a seguito di questi fenomeni (Weiner e Wagner, 1998; Currey, 2002). L'osso invece può andare incontro a danni su tempi piuttosto lunghi di esposizione a tali fluttuazioni termiche oppure a danni localizzati e rapidi in risposta ad improvvisi cambiamenti della temperatura (Conard et al., 2008).

Un particolare tipo di danno da fluttuazione termica è quello da congelamento, l'osso infatti, anche nelle sue zone più dense, può assorbire acqua che, in funzione della temperatura, può passare di stato e congelare, tale trasformazione implica un aumento di volume e di conseguenza l'esercitarsi di pressione sull'osso fino anche al suo cedimento. Ambienti in cui le oscillazioni termiche giornaliere si muovono a cavallo del punto di congelamento risultano quindi estremamente dannosi per l'osso che vi permane (Matsuoka e Merton, 2008).

Teoricamente, qualsiasi processo tafonomico che aumenta la pre-fessurazione o la quantità di spazio poroso nell'osso ne aumenta la suscettibilità ai danni da congelamento/scongelo. Questi processi, spesso di tipo biologico, potrebbero includere la distruzione focale da parte di funghi o radichette.

Anche la formazione di cristalli all'interno dell'osso può causare microfratture (Hedges et al., 1995; Nielsen-Marsh et al., 2000; Doehne, 2002; Trueman et al., 2004; Prassack, 2011). La chiave di questo processo tafonomico (diagenetico) è l'infiltrazione dell'acqua freatica con minerali solubili/scambiabili dal suolo (Pate e Hutton, 1988; Pate et al., 1989; Sillen, 1989). Quando questa soluzione raggiunge la superficie delle ossa e di altri materiali porosi, l'acqua evapora, lasciando i minerali a cristallizzare (Rodriguez-Navarro e Doehne, 1999).

Come si è accennato in precedenza, altro tipo di manifestazione dei fenomeni tafonomici di ambiente terrestre, sono le macchie. L'osso infatti può perdere il suo colore originale per una moltitudine di fattori, uno dei principali fattori di alterazione tanto cromatica quanto fisica delle ossa in superficie è

la radiazione solare, il così detto *bleaching*, si tratta di un'azione di sbiancamento del tessuto osseo dovuta all'esposizione alla radiazione UV. Questo sbiancamento è dovuto alla perdita della componente organica dell'osso e, *in extremis*, al permanere della sola componente minerale, tale componente, grossomodo biancastra, una volta divenuta dominante, ne determina il colore. Diversi studi si sono concentrati su questo fenomeno per meglio comprenderne i tempi di comparsa e le variabili coinvolte, essi hanno dimostrato che lo sbiancamento si genera piuttosto precoce nell'osso esposto e che l'intensità dello sbiancamento è in rapporto diretto con la durata dell'esposizione. Inoltre, hanno dimostrato come altri fattori oltre al tempo possono influire sul fenomeno, uno tra tutti la presenza di umidità che può variare la quantità di luce riflessa dall'osso (Beary, 2005).

La colorazione biancastra può essere tuttavia esito anche di altri fenomeni, ad esempio l'esposizione a temperature estremamente elevate e/o per tempi lunghi, anche in questo caso l'osso, ormai calcinato, persa la componente organica assume colorazione biancastra. Ancora, la presenza di adipocera può dare all'osso una colorazione biancastra che tuttavia è solitamente localizzata.

Altri fattori tafonomici di superficie che possono dare effetti cromatici, ma anche andare a generare vere e proprie soluzioni di continuo sull'osso, sono la colonizzazione da parte di alghe, licheni e muschi (Haefner et al., 2004). Muschi e alghe, infatti, possono generare macchie di colore verde sull'osso, e la loro presenza saranno indicativi di ambienti ombrosi (Bass, 1997; Coyle, 2004).

Se per gli ambienti ipogei si era considerato l'azione cromatica e meccanica delle radici, in ambienti epigei, un fattore di alterazione cromatica importante sono altri tipi di materiale vegetale in particolare le foglie in decomposizione, che costituiscono la componente principale della lettiera. Legno, foglie e frutti e in generale tutte le componenti dello strato superficiale del suolo, infatti, sono estremamente ricchi di tannini, responsabili delle macchie scure sull'osso nelle aree di appoggio (Zelinka e Stone, 2011).

Tutti questi tipi di alterazione sono influenzati tanto dalle condizioni macroambientali quanto da quelle microambientali per cui un medesimo elemento osseo può presentare diverso tipo di alterazione.

I metalli sono anch'essi una fonte di macchie, che siano essi nel suolo o presenti come artefatti, essi infatti sono soggetti, ad eccezione dei metalli nobili come l'oro, a ossidazione. L'ossidazione del metallo a contatto con l'osso determina la formazione su quest'ultimo di macchie, eventualmente corredate di materiale aderente. Tipici metalli riscontrabili in contesto forense sono il ferro, il rame ed in seconda battuta il mercurio, usato in passato ad esempio come componente di amalgama dentaria (Buikstra e Ubelaker, 1994; Ubelaker, 1996; Schultz et al., 2003; Schultz, 2012). Una serie di variabili può influenzare presenza e caratteristiche di questo tipo di macchie: la natura chimica del luogo, la struttura dell'artefatto metallico, l'umidità, pH e redox, condizioni acide per esempio favoriscono la corrosione (Janaway, 2008).

Il ferro nelle sue diverse forme è sicuramente uno dei principali metalli fonte di macchie, quando esso è esposto a umidità e ossigeno atmosferico, si ossida e produce un'area di prodotto di corrosione, se questa fonte si trova a diretto contatto o in prossimità con l'osso può lasciare su di esso una macchia e uno strato di materiale adeso che può presentare colori diversi. In ambiente umido e aerato il ferro genera una crosta di materiale di colore rosso/marrone composto di ossido di ferro, in ambienti anaerobici ricchi di acqua, per via della formazione di solfuro di ferro ad opera dei batteri solforiduttori, il ferro ossidato può assumere una colorazione nerastra. Ruggine di colore verde si potrebbe formare come miscela di ossidi idrati di ferro II e ferro III (Cronyn, 1990). Infine, una colorazione da blu brillante a blu-nero è molto più rara e può essere presente su ossa derivante da

depositi di vivianite (fosfato di ferro). Sotto forma di fosfato di ferro, la vivianite presenta una colorazione grigio-biancastra nella sua condizione non ossidata ma quando è esposta all'aria il minerale cambia colore in un blu brillante (Cronyn, 1990; Guthrie, 1990).

Un altro metallo che lascia tipiche macchie sull'osso è il rame; le macchie si presentano di solito come colorate di verde e verde/blu (Buikstra e Ubelaker, 1994; Schultz, 2012; Schultz et al., 2003). Responsabili di queste macchie possono essere, in diversi contesti, bare, gioielli, elementi riconducibili a capi di abbigliamento come cerniere, bottoni ma anche camiciature di proiettili. Il rame si presenta solitamente sotto forma delle sue due principali leghe: ottone e bronzo. Il rame e le sue leghe sono generalmente resistenti alla corrosione in condizioni atmosferiche normali; tuttavia, possono alterarsi a contatto con inquinanti come il solfato di idrogeno e/o il diossido di carbonio, inquinanti dell'aria e acqua marina (Cronyn, 1990; Goffer, 2007). In condizioni di sepoltura invece il rame può alterarsi significativamente reagendo con inquinanti del suolo o con suoi componenti (Goffer, 2007).

Infine, vi è il mercurio, tipicamente presente come componente principale di amalgama dentaria, esso può lasciare una macchia grigio-verdastra. Il deterioramento di questa amalgama e la sua reazione con composti ambientali, per esempio, del suolo può generare macchie tendenzialmente localizzate. L'ambiente terrestre inoltre annovera tra i suoi fattori tafonomici l'azione di animali quali carnivori, roditori, maiali e altri ungulati e insetti. Le ossa, infatti, sono consumate e disperse per molte ragioni da numerosi taxa terrestri, le principali ragioni includono:

-*predazione*: proprio nell'atto della predazione si hanno i primi danni agli elementi ossei che possono essere fratturate durante l'azione (Kruuk, 1972; Kruuk, 2002).

-*smembramento della preda*: anche in questo caso gli elementi ossei possono rompersi durante le azioni che il predatore compie per smembrare la preda o per accedere alle aree più appetibili come gli organi interni della gabbia toracica (Berryman, 2002).

-*consumo del tessuto molle esterno*: azioni ai danni del tessuto osseo possono avvenire durante il consumo del tessuto molle ad esso adeso accidentalmente o volontariamente (Pobiner, 2007)

-*consumo del contenuto adiposo dell'osso*: il grasso contenuto all'interno del tessuto osseo è spesso l'unico presente in natura in animali selvatici, così che molti animali si sono evoluti per consumare questo tipo di materiale, per fare questo però devono agire sul tessuto osseo esterno (Brink, 1997; Lupo, 1998; Madrigal e Holt, 2002; Morin, 2007).

-*ricerca di nutrienti dal tessuto minerale dell'osso*: molte specie inclusi i roditori, ma anche ungulati, consumano tessuto osseo come fonte di minerali (Pokines, 2013).

-*affilatura e consumo dei denti*: animali come i roditori, con incisivi a crescita continua sono noti per consumare il tessuto osseo così come altri substrati duri per affilare e consumare i denti (Pokines, 2013).

Il rosicchiamento da parte di animali in ambiente terrestre, come accennato ha lo scopo di raggiungere il grasso contenuto nella cavità midollare, esso inizia dalle epifisi dove il tessuto osseo è più sottile per proseguire verso la diafisi. Questa azione procede fino all'esposizione completa della cavità midollare oppure può limitarsi alle epifisi, dove l'azione è più facile lasciando un cilindro di osso. L'azione ripetuta dei denti sull'osso può generare margini lucidi quando l'osso è sufficientemente resistente da non cedere all'azione del dente, su ossa più delicate invece l'azione genera il distacco di un frammento di osso stesso e l'esposizione di una superficie di osso nuova pulita e non levigata.

Altri segni dell'azione di animali sono: i fori da denti, depressioni circolari o irregolari generate dal dente che tuttavia non penetra il tessuto osseo ma rimane nel tessuto corticale, possono essere i punti dove l'animale ha afferrato l'osso per il trasporto. Perforazioni da denti sono invece più profonde e

attraversano a tutto spessore l'osso corticale. I margini possono essere frammentati cosa che non accade con i fori da denti. Questi secondi segni possono essere associati all'animale che li ha prodotti grazie alla forma della traccia, all'eventuale appaiamento di due tracce e alla loro distanza. Le striature invece sono tracce superficiali come i fori ma allungate. Tracce allungate come le precedenti ma profonde come le perforazioni, possono interessare la cavità midollare.

Anche la corrosione da succhi gastrici può lasciare tracce ascrivibili alla classe delle tracce tafonomiche da ambiente terrestre, come esito le ossa possono apparire frammentate, presentare margini assottigliati, fenestrature, la superficie corticale può apparire come scolpita, l'osso infine si può presentare frammisto a capelli, indumenti ed altri elementi non digeriti. Se l'esito sull'osso può apparire simile a quello esercitato dal suolo esso, tuttavia, coinvolgerà solo ossa di piccole dimensioni o frammenti che possono essere ingeriti.

Altri effetti della tafonomia da ambiente terrestre sono la dispersione dell'intero cadavere o dei singoli elementi ossei esito dell'azione di carnivori e roditori ma anche di agenti fisici in primis la forza di gravità ma anche l'acqua e la pendenza. La dispersione può avvenire su grande o piccola distanza su corpi in superficie ma anche, come accennato in precedenza, su corpi sepolti anche se in questo caso le distanze saranno brevi. In caso di resti in superficie, se non ci sono strutture di sostegno o contenimento a limitarne l'azione in primis sarà la forza di gravità ad agire su resti, durante il processo di decadimento dei tessuti molli vi è un disequilibrio potenziale tra lo scheletro e il piano di appoggio che determina ad esempio, l'appiattimento del bacino, la rotazione laterale dei femori, la caduta della patella all'esterno del ginocchio e delle coste, non più legate al rachide e allo sterno, sul fondo della fossa, ma anche la rotazione del cranio, distruggendo i legamenti che lo collegano al rachide, esso tende a cadere a destra o a sinistra, data la sfericità della testa nella regione occipitale. Questi eventi potranno essere enfatizzati e condizionati, come accennato, da fattori come acqua o pendenza che andranno ad aumentare la distanza degli elementi liberi dalla posizione originale o a direzionarla in un senso o in un altro (Duday, 2009).

In alcuni casi può avvenire anche l'operazione inversa, anziché la dispersione può avvenire un'aggregazione di elementi ossei in un sito diverso da quello primario ad opera di fauna che strappa i resti e li accumula in aree più riparate quali tane. Questo può anche permettere la conservazione migliore dei resti che vengono a trovarsi in un ambiente più protetto rispetto a quello originale. Oltre ai grandi carnivori anche alte specie possono riconcentrare ossa, è il caso degli istrici che raccolgono e accumulano ossa secche nella tana (Alexander, 1956; Woods, 1973; Kerbis Peterhans, 1990; Becker e Reed, 1993; Barthelmess, 2006; Pokines e Kerbis Peterhans, 2007) o i topi (Betancourt et al., 1990). Infine, l'intero corpo può essere spostato dal luogo originario da grandi carnivori per essere conservato in un luogo protetto dove funge da fonte di alimentazione per un periodo prolungato. Pur nella complessità di determinare l'animale responsabile di una determinata azione di scavenging studi sono stati fatti per determinare le caratteristiche tipiche delle diverse e più comuni specie animali responsabili di questa azione (Haglund, 1997).

Tafonomia di ambiente acquatico-marino

L'ambiente acquatico è un ambiente molto particolare che implica un iter post mortale specifico tanto che anche alcuni aspetti più prettamente tanatologici dovranno essere riconsiderati nel momento in cui si consideri un corpo il cui intervallo post mortale ha luogo parzialmente o interamente in ambiente acquatico. Questo ambiente può generare lesività propria spesso non facilmente distinguibile da quella perimortale, può indurre processi conservativi che complicano la stima del

minimo *post mortem interval* (Simonsen, 1977; Cotton et al., 1987; O'Brien, 1996), può portare un corpo molto lontano dal luogo di ingresso in acqua e quindi allontanarlo dalla ragionevole scena del crimine (Ebbesmeyer e Haglund, 1994), puoi disarticolarlo e portare i singoli elementi a grande distanza l'uno dall'altro (Haglund, 1993). Quanto riportato rende necessario trattare l'ambiente acquatico separatamente; in questa sede ci si limiterà a trattare quelli che sono gli aspetti caratteristici dell'iter post mortale in ambiente acquatico con particolare attenzione a quello marino.

Gli ambienti acquatici sono molteplici e presentano caratteristiche molto diverse, essi includono mari, laghi, fiumi ma anche piscine e altri bacini artificiali. In questo contesto il tasso di decomposizione dipenderà naturalmente dalle caratteristiche dell'ambiente ma anche da quello del corpo, tuttavia, in generale la decomposizione in ambiente acquatico risulta più lenta di quella in ambiente terrestre (Rodriguez, 1997; Sorg et al., 1997). Tra le cause di questo rallentamento vi è la riduzione quasi totale di azione da parte dell'entomofauna (Westling, 2012) nonché la riduzione dell'attività batterica per via della generale riduzione delle temperature rispetto all'ambiente terrestre, riduzione che si accentua con l'aumentare della profondità. Vi sono poi le caratteristiche chimiche dell'acqua a influenzare la decomposizione, per esempio acque salate tendono a rallentare i processi, rispetto all'acqua dolce, a causa della modificata attività batterica, anche la quantità di rifiuti organici nell'acqua modifica la presenza della componente batterica e di conseguenza la velocità di decomposizione. Inoltre, le condizioni anaerobiche, che non di rado si generano in questo ambiente, riducono lo sviluppo e l'azione da parte di batteri aerobi. Naturalmente vi è poi il pH, normalmente ambienti acquatici hanno un pH tra 6 e 8 ma determinate condizioni possono spostarlo verso condizioni più acide o più basiche, e anche la stessa attività batterica legata alla decomposizione può modificare il pH: per esempio batteri correlati al processo di saponificazione tendono a basificare l'ambiente circostante creando quindi condizioni sfavorevoli per batteri decompositori (Forbes et al., 2011). In alcuni casi le peculiari condizioni di deposizione di resti umani in ambiente marino, come la permanenza in ambienti chiusi quali imbarcazioni o aerei, possono ridurre l'azione da parte di alcuni organismi spazzini (*scavengers*) tuttavia molti altri, specialmente artropodi e molluschi, possono ugualmente raggiungere il corpo (Raymer, 1996; Foecke et al., 2010; Introna et al., 2013).

Tra le caratteristiche corporee che influenzano il tasso di decomposizione possiamo elencare invece la presenza di indumenti che possono agevolare o al contrario sfavorire il galleggiamento e l'accessibilità da parte degli organismi acquatici, le caratteristiche intrinseche del cadavere che a loro volta possono favorire o meno il galleggiamento dello stesso ma anche la posizione che esso assume nella colonna d'acqua.

Come accennato all'inizio, l'ambiente acquatico ha reso necessario apportare delle variazioni ai classici modelli della decomposizione descritte per l'ambiente terrestre, è quindi opportuno fare in questa sede una piccola digressione tanatologica. Sono stati descritti cinque stadi, in accordo con Haefner (2004) e Merritt e Wallace (2010) che hanno ridotto di uno gli originali sei stadi di Payne e King (1972), si parla quindi di: "*fresh submerged*" fase iniziale di sommersione in cui il corpo appare ben conservato, "*early floating*" secondo stadio in cui il corpo appare gonfio e galleggia sulla superficie dell'acqua, "*early floating decay*" primi segni di decomposizione i tessuti molli cominciano a perdere connessione con il resto del corpo, "*advanced floating decay*" segni evidenti di decomposizione, lo scheletro comincia a essere esposto, "*sunken remains*" i resti ormai scheletrizzati affondano.

Più nel dettaglio, nel momento in cui il corpo entra in acqua la spinta al galleggiamento sarà data dalla forza di Archimede, tuttavia, questa non sarà necessariamente sufficiente a garantire il galleggiamento, ciò dipenderà dalla capacità di galleggiamento del corpo, capacità a sua volta

connessa a diversi fattori quali la capacità polmonare residua, la presenza di gas nel tratto intestinale, la quantità di grasso, l'abbigliamento e più tardi la presenza di gas di decomposizione che si accumulano all'interno. Se queste sacche faranno sì che il peso specifico del corpo sia inferiore a quello dell'acqua (acqua dolce -1.000, acqua di mare -1.026) esso galleggerà, al contrario esso comincerà ad affondare (Rodriguez, 1997; Haglund e Sorg, 2002; Higgs e Pokines, 2013). Quando un corpo comincia ad affondare, la crescente pressione dell'acqua sulle restanti sacche di gas le farà contrarre, diminuendo ulteriormente il galleggiamento del corpo (Donoghue e Minnigerode, 1977). Il corpo riemergerà con l'inizio dell'autolisi e della putrefazione quando la galleggibilità verrà modificata dalla produzione di gas e dal conseguente gonfiore al punto da vincere la pressione idrostatica, ciò naturalmente dipenderà dalla profondità alla quale esso si trova (la pressione dello strato di acqua cresce di un'atmosfera ogni 10 metri di profondità) (Allison et al., 1991). Una volta che il gas viene rilasciato, i resti affonderanno ancora una volta mentre il processo di decomposizione continua.

Al procedere della decomposizione, il cadavere solitamente tenderà a perdere la sua integrità fino alla graduale dispersione di singole porzioni (Voorhies, 1969; Dodson, 1973; Haglund, 1993; Stojanowski, 2002). Le estremità tendono ad essere perse per prime come dimostrato dagli studi di Haglund (1993) e Haglund e Sorg (2002), solitamente l'iter ha inizio da mani e polsi per passare poi a piedi e caviglie poi la mandibola e il cranio, ancora dopo si ha il distacco di gambe, avambracci e braccia. La perdita di tessuto molle si verifica più rapidamente nelle aree in cui si sovrapponeva sottilmente all'osso, incluso il cranio, le mani e la porzione anteriore della tibia.

Va sottolineato che il corpo umano è molto diverso da quello della maggior parte degli altri animali, le braccia e le gambe sono molto lunghe e grandi rispetto alle dimensioni del tronco e più dense rispetto a questo, come anche la testa. Questo fa sì che arti e capo tendano a penzolare verso il fondo, mentre il torso rimanga più in superficie, con il generarsi di una posizione relativamente stabile. Tale posizione in ambienti poco profondi espone queste parti del corpo penzolanti, all'abrasione meccanica dovuta al trascinarsi sul fondo, particolarmente vulnerabili sono la fronte, le dita dei piedi e il dorso delle mani (Spitz, 1993).

Tuttavia, come già si è detto per l'ambiente terrestre, anche l'ambiente marino è favorevole all'instaurarsi di fenomeni conservativi, in particolare quello della saponificazione, già descritta come possibile fenomeno in alcuni ambienti terrestri estremamente umidi. Questo fenomeno, oltre a interrompere il classico iter distruttivo della decomposizione rende anche il corpo meno attraente per diversi tipi di organismi spazzini favorendone ulteriormente la conservazione.

Una volta che lo scheletro è esposto esso è soggetto ad azione da parte di diversi agenti fisici in ambienti acquatici, specialmente in quelli ad alta energia (Haglund e Sorg 2002; Higgs e Pokines, 2013; Sorg et al., 1997). In questi contesti infatti i resti vengono ripetutamente in contatto con substrati abrasivi e rocce o sono esposti a particelle abrasive sospese (Parsons e Brett, 1991), questo genera abrasione superficiale ma anche arrotondamento dei margini e fratture lungo le linee naturali di debolezza che possono alterare la naturale morfologia dell'osso stesso ma anche in alcuni casi celare e cancellare tracce di precedenti ambienti (Fernández-Jalvo e Andrews, 2003) o segni di lesività (Brooks e Brooks, 1997; Nawrocki et al., 1997).

Allo stesso tempo, le ossa possono essere trascinate dall'azione delle onde su affioramenti rocciosi frastagliati e altri oggetti appuntiti, che possono lasciare tracce di abrasione. Questo tipo di incisione superficiale può essere orientato in qualsiasi direzione, anche se spesso vengono create più incisioni in parallelo quando l'osso viene trascinato su un oggetto con proiezioni multiple.

Altri tipi di alterazione da agenti fisici tipici di ambiente acquatico sono la presenza di sedimenti che facilmente si insinuano in forami, porzioni di osso spugnoso esposto, superfici di frattura etc, ma anche macchie e concrezioni ferrose, tracce a cui si è già fatto riferimento per l'ambiente terrestre ma che si possono verificare anche in ambiente marino in presenza di ferro.

Altro segno che vede un parallelo tra ambiente terrestre e quello acquatico, ed in particolare marino è lo sbiancamento, visto come esito della radiazione UV in ambiente terrestre, può verificarsi anche in ambiente marino, in questo caso però il fattore tafonomico è l'acqua salata. I due tipi di sbiancamento, tuttavia, sono ben distinguibili infatti lo sbiancamento da radiazione solare è un fenomeno localizzato, che interessa le porzioni più esposte del campione, al contrario, quello da acqua marina interessa il campione nella sua totalità e non si associa a fenomeni quali esfoliazione e sfaldamento come il precedente (Higgs e Pokines, 2013). L'azione dei sali, responsabile dello sbiancamento è responsabile anche di fratture che possono generarsi nel tessuto osseo: le ossa sommerse in ambiente marino per lungo tempo infatti possono assorbire ioni di sali quali Na^+ e Cl^- che vanno ad accumularsi nelle porzioni più porose dell'osso, una volta che questo viene rimosso dall'ambiente i sali tenderanno a cristallizzare espandendosi ed esercitando così una pressione distruttrice sul tessuto.

Incrostazioni sul tessuto osseo possono anche avere origine organica, tra gli organismi aderenti su substrati duri, quali l'osso, vi sono le alghe, il cui apparente unico requisito per la scelta del substrato è la stabilità del substrato stesso (Zimmerman e Wallace, 2008). Le alghe, tuttavia, sono estremamente limitate nella loro colonizzazione dalla necessità di radiazione luminosa, quindi, rimangono circoscritte alla zona fotica, zona che varia in spessore in base alla torbidità dell'acqua. Alghe possono aderire al substrato per mezzo di glicoproteine o acido-polisaccaridi/proteina in grado di generare vere e proprie cicatrici sul tessuto osseo (Bromley e Heinberg, 2006). È interessante notare che la crescita algale può anche essere responsabile del trasporto di elementi scheletrici quando la galleggibilità delle alghe attaccate supera la massa dell'osso (Gilbert, 1984).

Infine, vi è la grande classe dell'alterazione da parte di organismi biologici detta bioerosione, ossia la rimozione dell'osso da parte di organismi viventi. La bioerosione è esito delle diverse funzioni ecologiche a cui il corpo assolve in questo contesto, esso può diventare fonte di energia per un'ampia varietà di pesci e invertebrati spazzini, fornire microhabitat per piccole specie non necrofaghe, attirare specie predatorie attratte dai necrofagi, e in fasi avanzate di decomposizione, servire come substrato per invertebrati attratti dalle pellicole batteriche sulle ossa, o per le ossa stesse come fonte di calcio e altri minerali (Sorg et al., 1997).

Belaústegui et al. (2012) fanno una distinzione in microbioerosione e macrobioerosione. La microbioerosione è causata da organismi microscopici, inclusi funghi, batteri, e cianobatteri (Arnaud et al., 1978; Ascenzi e Silvestrini, 1984; Davis, 1997; Yoshino et al., 1991). Le alterazioni solitamente puntiformi, dette lesioni focali, dovute a questo tipo di organismi, sono evidenti anche in ossa provenienti da ambienti terrestri, tuttavia sembra esserci una differenza morfologica tra il quelle di ambiente terrestre e di ambiente acquatico, il *Wedl tunneling* (lesione allungata (Delannoy et al., 2018)) è il tipo più comune di distruzione focale osservato in ossa provenienti da ambienti marini (Bell e Elkerton, 2008; Trueman e Martill, 2002; Yoshino et al., 1991) e si pensa sia causato da cianobatteri (Bell e Elkerton, 2008; Davis, 1997) o funghi (Trueman e Martill, 2002), mentre la distruzione focale batterica è più comune in ambienti terrestri.

I microrganismi giocano un ruolo chiave nella bioerosione favorendo, con la loro azione, quella di organismi più grandi. In primo luogo, il valore nutritivo dei microrganismi attrae animali più

grandi a brucare gli strati superficiali di osso, inoltre la matrice minerale-collagene dell'osso è altamente refrattaria e indigesta, ma i microorganismi sono in grado di sbloccare i nutrienti del collagene e renderli disponibili per i gradini più alti della catena alimentare. In secondo luogo, il grado in cui i microorganismi penetrano nell'osso compromette gravemente la sua integrità strutturale, permettendo ai *grazers* di erodere facilmente l'osso.

Passando alla macrobioerosione, un'ampia varietà di invertebrati sono noti per brucare substrati duri per i microorganismi e alghe che crescono in o su di essi, compresi diversi chitoni e molluschi gasteropodi, ricci di mare e granchi.

I molluschi, ad esempio, hanno un'appendice chitinosa di alimentazione chiamata radula che è costellata con file di minuscoli denti, spesso induriti dall'incorporazione di composti metallici, essi quindi usano la radula per raschiare le alghe che sono incorporate nell'osso, rimuovendo con esse anche strati di osso. Le tracce di pascolo si presentano in blocchi multipli di striature parallele con un rilievo superficiale di 20-100 μm e possono coprire un'ampia superficie (Bromley, 1994).

Diverse famiglie di gasteropodi di acque profonde sembrano essersi specializzate sul tessuto osseo e sono state trovate con interiora piene di detriti ossei (Haszprunar, 1988; Marshall, 1987; Warén, 2011). All'interno del phylum dei molluschi vi sono tuttavia anche molti organismi con modalità di alimentazione diversa ma che tuttavia possono interagire con l'osso che sfruttano quale superficie di ancoraggio o sul quale si spostano in cerca di cibo. Il primo caso è quello dei bivalvi; molte specie di bivalvi, infatti, sono sessili e si nutrono per filtrazione dopo essersi ancorate permanentemente a substrati duri in ambienti marini e d'acqua dolce, compreso l'osso, usando tecniche di perforazione sia chimiche che meccaniche (Savazzi, 1999). L'attaccamento si ottiene con fili di bisso formato da proteine reticolate secrete (Waite, 2002; Hight e Wilker, 2007) (Figura 1.3).

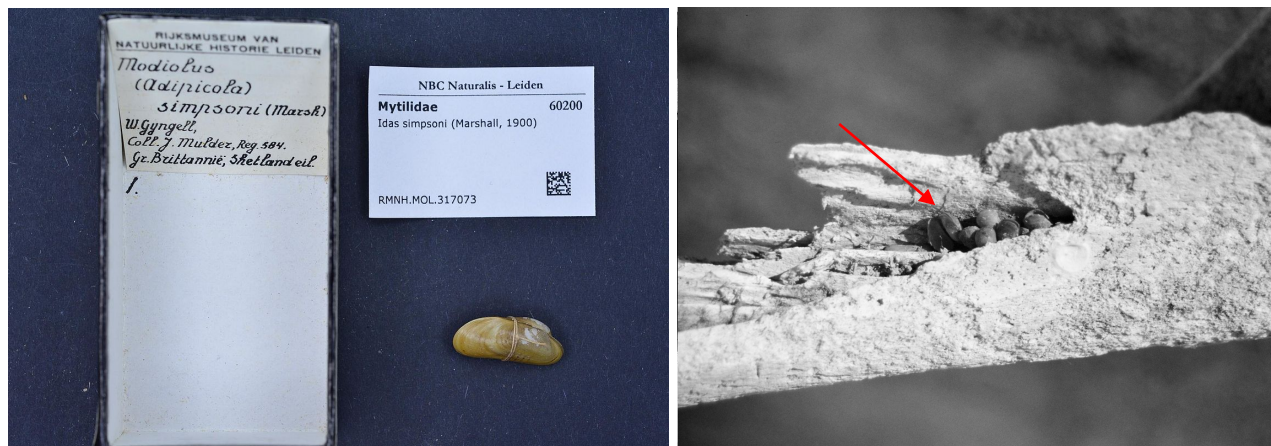


Figura 1.3 Esempio di bivalve sessile della specie *Idas simpsoni*, a sinistra immagine del campione custodito presso Museo di Scienze Naturali di Leiden, a destra immagine di *Idas simpsoni* su osso da Bolotin et al., 2005.

Altri, come i bivalvi foladidi, bivalvi a conchiglia sottile, bianca, ricoperta di lamelle embricate disposte a rassa, mediante un movimento rotatorio della conchiglia, scavano profonde gallerie cilindriche nelle quali si posizionano in modo permanente. Essi sono stati trovati in vari tipi di roccia, conchiglie, legno, carbone, piombo, cemento e plastica ma anche ossa recenti e fossili (Savazzi, 1999) (Figura 1.4). Le tracce lasciate da bivalvi scavatori sono perforazioni a forma di fiasco con un collo stretto che conduce da un'apertura superficiale in una camera interna arrotondata, dall'esterno,

appaiono come fori nella superficie dell'osso (Kelly e Bromley, 1984). Alcune specie inoltre producono un rivestimento calcareo con il quale foderano i loro fori.



Figura 1.4 Esempio di bivalve foladide della specie *Lithophaga lithophaga*, a sinistra immagine del campione custodito presso Museo Zoologico di Amsterdam, a destra immagine di *Lithophaga lithophaga* da Trigui el-menif et al., 2007.

Vi è poi il phylum Echinodermata, che comprende diverse specie necrofaghe (Jangoux, 1982), esse hanno un apparato mascellare a cinque denti (lanterna di Aristotele) che usano per raschiare superfici dure, tra cui ossa, facendo ciò, generano una traccia distintiva a forma di stella, denominata *gnathichnus pentax*.

Il Phylum Arthropoda comprende un enorme assemblaggio di organismi terrestri e acquatici. Se in ambiente terrestre e in acqua dolce vi sono gli insetti che dominano l'ambiente cadaverico e in alcuni casi sfruttano anche il tessuto osseo, i crostacei dominano negli habitat marini. Macroscavatori come grandi gamberi, aragoste e granchi risultano di notevole importanza in contesto forense poiché si nutrono delle regioni più esposte del corpo producendo lesioni che possono risultare anche ingannevoli e confondibili con segni di lesività. Granchi che brucano sono stati documentati solo su ossa provenienti da ambienti di acque profonde fino ad oggi, essi possono brucare direttamente l'osso e organismi su di esso presenti (Hoyoux et al., 2012, Braby et al., 2007). Vi sono poi i microscavatori, crostacei relativamente piccoli (meno di 2 cm di lunghezza), come piccoli isopodi e piccoli gamberetti che tendono a aggredire il cadavere in gran numero.

Ancora vanno citati i cirripedi, che possono usare l'osso come altri substrati duri quali superficie di adesione: sono crostacei sessili da adulti, presenti in acque profonde, ma più abbondantemente in acque basse e nella zona intertidale di ambienti marini e salmastri. I cirripedi una volta trovato un substrato duro per l'ancoraggio catturano plancton e altro cibo microscopico agitando apposite appendici (Figura 1.5). Il loro meccanismo di adesione è basato sull'uso di un polimero proteico che gli garantisce stabilità anche su oggetti in movimento (mammiferi marini e scafi di navi) o rocce sottoposte a una forte azione delle onde (Dickinson et al., 2009; Stewart et al., 2011). I loro corpi sono protetti da piastre calcificate che dopo la morte dell'individuo, possono persistere come traccia sul substrato.



Figura 1.5 Esempio di crostaceo cirripede della specie *Lepas (Anatifa) anatifera*, a sinistra immagine di alcuni esemplari rimossi dal substrato, a destra immagine di esemplari adesi a substrato duro (Mer et littoral).

Gli anellidi, in particolare i policheti, sono alcuni dei più prolifici perforatori di substrati duri nel regno marino, in particolare i policheti (Figura 1.6). Le perforazioni possono assumere una varietà di forme, ma sono tipicamente a forma di U con due aperture, esse assolvono quasi sempre alla funzione di domicili protettivi, poiché pochissimi substrati duri possono fornire nutrimento.

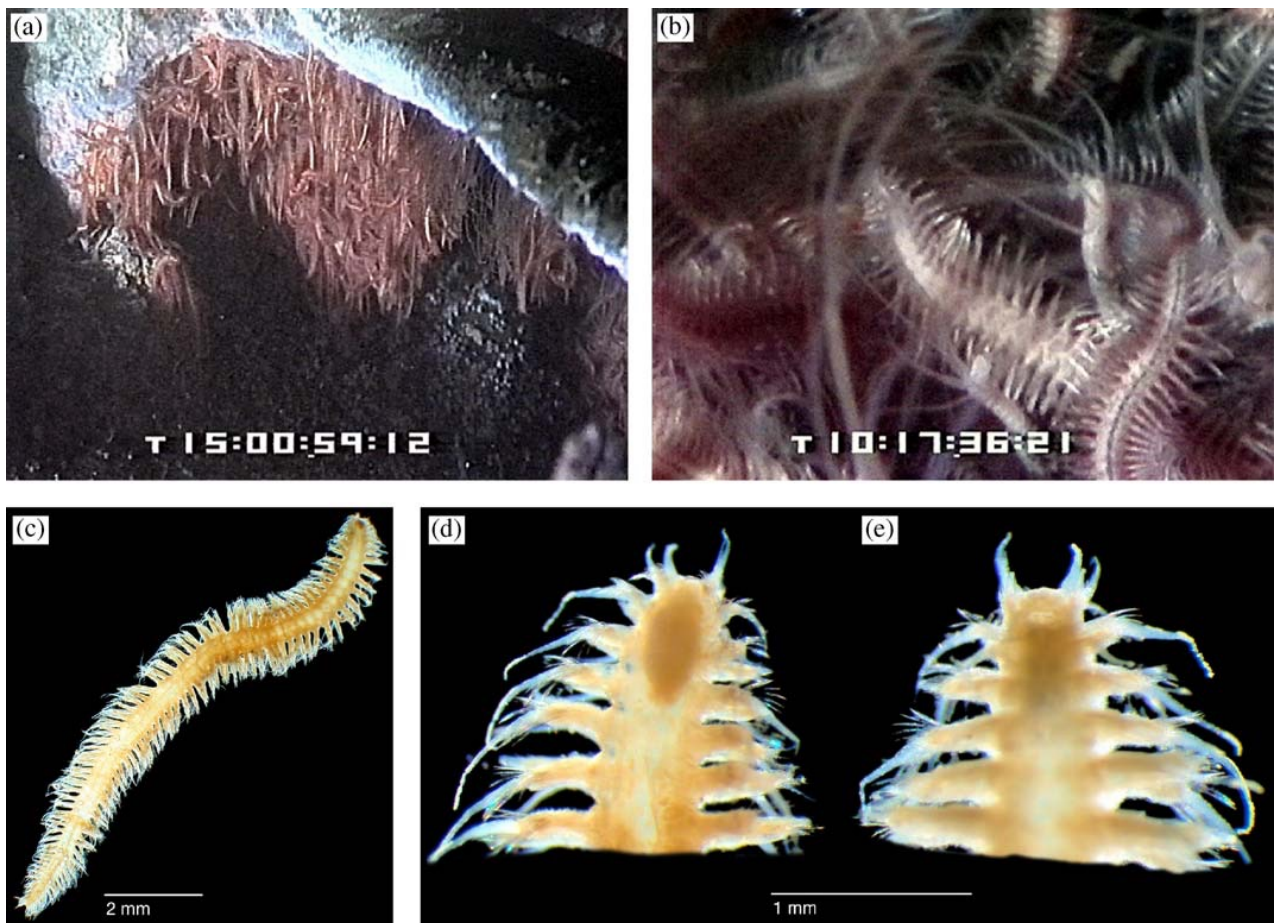


Figura 1.6 Esempio di anellide polichete della specie *Vigtorniella flokati*, in alto immagine di alcuni esemplari adesi al substrato roccioso, in basso immagine di esemplari liberi, da Dahlgren et al., 2004.

Discorso a parte va fatto per il genere *Osedax*, anellide policheta della famiglia Siboglinidae il cui nome deriva dal latino e significa "mangiatore (*edax*) di ossa (*os*)", esso infatti, per quanto fino ad oggi noto, sussiste interamente grazie a resti scheletrici di vertebrati sul fondale marino (Figura 1.7). Dalla loro scoperta in carcasse di balene nella baia di Monterey (Rouse et al., 2004), sono state segnalate 26 unità tassonomiche operative (OTU) di *Osedax* per lo più in acque profonde, sotto i 100 m (Rouse et al., 2004; Glover et al. 2005; Fujikura et al., 2006; Glover et al., 2008; Vrijenhoek et al., 2009); tuttavia, alcuni esemplari sono stati trovati a vivere su ossa a 30 m durante l'inverno alle alte latitudini (Dahlgren et al., 2006) negli oceani Pacifico, Atlantico settentrionale e meridionale (Taboada et al., 2015).

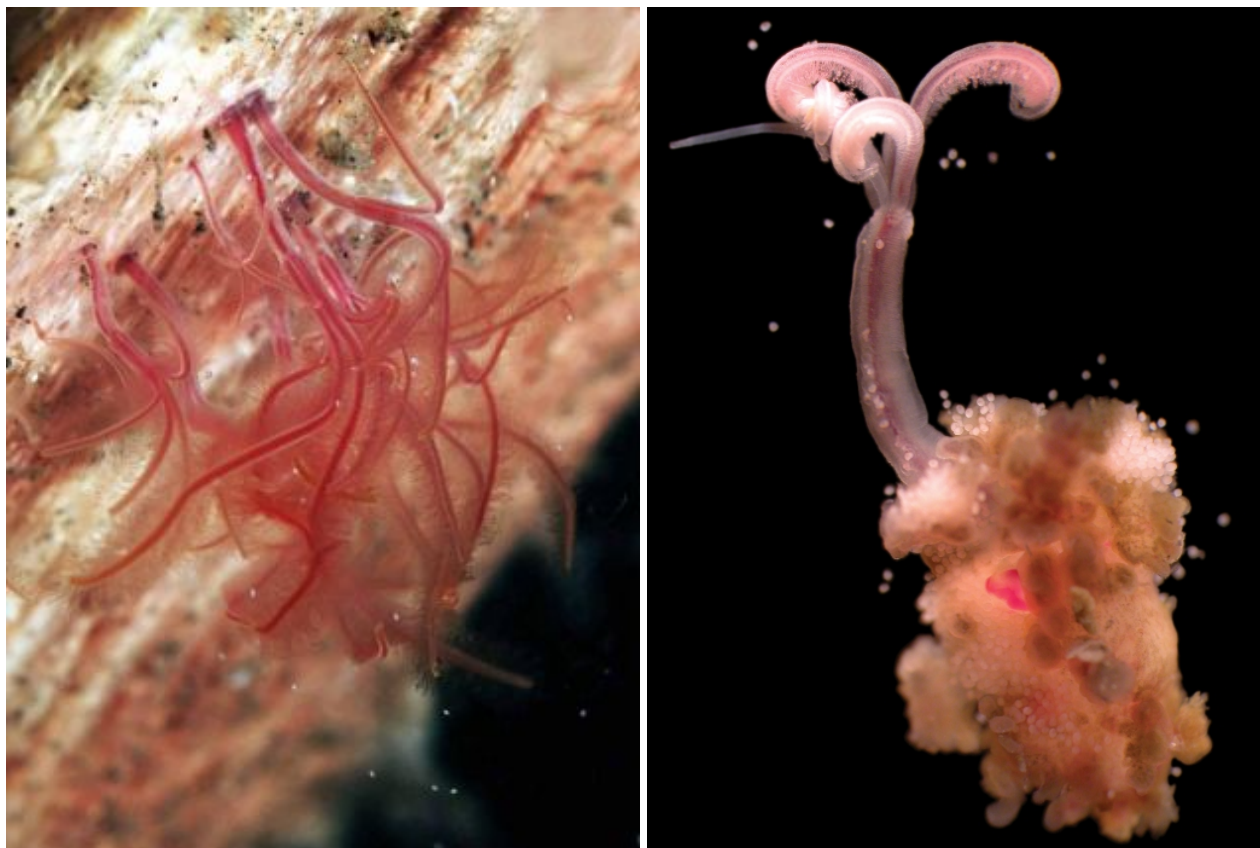


Figura 1.7 Esempi di anellide polichete del genere *Osedax*, a sinistra immagine di alcuni esemplari adesi al substrato osseo (Image credit: Yoshihiro FUJIWARA/JAMSTEC), a destra immagine di esemplare libero di *Osedax mucofloris*, da *Worms*.

Nel 2016, è stata scoperta una nuova specie di *O. mediterranea* che abita acque più calde e meno profonde, e questa non sembra essere l'unica specie che può adattarsi a condizioni diverse da quelle inizialmente considerate tipiche (Taboada et al., 2015).

Una volta trovato il substrato idoneo vi si posizionano stabilmente e iniziano la loro azione di distruzione del tessuto sfruttando appendici specializzate che rilascia una combinazione di acidi ed enzimi proteolitici in grado di dissolvere la matrice collagene/minerale dell'osso (Higgs et al., 2011b). Essi possono colonizzare le ossa nell'arco di 2 mesi e generalmente, quando colonizzano un substrato lo fanno in numero elevato, fino a 30/cm² (Goffredi et al., 2004; Braby et al., 2007). Inizialmente descritti esclusivamente su scheletri di grandi cetacei, sono stati documentati anche su ossa di maiale, mucca o pesci in contesto sperimentale (Jones et al. 2008; Rouse et al. 2011).

La femmina è sessile, permanentemente attaccata alle ossa, manca di una bocca e di un intestino e presumibilmente si nutre assorbendo i nutrienti delle ossa stesse attraverso estese ramificazioni all'estremità posteriore del corpo note come "radici". Le radici di *Osedax* ospitano batteri eterotrofi aerobi endosimbiotici dell'ordine Oceanospirillales in batteriociti specializzati. I simbionti sembrano essere coinvolti nella metabolizzazione di composti organici complessi derivati dall'osso e a loro volta vengono digeriti dal verme ospite. I maschi di *Osedax* sono significativamente più piccoli delle femmine, variando da 0,3 a 1 mm di lunghezza, e, a seconda della specie, centinaia di maschi "nani" possono abitare il tubo di una singola femmina con il solo scopo di produrre sperma per fecondare le sue uova. I maschi mancano di batteri simbiotici e sembrano contare solo sulle riserve di tuorlo per la produzione di sperma. Per accedere ai nutrienti ossei, le femmine di *Osedax* usano un doppio metodo di "perforazione e alimentazione", demineralizzazione dell'osso e assorbimento dei nutrienti; questo metodo è notevolmente simile alle cellule osteoclaste dei mammiferi (Tresguerres et al., 2013).

A differenza delle perforazioni di altri anellidi, quelle di *Osedax*, non presentano forma a U ma appaiono sulle superfici ossee come piccole (tra 0,3 e 1,9 mm di diametro) aperture simili a punture di spillo con bordi nitidi e ben definiti (Higgs et al., 2014). Mentre ogni foratura rappresenta l'attività di un individuo separato, su ossa densamente colonizzate le camere subsuperficiali possono fondersi insieme e collassare per formare pockmark più grandi e arrotondati o anche ampie aree di erosione (Danise e Higgs, 2015; Higgs et al., 2012). I fori sulla superficie dell'osso sono macchiati da un alone di precipitato nero che può apparire grigio a causa dei batteri che crescono su queste aree. Questi aloni corrispondono all'estensione del tessuto radicale sotto lo strato superficiale dell'osso. Per quanto riguarda la morfologia delle gallerie scavate a livello delle radici, le conoscenze derivano principalmente dal lavoro di Higgs e colleghi su *Osedax mucofloris*, si tratta di camere bulbose che possono fondersi per creare grandi cavità sotterranee. A volte il sottile strato superficiale dell'osso può collassare, esponendo aree sub circolari di osso eroso (Higgs et al., 2010; Higgs et al., 2011b, Higgs et al., 2012).

Infine, le demospugne rocciose (principalmente nella famiglia Clionaidae) sono noti agenti di alterazione, in grado di causare danni significativi ai substrati calcarei duri e al materiale scheletrico (Figura 1.8). Tipiche di mari tropicali e temperati in ambienti poco profondi e profondi.

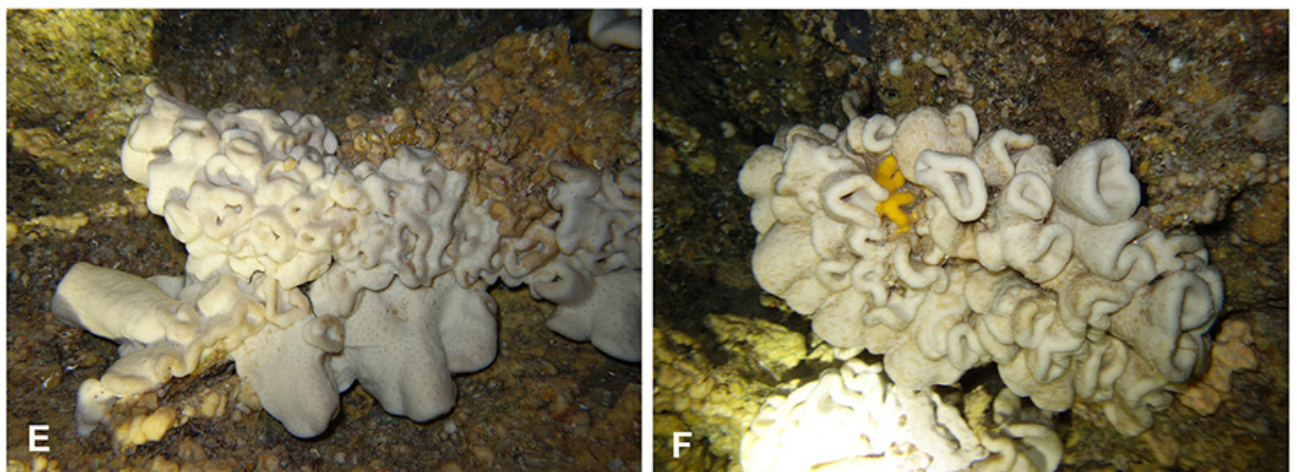


Figura 1.8 Esempio di demospugne rocciose della specie *Neophrissospongia endoumensis* adese a substrato roccioso, da Pisera e Gerovasileiou, 2021.

Le spugne sono state raramente documentate su ossa sommerse, un singolo record proviene da resti scheletrici umani trovati in un naufragio di 200 anni fa a 33 m di profondità al largo di Australia (Steptoe e Wood, 2002).

La perforazione delle spugne viene effettuata a livello cellulare dove il tessuto della spugna entra in contatto con la superficie del suo substrato ospite (Pomponi, 1980). Le proiezioni cellulari penetrano chimicamente il substrato e poi si uniscono per incapsulare un piccolo frammento o chip. Una volta circondato, il frammento viene staccato ed espulso meccanicamente attraverso le papille esalanti. Dalla superficie dell'osso, le perforazioni delle spugne appaiono come piccoli fori rotondi, simili a quelli prodotti dai *Osedax*, i sifoni esalanti e inalanti della spugna, tuttavia, presentano dimensioni molto vari al contrario di quelli di *Osedax*, altro elemento è il pattern di distribuzione, regolare per le spugne e casuale invece nel caso di *Osedax*. Lo strato superficiale dei fori di spugna può collassare, lasciando un'ampia area di osso eroso.

Poi vi sono gli effetti di grandi predatori e spazzini di vertebrati, i quali, oltre ai massicci danni ai tessuti molli, possono anche lasciare tracce sull'osso sotto forma di corrosione digestiva e segni di denti. Molti pesci marini sono spazzini o combinano abitudini da predatore con quelle di necrofago, diversi studi ad esempio dimostrano come questo sia un comportamento proprio, tra gli altri, degli squali (Byard et al., 2002; Makino et al., 2004; Ihama et al., 2009).

Un corpo che galleggia in superficie o che va alla deriva attraverso la colonna d'acqua, quindi, facilmente subirà l'attacco di varie specie di pesci, i quali possono alterare significativamente i resti umani, specialmente una volta che il corpo raggiunge il fondo. Il tempo di risposta all'arrivo di un corpo può essere notevolmente rapido, studi sperimentali hanno dimostrato che già dopo 5 minuti dall'arrivo sul fondale compaiono i primi pesci spazzini (Sorg et al., 1997).

Per quanto riguarda gli squali, che sono sicuramente il *taxon* più conosciuto da questo punto di vista, estremamente noti sono i grandi squali bianchi, la cui forza massima di morso di circa 4000 libbre (1814 Kg) risulta la più elevata tra tutte le specie esistenti (Wroe et al., 2008). I denti, tuttavia, sono relativamente fragili e crescono su più file (serie) connesse a mascella e mandibola solo da tessuti flessibili. Quando i denti vengono persi, nuovi denti ruotano in avanti per prendere il loro posto. L'alimentazione di questi animali non comporta la masticazione ma lo sminuzzamento che viene realizzato scuotendo la testa lateralmente, azione che, in sinergia con quella dei margini distali e mesiali dei denti, fa sì che tessuti molli vengano strappati (Whitenack e Motta, 2010). Questo modello di comportamento alimentare è il motivo per cui i morsi di squalo tendono ad essere così frastagliati attraverso tessuto molle rimanente, con spesso un'area a forma di mezzaluna di carne rimossa (Ihama et al., 2009). A volte, questo comportamento è diretto a valutare un oggetto come potenziale fonte di cibo, quindi il tessuto molle viene estremamente danneggiato ma poco ne viene effettivamente consumato (Byard et al., 2000; Ritter e Levine, 2005). Per la loro struttura e modalità di azione non è raro che denti interi o frammenti di essi vengano lasciati nelle ferite (İşcan e McCabe, 1995; Ihama et al., 2009; Lentz et al., 2010).

Fatta eccezione per le specie più grandi gli squali avrebbero difficoltà a frantumare le ossa di grandi mammiferi (compresi gli esseri umani), poiché i loro apparati boccali non sono morfologicamente adatti per questo scopo, le lesioni traumatiche sono quindi spesso limitate ai tessuti molli, e qualsiasi alterazione delle ossa risulta esigua anche se accompagnata da grandi quantità di tessuto molle danneggiato (Byard et al., 2000). L'amputazione di porzioni del corpo si verifica di solito in corrispondenza delle articolazioni, con pochissimo schiacciamento o rottura delle ossa coinvolte (Ihama et al., 2009).

I morsi da predazione sull'uomo sono spesso diretti a gambe e aree addominali, poiché queste aree sono spesso più in profondità e risultano quindi le prime che lo squalo, che si avvicina dal basso, raggiunge (Ihama et al., 2009; Ritter e Levine, 2005). Ihama e colleghi (2009) notano che le caratteristiche dei morsi da squalo sui tessuti molli includono l'incisione senza abrasione, le ferite presentano bordi seghettati, spesso vi è un lembo triangolare o rettangolare di pelle che permane sul sito della ferita che mostra tracce dei denti. La morfologia e la dimensione dei denti di squalo variano a seconda del *taxon* (e dell'individuo) e può essere identificata anche a livello di specie in alcuni casi dai soli denti sulla base di forma complessiva e margini (Nambiar et al., 1996; Whitenack e Motta, 2010).

Il danno alle ossa consiste più frequentemente in striature parallele (segni lineari che non penetrano lo strato corticale) o solchi (segni lineari che penetrano lo strato corticale). Questi sono causati da margini di denti multipli che raschiano simultaneamente la superficie dell'osso (Byard et al., 2000, 2002; Ihama et al., 2009; İşcan e McCabe, 1995). Allaire e Manhein (2009) e Allaire et al. (2012) entrano più in dettaglio nel descrivere i tipi di tracce dentali lasciate dagli squali, identificando i seguenti tipi di trauma osseo: (1) punture senza fratture associate, causate da denti che entrano nell'osso con un impatto diretto; (2) punture con fratture associate, causate da denti che entrano in porzioni più deboli dell'osso (costole, ecc.) con un impatto diretto e creando fratture da compressione; (3) striature con raschiamento dell'osso, dove il margine del dente raschia una protuberanza dell'osso e poi scivola via; (4) strisce sovrapposte striature, causate da passaggi multipli con i denti nella stessa posizione mentre la testa dello squalo si muove da un lato all'altro; e (5) scanalature dell'osso incise (Higgs e Pokines, 2013).

1.3.2 L'ambiente noto, le *body farm*

Quando riportato finora dovrebbe aver chiarito la complessità e il potere dell'azione dell'ambiente su un corpo che in esso permane. Ogni ambiente, quindi, agisce in modo diverso sui resti e la sua azione è esito dell'interazione di un numero elevatissimo di variabili, la complessità dell'azione e la sua scarsa controllabilità fa sì che la maggior parte delle ricerche sperimentali che hanno per oggetto le tracce su cadavere vengono realizzate in ambienti controllati quali laboratori o altri ambienti chiusi. Se questo da un lato facilita la lettura dei risultati limitando drasticamente il numero delle variabili in gioco, dall'altro costituisce un limite importante alla comprensione di molti fenomeni post mortali, del valore di tracce ambientali e non e della corretta interpretazione dei fenomeni tafonomici.

Per queste ragioni da ormai diversi decenni sono nate le *body farm*, letteralmente fabbriche dei corpi, termine romanzesco che fa riferimento a dei veri e propri laboratori all'aperto nei quali è possibile portare avanti sperimentazioni in condizioni parzialmente controllate. Generalmente questi laboratori vengono sfruttati per ricerche sulla decomposizione e i fenomeni tafonomici tramite simulazione di diversi contesti e valutazione di diverse variabili, vengono inoltre sfruttate per la formazione di cani da cadavere ma anche per condurre programmi di formazione per scienziati e forze dell'ordine, non da ultimo questi centri sono una fonte di materiale per le collezioni osteologiche e di dati che vanno a implementare le conoscenze antropologiche fisiche.

La storia delle *body farm* ha inizio nel 1981 quando il dottor William M. Bass, noto antropologo forense americano, fonda la University of Tennessee Anthropological Research Facility, un'aggiunta pionieristica alla ricerca antropologica forense dell'Università del Tennessee.

Gli eventi che condussero lo scienziato a creare questa struttura ebbe inizio circa dieci anni prima, quando al professore venne chiesto di esaminare e stimare l'intervallo *post mortem* dei resti umani

trovati nella proprietà che apparteneva alla famiglia del colonnello confederato William Shy. Anche se all'epoca si sapeva poco sulla stima del tempo trascorso dalla morte, la presenza e la qualità dei tessuti molli portarono il dottor Bass a stimare l'intervallo *post mortem* a circa un anno. Parte del tessuto era ancora rosa ed erano presenti ancora resti di organi interni, compreso il cervello. Tuttavia, vi erano alcune anomalie, la situazione dentaria nonché l'abbigliamento dell'ignota vittima sembravano decisamente desuete e la lesività visibile sui resti era compatibile con quanto noto sul colonnello Shy, infatti ulteriori indagini dimostrarono che i resti erano proprio quelli del colonnello Shy, sepolto nel 1864; l'intervallo post mortale era stato sottostimato di oltre cento anni. Questo errore può essere spiegato solo con un anomalo iter decomposizionale e con il subentrare, almeno in alcune aree del corpo, di fenomeni conservativi. Infatti, il colonnello Shy, come si addiceva agli eroi dell'epoca, fu imbalsamato con arsenico e sepolto in una bara di ghisa, queste pratiche, hanno indotto un inaspettato stato di conservazione dei tessuti molli. Questo caso ha dimostrato chiaramente la necessità di approfondire le conoscenze su cambiamenti post mortali e decomposizione e ha aperto la strada a decenni di successive e continue ricerche (Bass, 1984; Mann et al., 1990).

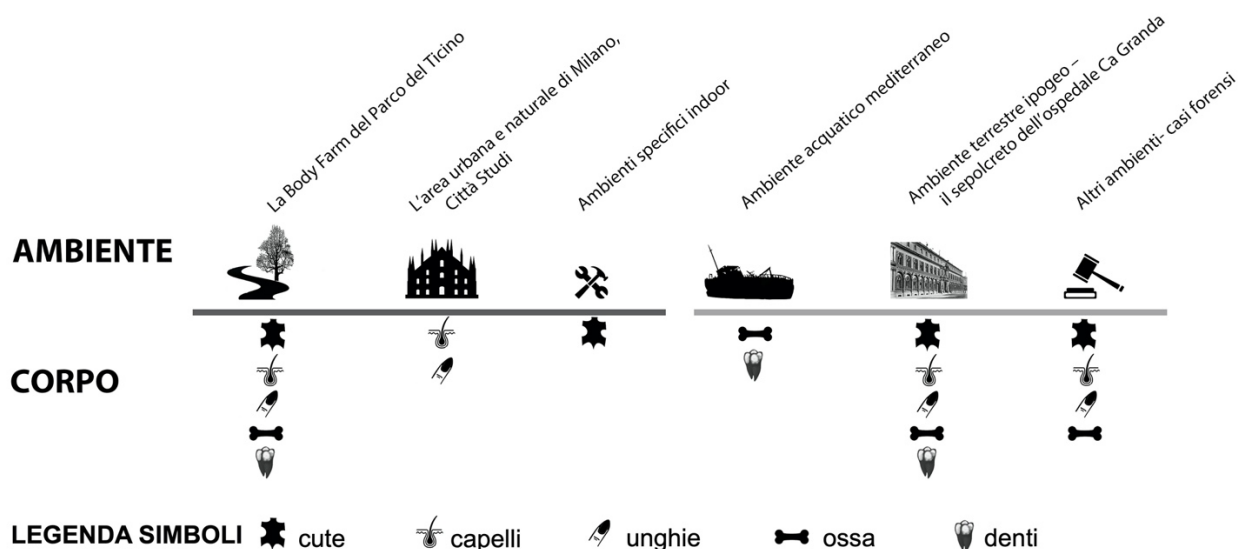
Dopo 25 anni in cui la University of Tennessee Anthropological Research Facility è stato l'unica *body farm* americana e l'unica al mondo, sono nati progetti simili anche in altre università americane, come la Western Carolina University (2006), la Texas State University (2008), la Sam Houston State University (2010), la Southern Illinois University, Carbondale (2012), la Colorado Mesa University (2013), la Forensic Research Outdoor Station (FROST) della Northern Michigan University (2017)(Rivera, 2017) e infine, da settembre 2019 l'University of South Florida (Killgrove, 2015). Queste otto sono attualmente le uniche *body farm* che hanno accettato donazioni umane negli Stati Uniti; tuttavia, è in programma la creazione di strutture simili in Florida, Wisconsin e Pennsylvania. Al di fuori degli Stati Uniti è presente una *body farm* in Australia, attiva dal 2016 e facente parte dell'università University of Technology di Sidney (UTS). Una *body farm* è presente anche in Canada, dal 2018, nella città di Becancour, nella regione del Quebec. Spostandoci nel continente europeo è l'Olanda è ad oggi l'unico paese ad ospitare sul suo territorio una *body farm*, o per meglio dire, in accordo con il volere del suo fondatore, l'anatomista Roelof-Jan Oostra, un cimitero tafonomico (Oostra et al., 2020). Presso l'Academic Medical Center (AMC) di Amsterdam infatti, nel 2017, è stata fondata la prima struttura europea in stile americano, a differenza di queste ultime, tuttavia, questa struttura vedrà esclusivamente la sperimentazione su corpi sepolti, questo è stato stabilito per esigenze diverse tra cui i minori spazi e la minor privacy di cui questo luogo dispone rispetto ai suoi analoghi statunitensi. Anche in India è in corso la progettazione di un centro su modello americano. Infine, in Inghilterra si dice sia prossima l'apertura della prima *body farm* del paese, probabilmente in un'area sotto presidio militare (Adam, 2019). Questa struttura, da anni richiesta dalla comunità scientifica specializzata, non è vista di buon occhio da tutti e anche all'interno della stessa comunità vede dei forti oppositori. L'esistenza di questo tipo di strutture e l'utilizzo dei corpi umani per la ricerca infatti suscitano sempre numerose polemiche, ostacoli legislativi e culturali hanno fatto sì che la maggior parte dei paesi ancora non abbia questo tipo di centri sul proprio territorio, è il caso tra gli altri, dell'Italia. Nel nostro paese, infatti, solo dal 29 gennaio 2020 (AC 1806, legge 10 febbraio 2020, n. 10) è stata approvata in via definitiva una legge relativa alla donazione del corpo alla scienza, prima di questa era possibile fare questo tipo di donazioni se non in casi particolari e non vi era a riguardo una legislazione chiara. Se oggi questo è possibile, tuttavia, l'uso dei corpi per ricerche di tipo tafonomico è ancora lontano, così che si ricorre all'utilizzo di corpi animali, generalmente maiali morti per cause naturali.

Capitolo 2. Finalità e obiettivi

L'interazione corpo ambiente è un fenomeno sfaccettato, che può essere indagato sotto diversi punti di vista e fornire molteplici informazioni preziose per il contesto forense. Il presente progetto di ricerca indagherà questo fenomeno a partire dall'ambiente corpo e dalle tracce su di esso presenti, per poi metterlo in relazione con l'ambiente in senso stretto (quello in cui il corpo si trova o ha soggiornato per tempi più o meno lunghi).

Verranno quindi considerati ambienti diversi e substrati corporei diversi, così da raccogliere il quadro il più possibile ampio delle tipologie e delle modalità di interazione, nonché delle tracce, che ne conseguono.

Il filo rosso della trattazione saranno quindi proprio gli ambienti: la ricerca si sposterà attraverso ambienti terrestri epigei, ipogei e acquatici, in particolare marini, attraverso sei linee di ricerca. Delle sei, tre sono state svolte all'interno di quelli che possiamo definire dei laboratori a cielo aperto, ambienti noti, monitorati e controllati durante la sperimentazione, mentre le seconde tre linee di ricerca hanno avuto per oggetto campioni per i quali le condizioni ambientali erano almeno parzialmente ignote, trattandosi di resti umani non provenienti da contesti sperimentali; l'interpretazione delle tracce ambientali e degli effetti che la permanenza in ambiente aveva su questi corpi e sui loro substrati è stata realizzata alla luce di quanto appreso e osservato in condizioni note.



Ricerche sperimentali in ambienti noti:

2.1 La *body farm* del parco del Ticino

La prima linea di ricerca è stata condotta in un ambiente terrestre epigeo noto, definito come la *body farm* del parco del Ticino. In questo luogo è stata condotta un'analisi a tutto tondo delle interazioni tra il corpo, simulato qui per mezzo di un lattonzolo di maiale e di ciocche di capelli umani, e l'ambiente, un'area boschiva e un'area prativa del Parco sopra citato. L'obiettivo era quello di raccogliere un pool di dati, il più possibile completo, in un contesto noto e controllato. Nello specifico gli obiettivi di questa prima linea di ricerca erano i seguenti:

- Condurre un'indagine tafonomica dei substrati corporei a disposizione, valutandone la persistenza nel tempo in funzione della stagione e del microclima di ciascun'area.
- Valutare persistenza e visibilità macroscopica di fluidi biologiche su cadavere.
- Analizzare le tracce ambientali, in particolare botaniche, in termini di tipologia, abbondanza, tempi di colonizzazione dei substrati, persistenza post spostamento del corpo da un ambiente ad un altro.
- Valutare la capacità di trattenimento dei substrati corporei.

I dati raccolti sarebbero stati messi a confronto con quanto noto in letteratura, informazioni che tuttavia spesso soffrono il limite di una raccolta puntiforme, realizzata tramite case report e quindi spesso in condizioni ambientali non note e controllabili. In particolare, l'ambito botanico-forense soffre di questo approccio e della conseguente mancanza di una continuità di informazioni, così come della mancata possibilità di una correlazione precisa con i dati ambientali, spesso approssimativi o del tutto assenti. Ciò è evidente anche nella letteratura riportata nel capitolo introduttivo. Discorso diverso deve essere fatto per lo studio dei fluidi biologici, in questo caso ben presenti sono le ricerche sperimentali sui limiti di determinabilità anche in funzione di fattori ambientali quali acqua e luce (ad esempio Khushbu et al., 2017; Sutthapodjanarux et al., 2009; Sikirzhyskaya et al., 2013; Hall e Ballantyne, 2004; Butler, 2005; Watterson et al., 2006; Setzer et al., 2008; Dissing et al., 2010; McNally et al., 1989; Adams et al., 1991) tuttavia il loro inserimento in un contesto più ampio in cui il loro deterioramento venga valutato in parallelo con quello del substrato corporeo e con il mutare dell'ambiente non vede, a conoscenza degli autori, precedenti in letteratura.

2.2 L'area urbana e naturale di Milano, Città Studi

La seconda linea di ricerca è stata anch'essa condotta in ambienti terrestri epigei noti e controllati, nello specifico in due aree definite come area naturale ed area urbana della città di Milano, zona Città Studi. Quest'indagine, a differenza della precedente, si è focalizzata su substrati corporei specifici: capelli e unghie, che sono stati protagonisti di due sotto capitoli:

Persistenza e determinabilità di tracce biologiche umane su capelli posti in ambienti naturali ed antropizzati

con i seguenti obiettivi:

- Studiare l'interazione dei capelli con l'ambiente ed al contempo studiare le caratteristiche e l'efficacia di questo substrato nel trattenere e preservare tracce biologiche.
- Indagare la determinabilità delle tracce stesse e quindi il loro grado di alterazione in funzione del tempo e dell'ambiente di esposizione.

La letteratura è ricca di studi sulla rilevazione e l'analisi di fluidi biologici (Virkler e Lednev, 2009; Harbison e Fleming, 2016), come sangue e sperma, tuttavia la maggior parte di essi testa substrati "non umani" come legno, vetro, metallo, tessuto, ecc (Lin et al., 2007; De Wael et al., 2008; Wee-Chuen e Bee-Ee, 2010; Sterzik et al., 2006) e anche nei casi in cui vengano testati substrati come pelle (Gabby et al., 1992; Lynnerup et al., 1995; Sweet et al., 1997; Wawryk et al., 2005; von Wurmb-Schwark et al., 2006; McLaughlin e Lednev, 2015; Meixner et al., 2020) e unghie (Matte et al., 2012; Kamanna et al., 2017; Kamanna et al., 2018), si tratta solitamente di corpi ben conservati o viventi (nella medicina legale clinica, per esempio) (Lincoln et al., 2006). Va ricordato però che la cute è un substrato poco persistente e che non appena inizia la decomposizione, essa può non essere più disponibile, lasciando ai capelli il

ruolo indiscusso di principale substrato di interazione diretta (Wilson e Tobin, 2010; Mazzarelli et al., 2015; Sguazza et al., 2016). Stante quanto riportato si è ritenuto necessario indagare questo substrato nel ruolo di trattenitore di tracce biologiche di primo piano come sangue e sperma.

Persistenza e determinabilità di tracce biologiche ambientali e inorganiche umane e ambientali su iponichio

con il seguente obiettivo:

- Studiare l'interazione unghie ambiente in termini di quantità, persistenza e informatività del materiale trattenuto dall'iponichio a seguito di una dinamica violenta e/o difensiva.

L'iponichio, quell'area tra il letto dell'unghia e l'unghia stessa, è estremamente presente e studiata quale luogo di raccolta di materiale biologico per indagini genetiche, indagini ormai di prassi nella pratica medico-legale, come rispostato nel capitolo introduttivo. Tuttavia, questo sito potrebbe costituire al contempo un luogo di raccolta di materiale di altra natura, ad esempio ambientale o merceologico, la cui rilevanza in contesto forense potrebbe essere non meno elevata ma che risulta ad oggi pressoché sconosciuta.

2.3 Ambienti specifici indoor

Come terza linea di ricerca sono stati selezionati ancora ambienti noti, in questo caso tuttavia si è voluto utilizzare ambienti caratteristici ed in particolare sono stati selezionati alcuni luoghi di lavoro. Anche in questo caso è stato selezionato uno specifico substrato corporeo, il principale substrato di interazione diretta, cioè la cute. Il capitolo è stato suddiviso, anche in questo caso, in due sottocapitoli:

Micro tracce inorganiche e organiche su cute umana

Micro tracce inorganiche e organiche su cute di maiale

Essi, con metodiche leggermente diverse, sfruttando quindi le potenzialità che le loro differenze procedurali offrivano, hanno voluto esplorare il medesimo tema con i medesimi obiettivi:

- Valutare la specificità per i diversi ambienti del particolato macro e microscopico, organico e inorganico presente
- Valutare il potere informativo di questo tipo di traccia per l'individuazione dei luoghi di un evento delittuoso
- valutare il potenziale effetto distruttivo che sulla traccia e sulla cute può avere il fattore tempo.

Anche sotto questo frangente infatti sembra esserci una relativa mancanza di conoscenze, la ricerca sul corpo della vittima di informazioni sull'ambiente è di solito affidata al ritrovamento occasionale, generalmente sui vestiti, di tracce macroscopiche: residui vegetali (Aquila et al. 2014; Margiotta et al., 2015; Aquila et al., 2018; Aquila et al., 2019), materiale geologico (Murray e Tedrow, 1991; Fitzpatrick et al., 2009) o tracce merceologiche (Spencer, 1994; Palmer, 2010) in grado di collegare la vittima a un ambiente specifico. Mentre la ricerca di residui ambientali microscopici su cadavere (o vivo) è pressoché assente nella letteratura di genere, eccezion fatta per i tentativi effettuati da Locard (Locard, 1930) e colleghi che risalgono generalmente ai primi decenni del XX secolo, quando l'approccio generalista a questo tipo di tracce era abbastanza comune (Stoney e Stoney, 2015).

Il progetto di ricerca prevede poi tre linee di ricerca in contesto meno controllato, in quello che può essere definito un ambiente non noto. Situazioni in cui né il corpo né l'ambiente hanno potuto giovare di una condizione iniziale nota e di un monitoraggio in itinere, ma nelle quali era solo possibile una ricostruzione a posteriori delle variabili in campo.

2.4 Ambiente acquatico mediterraneo - il naufragio del 18 aprile 2015

La prima, di questa seconda tipologia di linea di ricerca, vede come scenario quel tratto di Mar Mediterraneo compreso tra le coste della Libia e quelle siciliane e come oggetto di studio le vittime dei numerosi naufragi avvenuti nel contesto dei fenomeni migratori degli ultimi anni. In particolare, lo studio ha avuto come oggetto i resti delle vittime nel naufragio del 18 aprile 2015, anche in questo caso, del corpo, sono stati considerati substrati specifici, ossa e denti, sui quali sono state condotte analisi raccolte in due sottocapitoli:

Analisi tafonomica di resti ossei in ambiente marino

volta a:

- Raccogliere e classificare le diverse tracce ambientali biotiche e abiotiche nonché comprendere le implicazioni ambientali e temporali in esse presenti.

Studi dedicati alla tafonomia di ambiente marino condotti su resti ossei umani, specialmente nel contesto del Mar Mediterraneo, sono infatti estremamente scarsi nella letteratura attuale, come è possibile osservare nel capitolo precedente. Quello in esame quindi, uno studio dettagliato delle diverse tipologie di tracce, si prefiggeva di implementare le conoscenze in tale ambito nonché di valutare il potere informativo di tali elementi nel comprendere il contesto di origine di un resto, l'intervallo post deposizionale e le vicissitudini che lo hanno interessato. Le dimensioni del campione la sua distribuzione in microambienti distinti, dati dalle diverse aree della barca, nonché l'elemento temporale e geografico noto, rendono questo campione prezioso per questo tipo di studio, pur con i limiti di uno studio non sperimentale.

Analisi delle tracce vegetali incluse nel tartaro dentale

volta a:

- Valutare il potenziale di indagini del tartaro dentale e degli elementi in esso inclusi per comprendere, attraverso le abitudini alimentari, l'origine geografica dei soggetti campionati.

Tali indagini, diffuse in contesto archeologico, vedono pochi precedenti su resti recenti e risultano pionieristiche in contesto migratorio attuale, su popolazioni che tuttavia per la loro dieta, legata in parte a produzione locale (De Wet, 1977; Emmambux e Taylor, 2013; Zhou et al., 2017; Nanbol e Namu, 2019), così come per il difficile accesso (confermato dalle scarsissime evidenze di lavori dentari) alle cure dentarie potrebbe costituire un campione estremamente idoneo a tali indagini. Al contempo, dal punto di vista antropologico, vi è una scarsità di dati a disposizione per le popolazioni di interesse, essi riguardano essenzialmente il Sudafrica, per il quale sono stati sviluppati metodi morfologici e metrici specifici per la stima del sesso e dell'origine geografica (si veda ad esempio: Krüger et al., 2015; L'Abbé et al., 2011; Dayal et al., 2008; Franklin et al., 2008). Recentemente, alcune ricerche sono state condotte per raccogliere dati metrici di popolazioni dell'Africa subsahariana per stimare l'origine geografica (Slice e Ross, 2009; Scott et al., 2018; Navega et al., 2015); tuttavia, questi studi vedono campioni piuttosto piccoli, fattore che riduce significativamente la loro applicabilità in contesti come quello in esame. Inoltre, per quanto riguarda i dati genetici, le popolazioni oggetto dei flussi migratori in esame, come quelle dell'Africa orientale, non sono rappresentate nei *dataset* mondiali di popolazione di riferimento comunemente impiegati nello sviluppo e nella validazione dei pannelli di ascendenza forense,

come lo Human Genome Diversity Project - Centre d' Étude du Polymorphisme Humain (HGDP-CEPH) e il progetto 1000 Genomes. (Kumar et al. 2020). Considerate quindi le difficoltà riscontrate nell'applicazioni di altri e più comuni strumenti, tali indagini potrebbero costituire uno strumento prezioso per implementare il quadro conoscitivo.

2.5 Ambiente terrestre ipogeo – Il sepolcreto dell'Ospedale Ca' Granda

La seconda linea di ricerca si sposta invece in ambito archeologico, intorno al 1600, dove vede come oggetto di studio i resti dei degeni dell'ospedale Ca' Granda di Milano. L'ambiente è un ambiente terrestre ipogeo, il cosiddetto sepolcreto che per circa un secolo è stato adibito appunto ad accogliere i corpi dei defunti dell'ospedale. Dato lo stato di conservazione dei resti umani presenti in questo luogo, che includeva non solo ossa, ma anche capelli, unghie, residui dei tessuti molli e indumenti, si può definire a tutto tondo l'interazione corpo e ambiente oggetto di questo studio. L'indagine è stata portata avanti attraverso due linee di ricerca:

Analisi paleo nutrizionale ed antropologica di un campione di individui dell'ospedale Ca' Granda

con i seguenti obiettivi:

- Ricercare e analizzare le micro tracce ambientali di natura biologica e inorganica presenti nel tartaro dentale per meglio comprendere le abitudini alimentari, curative nonché le caratteristiche dell'ambiente di vita della popolazione in esame.

Questo tipo di studi, ampiamente presente in letteratura su popolazioni archeologiche, tuttavia, vede un particolare potenziale nella sua applicazione a questa particolare popolazione in ragione delle abbondanti informazioni storiche disponibili anche grazie alle fonti archivistiche della stessa Ca' Granda.

Inventario e contestuale preliminare analisi tafonomica del materiale non osseo presente in un sotto campione della camera O

- Condurre un'analisi tafonomica di tracce e substrati per comprendere i fenomeni conservativi e distruttivi che in esso hanno avuto luogo.

Il sito in esame, infatti, mostra delle caratteristiche ambientali estremamente particolari che hanno consentito quella che già a prima vista appare come una conservazione peculiare dei resti. In questo contesto e con l'intervallo temporale estremo che solo l'ambito archeologico consente, si è ritenuto che potesse essere di interesse uno studio colto a comprendere processi tafonomici estremi.

2.6 Ambienti specifici – casi forensi

Infine, è stata realizzata una ultima linea di ricerca che ha visto l'applicazione pratica delle linee di ricerca oggetto delle pagine precedenti, il caso giudiziario è infatti spesso, nel contesto forense, ciò che dà l'opportunità di vedere messe in atto ricerche sperimentali di anni. L'ultima sezione di questo lavoro vede quindi la raccolta e rilettura di diciassette casi giudiziari, differenti tra loro per ambiente così come per substrato corporeo ma accomunati dalla rilevanza che in essi ha avuto l'ambiente nel duplice ruolo di produttore di tracce ambientali, nei casi della prima sezione di questo capitolo, e fattore di alterazione tafonomica su tracce e corpo, nella seconda sezione del capitolo.

Tracce ambientali, ed in particolare botaniche, su cadavere in diverso stato di conservazione

Il cadavere, approccio all'esame esterno quando la decomposizione lo ha reso un substrato complesso ed insidioso

I casi coinvolti coprono un arco temporale di quasi 20 anni, dal 2011 al 2019 durante ai quali sono stati oggetto di studio da parte del laboratorio Labanof, Dipartimento di Scienze Biomediche per la Salute a cui afferisce, del dipartimento di Bioscienze e del Dipartimento di Scienze della Terra dell'Università degli Studi di Milano.

Gli obiettivi di quest'ultima linea di ricerca erano i seguenti:

- Dimostrare il potere informativo di tracce ambientali su cadavere, specialmente in contesti difficili quali cadaveri in avanzato stato di decomposizione o scheletrizzati.

Anche se negli ultimi anni, infatti, il botanico forense ha assistito all'aumentare del numero di casi che lo hanno visto coinvolto già a partire dalle fasi di sopralluogo, tuttavia il suo coinvolgimento risulta ancora molto limitato; circoscritto di norma a indagini su corpi ben conservati (Margiotta et al., 2015; Coyle et al., 2005; Aquila et al., 2014; Aquila et al., 2018) o su corpi mal conservati esclusivamente finalizzate alla stima dell'intervallo post mortale (PMI) (Quatrehomme et al., 1997; Willey e Heilman, 1987; Courtin e Fairgrieve, 2004; Lancia et al., 2012; Caccianiga e Compostella, 2009; Cardoso et al., 2010; Caccianiga et al., 2014). Mancano invece quasi del tutto applicazioni volte a rispondere a quesiti di altra natura (luoghi, dinamiche, soggetti coinvolti) su resti mal conservati. Per questa ragione la ricca casistica a disposizione è risultata un campione prezioso al quale attingere per dimostrare la molteplicità di contesti e di applicazioni della materia ma al contempo per evidenziare i limiti di tecniche di vecchia data quando applicate in contesti difficili quali resti mal conservati o su campioni non ottimali.

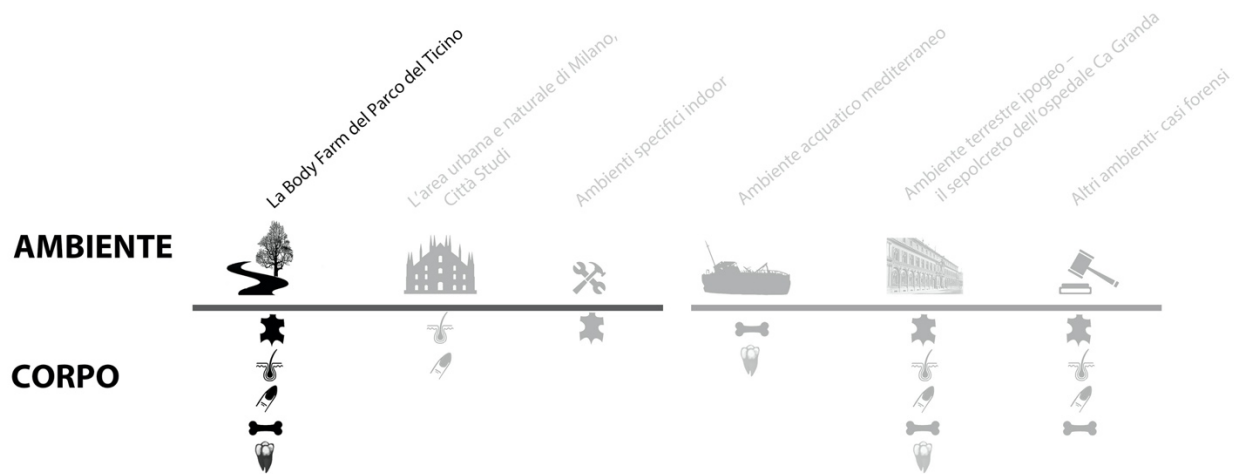
- Dimostrare l'importanza di un attento esame esterno e di un approccio multidisciplinare alla vittima specialmente in condizioni difficili, quando il cadavere diventa un substrato ostico e spesso trascurato proprio in ragione della sua complessità.

La fase di esame esterno, infatti, altro non è che un sopralluogo del corpo, che, come il sopralluogo della scena del crimine è irripetibile e costituisce la fase durante la quale verranno compiute le operazioni che determineranno le sorti dell'intero processo investigativo. Si tratta quindi di una fase di estrema importanza che tuttavia, soprattutto in casi di corpi mal conservati, viene spesso trascurata, nell'errata convinzione che l'alterazione del substrato corpo abbia già compromesso molte evidenze, ipotesi già in parte confutata dalla letteratura (Ambade et al., 2011). I casi raccolti volevano quindi dimostrare quanto un approccio attento e multidisciplinare realizzato anche mediante metodi nuovi e non standardizzati possa ampliare il pool di elementi che da questa indagine possono essere raccolti.

Capitolo 3. Ambienti

Ambienti noti

3.1 La *body farm* del parco del Ticino



L'analisi si poneva i seguenti obiettivi:

- Condurre un'indagine tafonomica dei substrati corporei a disposizione, valutandone la persistenza nel tempo in funzione della stagione e del microclima di ciascun'area.
- Valutare persistenza e visibilità macroscopica di fluidi biologiche su cadavere.
- Analizzare le tracce ambientali, in particolare botaniche, in termini di tipologia, abbondanza, tempi di colonizzazione dei substrati, persistenza post spostamento del corpo da un ambiente ad un altro.
- Valutare la capacità di trattenimento dei substrati corporei.

3.1.1 materiali e metodi

Ambiente

Nel presente progetto di ricerca si è potuto usufruire di una piccola *body farm*, sita in un'area del Parco Lombardo della Valle del Ticino, gentilmente messa a disposizione dall'Ente Parco. Tale area, nel corso degli oltre due anni compresi tra maggio 2019 e gennaio 2021, è stata adibita a luogo di permanenza per 16 campioni, che avevano l'obiettivo di simulare il cadavere umano ed i suoi diversi substrati, costituiti da lattonzoli di maiale e ciocche di capelli.

Ambiente fisico

Il parco del Ticino è uno dei più grandi parchi naturali d'Italia, sviluppato lungo le rive del fiume Ticino su due regioni, Lombardia e Piemonte. La sperimentazione si è svolta in un'area del Parco Lombardo della valle del Ticino, nel territorio del comune di Cassolnovo in provincia di Pavia.

Il contesto geografico-fisico dell'area di studio può essere definito di media bassa pianura, l'area si estende infatti tra la fascia attiva dei fontanili e il fiume Po che costituisce l'asse della pianura. Verso nord si ha la zona delle risorgive e il settore più ghiaioso della pianura, i più vicini terrazzi pleistocenici sono, ad est del Ticino, quello di Lonate Pozzolo a circa 30 km di distanza, mentre ad ovest vi sono quelli più prossimi di Novara e Oleggio.

Caratterizzazione geologica

Per quanto riguarda la caratterizzazione geologica, con riferimento in particolare al foglio Novara, numero 44 della Carta Geologica d'Italia in scala 1:100000 che copre interamente l'area di interesse, tutte le superfici superiori della pianura (livello fondamentale della pianura: LfP) sono attribuite al fluvio-glaciale e fluviale wurmiano (Pleistocene superiore) mentre solo all'altezza di Magenta-Treccate viene indicata la presenza di fluvio-glaciale Wurm-Riss.

I suoli che caratterizzano l'area sono interamente suoli quaternari di ambiente continentale, alluvioni terrazzate dell'Olocene medio e recente identificate con la lettera a² (depositi caratteristici dei corsi d'acqua di cui sono i letti sia di piena che di acqua bassa) e ad ovest, alluvioni fluviali pleistoceniche prevalentemente sabbiose limose con debole strato di alterazione brunastra del Wurm, identificate con le lettere fg^w (Figura 3.1). Questo secondo tipo di substrato geologico caratterizza una vasta area ancora ad ovest dell'area di studio, mentre ad est vi è una successione di alluvioni terrazzate dell'Olocene antico (identificate con la lettera a¹) e depositi wurmiani (identificati con la lettera fg^w) (Braga e Ragni, 1969).

Per quanto riguarda le litologie, l'area di interesse presenta sabbie e ghiaie con prevalenza delle prime nella regione più a ovest dell'area di studio e della seconda in quella più ad est (Figura 3.1.1).

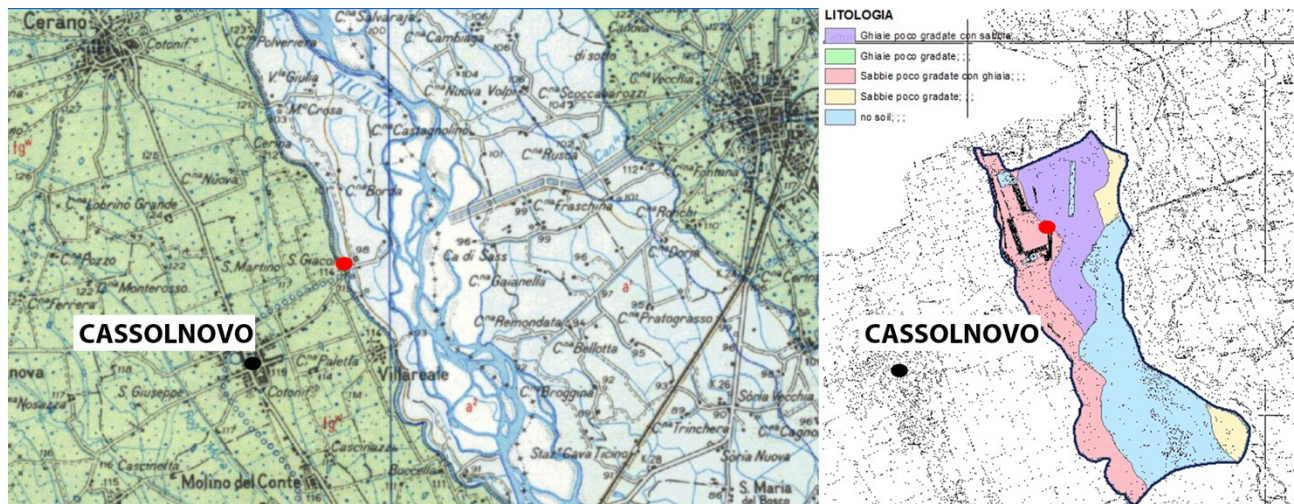


Figura 3.1.1 A sinistra, porzione del foglio Novara, relativa all'area di pertinenza, della Carta Geologica d'Italia (1:100000), a destra, elaborazione GIS derivata dalla carta geologica 1:250000 dell'area di interesse.

Caratterizzazione idrologica

L'idrologia dell'area di studio deve essere distinta in acque sotterranee e acque superficiali. Per quanto riguarda le acque sotterranee, l'area di Cassolnovo è caratterizzata da una falda generalmente vicina alla superficie topografica anche se, spostandosi da ovest verso est nel territorio comunale, si ha un approfondimento della falda che passa da valori inferiori ai 2 metri, con la falda localmente sub-superficiale, a valori superiori ai 15 metri in corrispondenza del bordo superiore della scarpata che collega la piana pleistocenica con la sottostante incisione valliva del Ticino (D'alessio e Comolli, 1996; Borsani, 2013).

Per quanto riguarda invece le acque superficiali, l'area in esame è chiusa su tre lati da un importante reticolo idrografico, composto dal fiume Ticino a est, nel suo tratto terminale pianeggiante, dal torrente Terdoppio, dal fiume Sesia a ovest e dal fiume Po a sud.

Nel tratto di interesse, il fiume Ticino presenta una morfologia pluricursale, con una moltitudine di rami secondari e meandri che danno origine alle lanche, costituite da antichi rami ormai abbandonati. Tuttavia, ci sono testimonianze che mostrano come questo tratto del fiume abbia subito una progressiva semplificazione del suo corso tra il 1880 e il 1980, fenomeno dovuto essenzialmente all'azione antropica (Fasani, 2009). Nel suo ultimo tratto il corso assume un andamento unicursale con il quale scorre fino ad attraversare la città di Pavia e sfociare nel Po.

Un altro elemento di interesse per l'idrologia superficiale dell'area di studio è il torrente Terdoppio, che originariamente scorreva tra Piemonte e Lombardia per 86 km dalle Prealpi fino alla confluenza con il Po nel comune di Rinasco. La continuità del corso è stata interrotta in epoca medievale per scopi irrigui, si può parlare oggi di Terdoppio Novarese e Terdoppio Lomellino, il primo scorre in provincia di Novara andando a lambire l'area di studio, il secondo interessa la Lomellina in provincia di Pavia. Il Terdoppio Novarese scorre da Agrate Contirbia e Devignano, lambisce Novara e prosegue fino a raggiungere Cerano dove si divide in due rami: uno bagnerà i terreni di Vigevano e l'altro dopo ulteriori divisioni scarica nel Ticino nel territorio di Cassolnovo.

Caratterizzazione pedologica

Con riferimento alla scheda "Basi informative sui suoli" contenente la versione 2011 degli strati informativi prodotti da ERSAF alla scala 1:25000, l'area della sperimentazione vede l'esclusiva

presenza di regosuoli, pur essendo delimitata ad est da umbrisuoli e ad ovest da arenosuoli (Figura 3.1.2) (Baldiraghi et al., 2015; ERSAF, 2013).

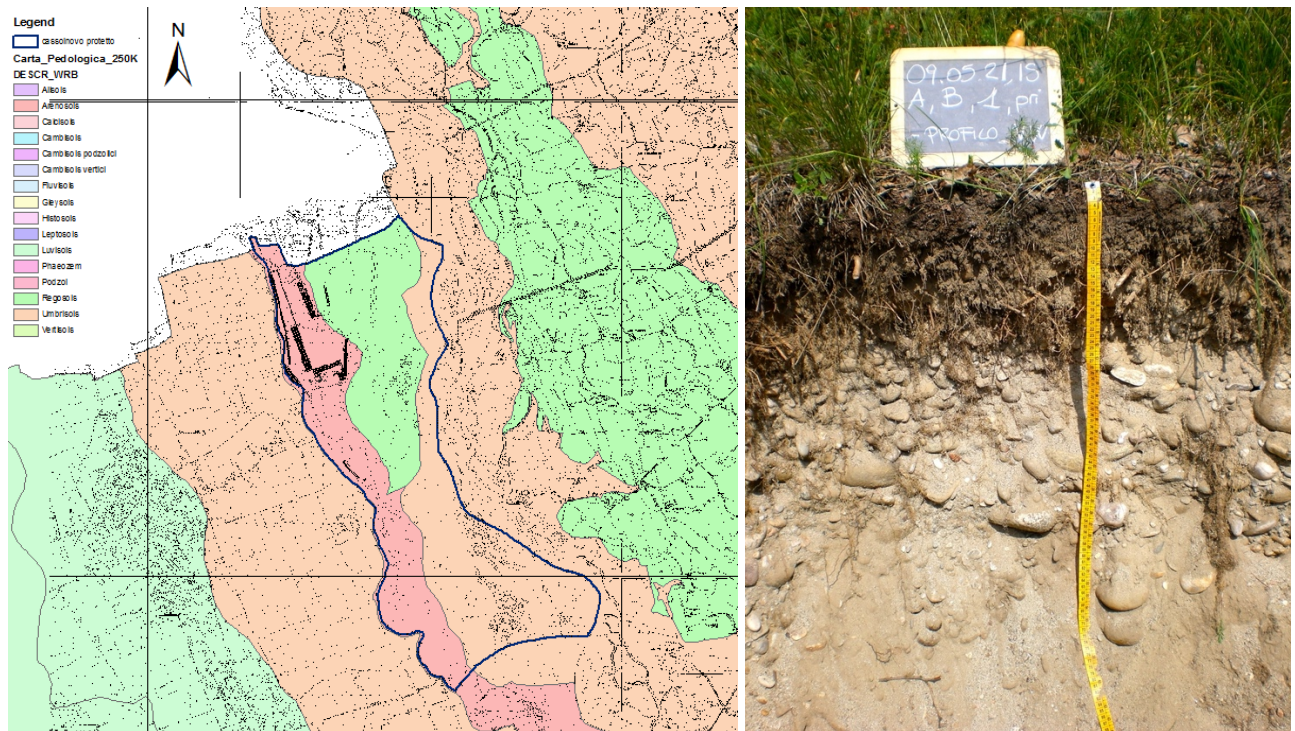


Figura 3.1.2 A sinistra, elaborazione GIS mostrante i suoli dell'area di interesse e dei territori limitrofi tratti dagli strati informativi prodotti da ERSAF (1:25000). A destra, sezione pedologica realizzata nel sito mostrante un regosuolo.

I suoli di interesse saranno descritti secondo il Word reference base for soil resources (WRB) che rappresenta il risultato della revisione e della verifica della legenda della FAO da parte della FAO stessa e dell'International Union of Soil Science (IUSS) e dell'International Soil Reference and Information Centre (ISRIC) effettuata nel 1998 (FAO, 2015).

I regosuoli sono definiti, secondo il Word reference base for soil resources (WRB), come suoli poco sviluppati che poggiano su materiale non consolidato. Questi suoli sono molto comuni nelle aree soggette a erosione nelle zone di accumulo, specialmente nei terreni aridi e semi aridi e nelle zone montuose. Come menzionato, il *parent material* è costituito da materiale non consolidato, generalmente di granulometria fine. Dal punto di vista climatico i regosuoli si trovano a tutte le altitudini nelle zone con assenza di permafrost. Questo tipo di suoli non prevede orizzonti diagnostici e lo sviluppo del profilo è minimo. Nell'area di interesse, questi suoli sono mantenuti in foreste e arbusteti grazie alle pratiche di conservazione del parco. In altri contesti questi suoli sono utilizzati per il pascolo o, in condizioni particolari, coltivati a riso, zucchero o alberi da frutto.

A ovest dei precedenti, vi sono aree caratterizzate da arenosuoli, suoli profondi e sabbiosi, caratterizzati da un'alta permeabilità e da una bassa capacità di trattenere i nutrienti e l'acqua.

Ad est invece è presente una fascia di umbrisuoli caratterizzati da un significativo accumulo di sostanza organica in superficie, che ne determina il colore scuro da cui il nome. Sono suoli di ambienti umidi, tipici di zone fredde o temperate.

Una cartografia di maggior dettaglio, prodotta nell'ambito del progetto "carta pedologica" allegata al volume "suoli del settore sud del parco del Ticino", definisce il suolo dell'area in esame come

leptosuolo anziché regosuolo, si tratta comunque di una sottile discrepanza se si considera il labile confine che separa le due tipologie, che si riduce al maggior spessore che caratterizza i regosuoli. Indipendentemente dalle denominazioni specifiche, comunque, l'area di studio appare caratterizzata da suoli giovani e poco evoluti sia in termini di età del substrato che di granulometria e caratteristiche della falda. Suoli generalmente privi di orizzonti diagnostici aventi *parent material* non consolidato, poggianti su substrati a granulometria sabbiosa o ghiaiosa e a tessitura grossolana. Varia la quantità di scheletro, molto abbondante nell'area di interesse, lo spessore e la presenza di sabbie superficiali.

Caratterizzazione climatica e metereologica

Il clima dell'area di studio può essere definito, secondo la classificazione di Köppen, come clima temperato delle medie latitudini, incluso nel gruppo C. Questi climi sono caratterizzati da un mese più freddo con una temperatura media inferiore a 18 °C ma superiore a -3 °C e dalla presenza di almeno un mese con temperatura media superiore a 10 °C.

Questo gruppo è a sua volta diviso in sottogruppi in base alla presenza/assenza di una stagione asciutta. In base a questo è possibile definire il territorio di interesse, come appartenente alla classe Cfa, con clima temperato umido in tutte le stagioni ed estate calda (Köppen, 1936).

Tali dati sono stati confermati da un'analisi metereologica svolta nell'area di studio durante tutta la sperimentazione in particolare per mezzo della raccolta di dati relativi a temperatura precipitazioni e venti. I dati sono stati ottenuti da ARPA Piemonte ed in particolare dalle stazioni di Cerano e Cameri. Per i due intervalli di interesse, serie 1 da maggio 2019 a gennaio 2020 e serie 2 da febbraio 2021 a dicembre 2021, sono stati raccolti dati di temperatura giornaliera massima, media e minima (Figura 3.1.3, 3.1.4).

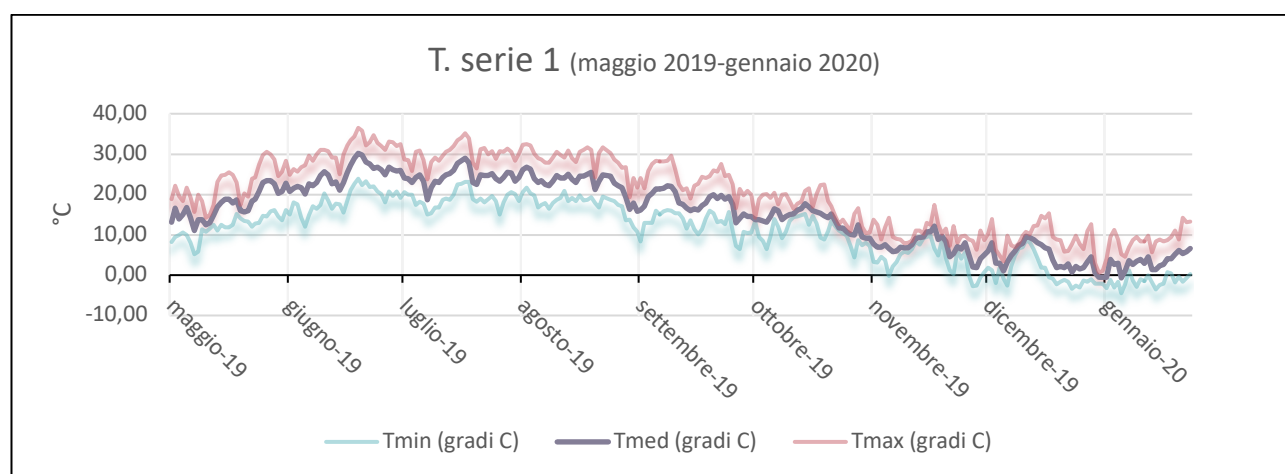


Figura 3.1.3 Grafico riportante le temperature giornaliere massime, medie e minime per la durata della sperimentazione che ha coinvolto la serie 1

Dai dati riportati è possibile osservare come la temperatura abbia subito, durante la prima stagione sperimentale, un incremento tra maggio (circa 10 °C di media giornaliera) e il bimestre estivo di luglio e agosto (temperature medie fino a 28, 30°C) per poi decrescere, pur se con un andamento estremamente irregolare, fino a gennaio (media intorno a 1°C) che registra le temperature più basse (-0,7°C di media giornaliera). Infine, un leggero trend di crescita è osservabile durante il mese di gennaio (temperatura media fino a 7°C). L'escursione termina giornaliera media è di circa 10 °C sull'intero periodo.

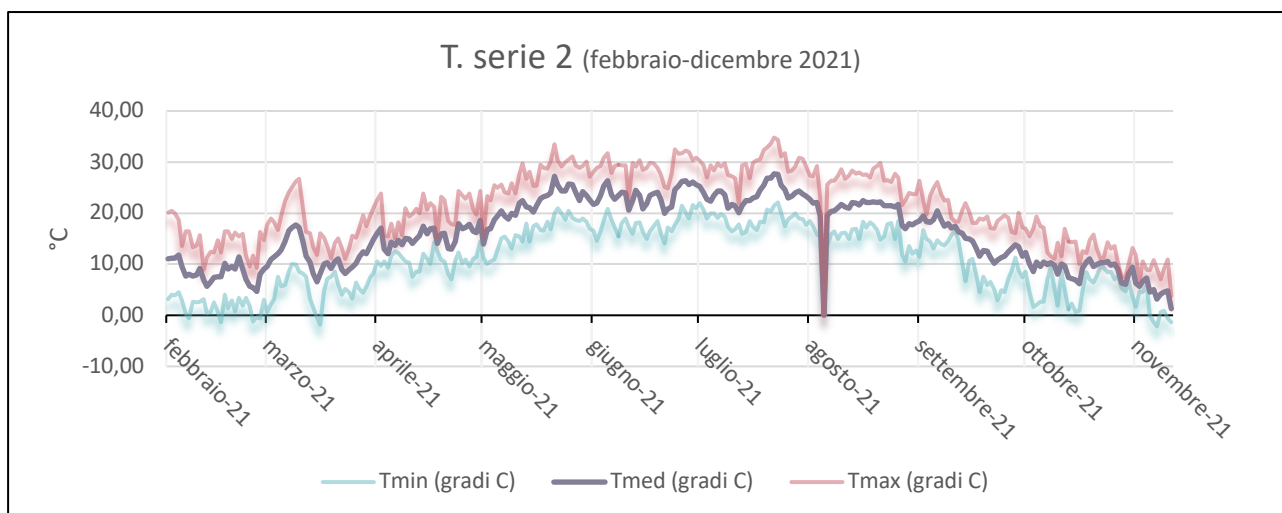


Figura 3.1.4 Grafico riportante le temperature giornaliere massime, medie e minime per la durata della sperimentazione che ha coinvolto la serie 2

Durante la seconda stagione sperimentale la temperatura media mostra un trend grossomodo a campana, con una crescita tra il mese di marzo (temperatura media intorno ai 5°C) e quello di agosto (media giornaliera tra i 25 e i 30°C), seguito da una decrescita che si conclude solo con la fine dell'intervallo sperimentale, in dicembre (temperatura media di 1°C). L'escursione giornaliera media è di circa 10 °C sull'intero periodo.

Inoltre, in concomitanza con l'inizio della serie 2, da febbraio a dicembre 2021, sono stati posizionati due *data logger* (Tinytag Plus 2) al suolo, uno nell'ambiente A e uno nell'ambiente B, due diversi microambienti distinti, come verrà descritto in seguito, sulla base delle loro diversità vegetazionali. Le temperature sono state registrate ogni 30 minuti da entrambi gli strumenti ed i dati ottenuti sono mostrati nel seguente grafico elaborati in medie giornaliere (Figura 3.1.5).

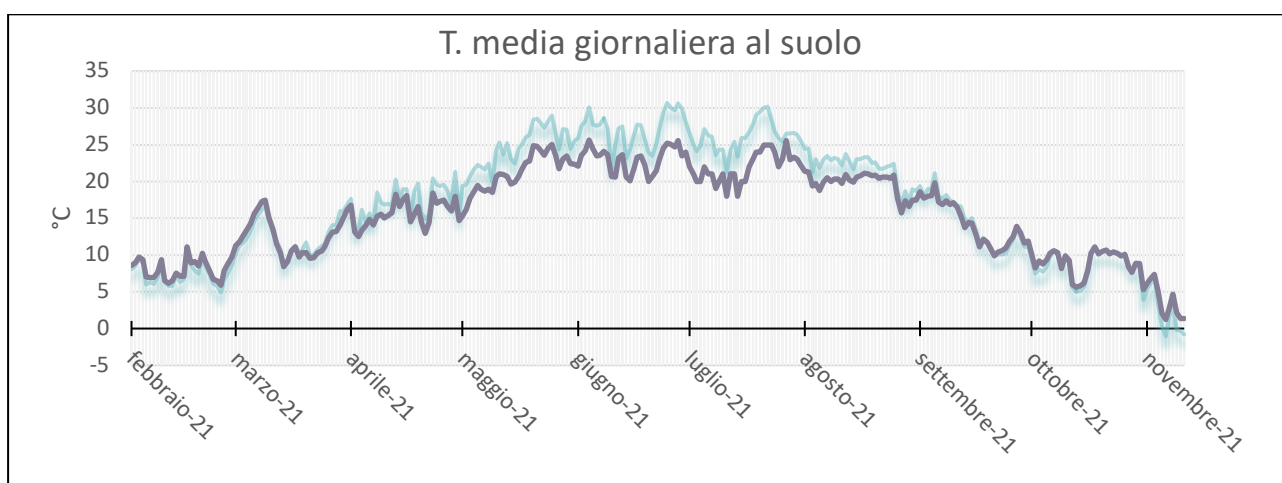


Figura 3.1.5 Temperature medie giornaliere ottenute dai due data logger posti in ambiente aperto (linea azzurra) e ambiente chiuso (linea viola) per la durata della sperimentazione che ha coinvolto la serie 2

Come è possibile osservare i due siti mostrano temperature grossomodo coincidenti in autunno ed inverno, mentre in primavera ed estate la differenza si fa piuttosto evidente con delta di temperatura fino a oltre 6°C (es: 23 luglio 2021 Ambiente A 29,9°C, Ambiente B 23,5°C).

Se confrontante con quelle atmosferiche (Figura 3.1.6), si può osservare come le temperature al suolo dell'ambiente chiuso siano piuttosto simili ed in molti casi coincidenti, anche se la temperatura atmosferica appare leggermente superiore a quella dell'ambiente chiuso nei mesi estivi. Una chiara differenza è presente invece tra la temperatura atmosferica e quella al suolo dell'ambiente aperto, con la seconda che registra temperature medie giornaliere superiori (di anche 5 °C) per la maggior parte dei giorni compresi tra aprile e settembre.

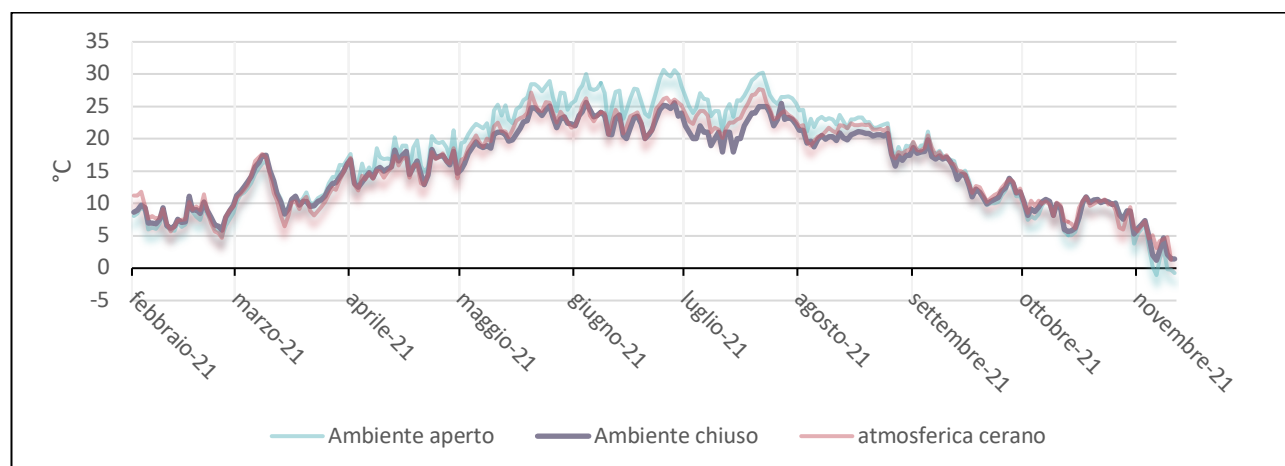


Figura 3.1.6 Confronto tra le temperature medie giornaliere dei due data logger e quelle della stazione ARPA di Cerano per la durata della sperimentazione che ha coinvolto la serie 2

Dalla medesima stazione, quella di Cerano, sono stati raccolti anche i dati di piovosità giornaliera, per le due stagioni sperimentali (Figura 3.1.7, 3.1.8).

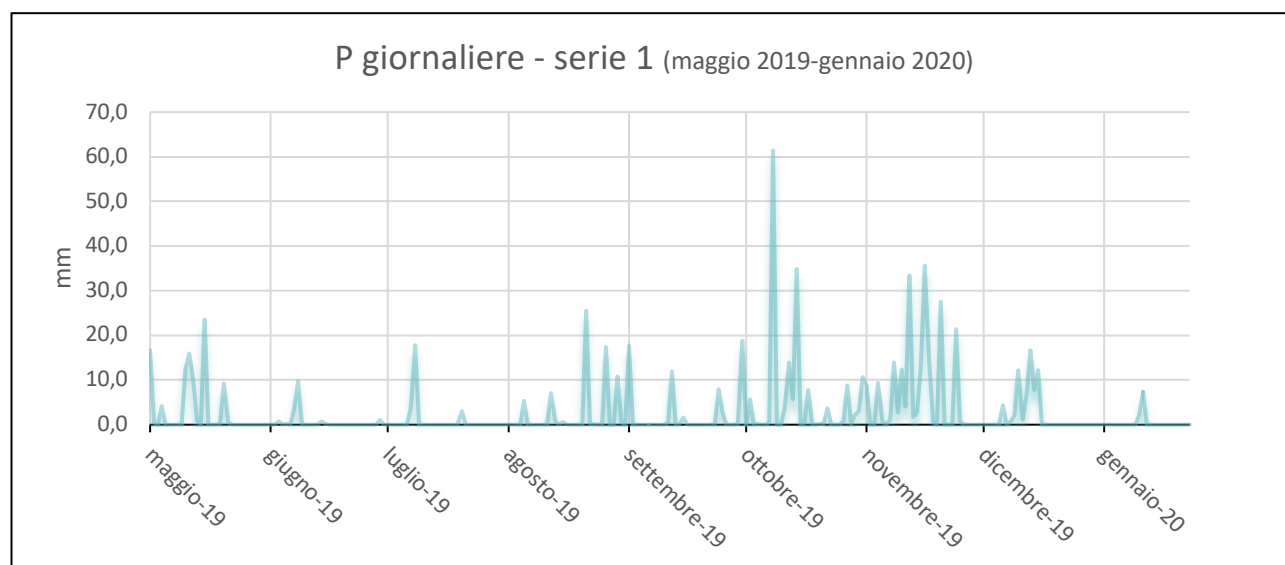


Figura 3.1.7 Precipitazioni giornaliere per la durata della sperimentazione che ha coinvolto la serie 1

La prima stagione sperimentale (serie 1) ha visto cadere oltre 700 mm di pioggia, concentrati soprattutto nei mesi di maggio (94 mm), ottobre (168 mm), novembre (208 mm) e dicembre (86 mm). Il mese più secco è risultato quello di gennaio con 10 mm di pioggia.

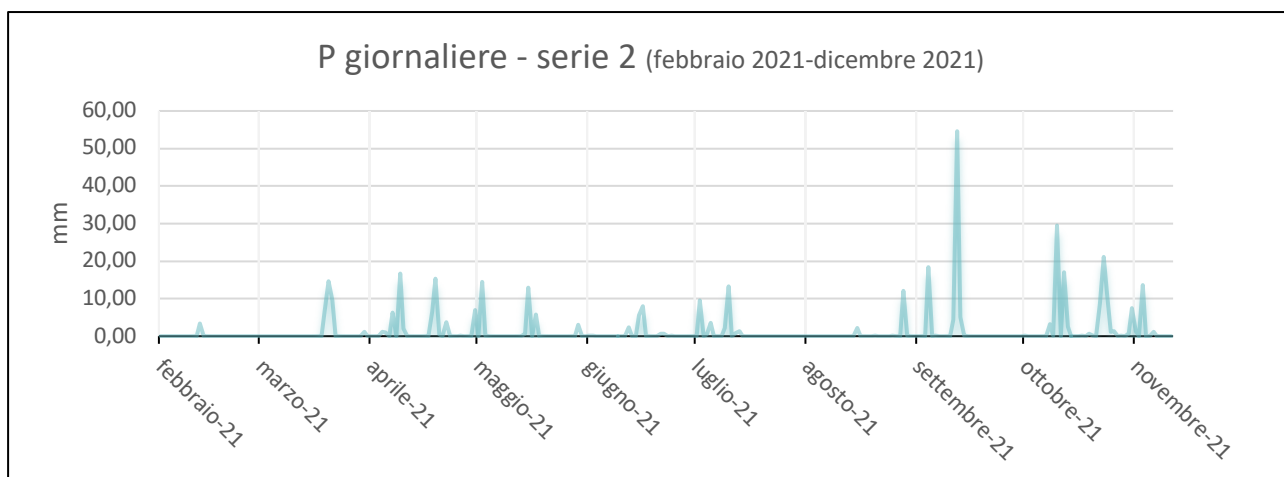


Figura 3.1.8 Precipitazioni giornaliere per la durata della sperimentazione che ha coinvolto la serie 2

La seconda stagione sperimentale (serie 2) ha visto cadere oltre 400 ml di pioggia concentrati prevalentemente nei mesi di maggio (76 mm), ottobre (68 mm) e novembre (119 mm). Il mese più secco è risultato quello di marzo con poco più di 3 mm di pioggia.

Dalla stazione di Cameri sono stati raccolti invece i dati relativi ai venti ed in particolare la direzione, la velocità media e la velocità delle raffiche (Figura 3.1.9, 3.1.10).

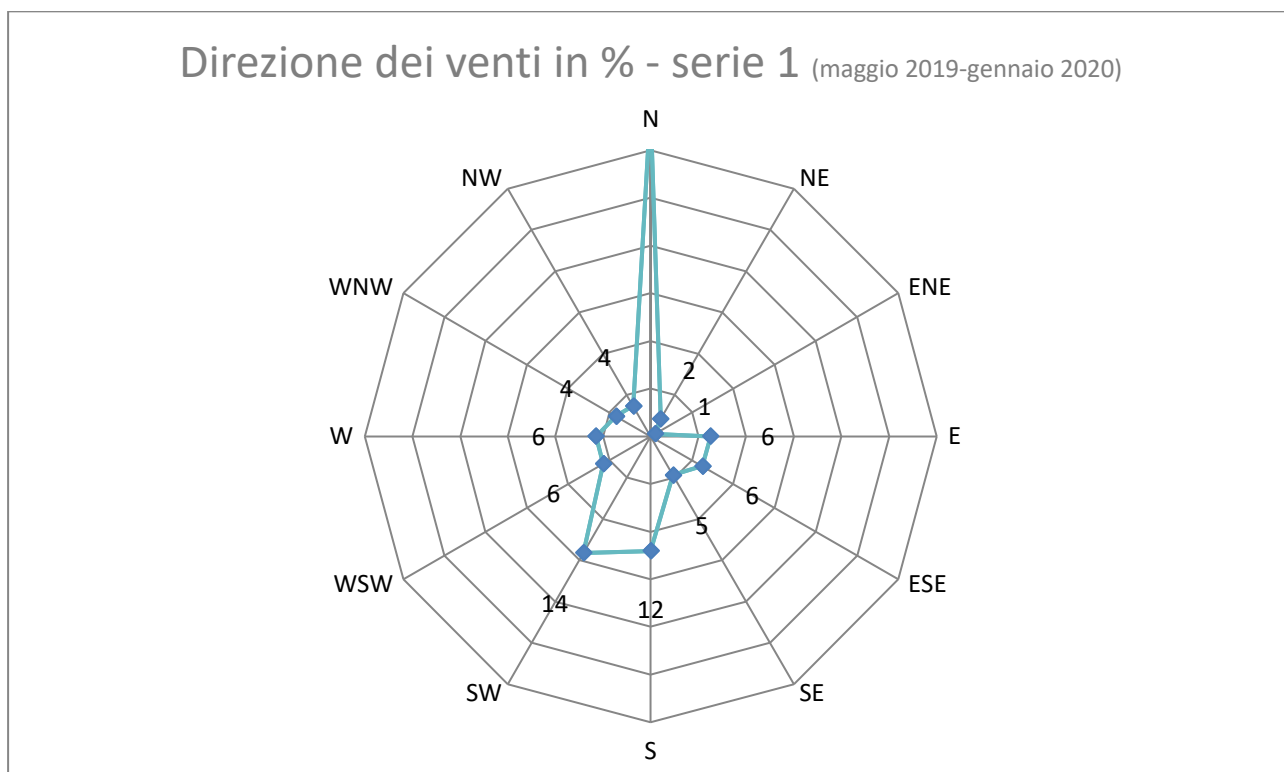


Figura 3.1.9 Grafico rappresentante la direzione dei venti per l'intervallo sperimentale che ha interessato la serie 1, riportati come distribuzione percentuale per direzione, sull'intero periodo

L'analisi della direzione dei venti ha mostrato come la prima stagione sperimentale (serie 1) abbia visto una prevalenza di vento in direzione nord (35%), seguita da quelli in direzione sud-ovest (14%) e sud (12%).

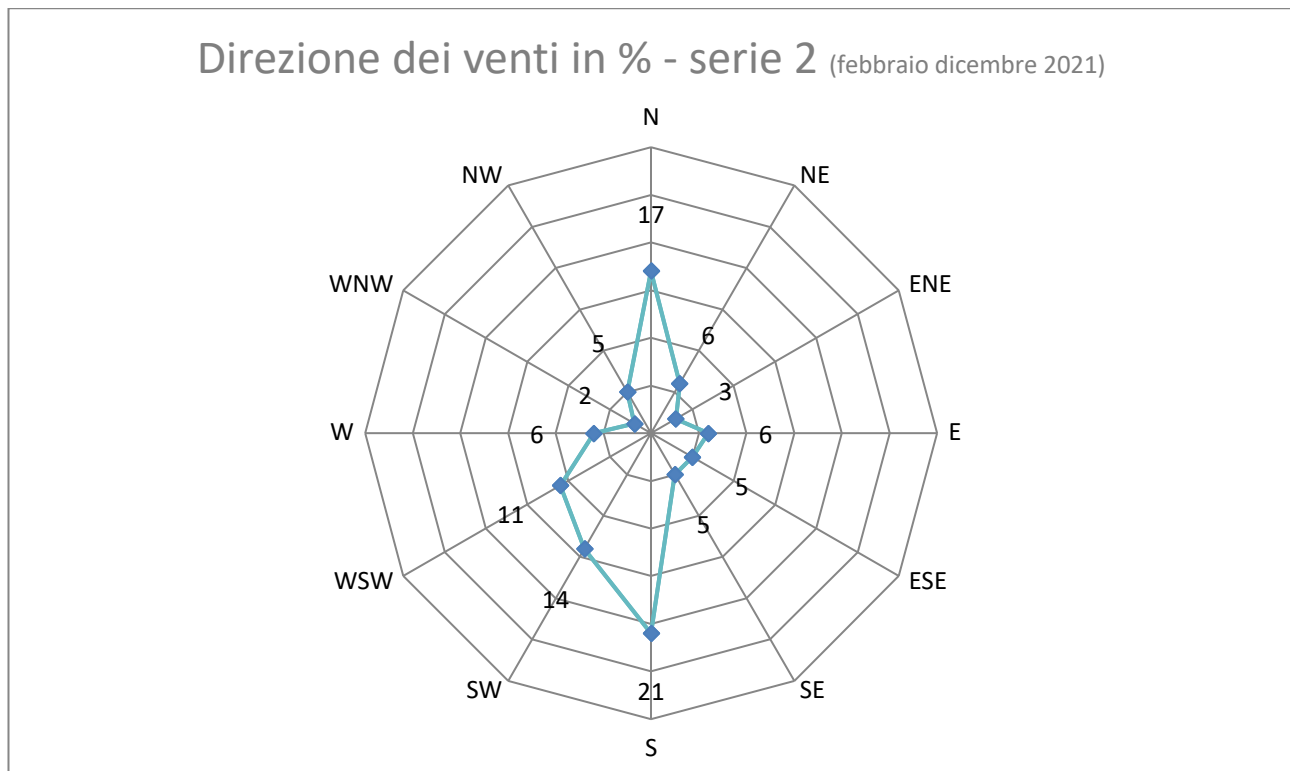


Figura 3.1.10 Grafico rappresentante la direzione dei venti per l'intervallo sperimentale che ha interessato la serie 2, riportati come distribuzione percentuale per direzione, sull'intero periodo

L'analisi della distribuzione di direzione dei venti durante la seconda stagione sperimentale (serie 2) ha mostrato una distribuzione direzionale dei venti più omogenea della precedente pur risultando maggiormente frequenti, anche in questo caso, i venti con direzione sud (21%) e nord (17%).

Oltre alla direzione, dei venti è stata valutata la velocità media e quella delle raffiche (Figura 3.1.11 e 3.1.12). Entrambe le stagioni di sperimentazione hanno visto un vento con velocità media di poco inferiore ai 2 m/s con alcuni picchi a 5 m/s. Per quanto riguarda le raffiche, in entrambe le serie la loro velocità non ha superato i 20 m/s. La velocità sopra citata è stata raggiunta in due episodi, il 5 maggio 2019 e il 6 aprile 2021, tutti gli altri episodi, in entrambe le serie invece si sono attestati tra i 5 e i 10 m/s con alcuni picchi di 15 m/s.

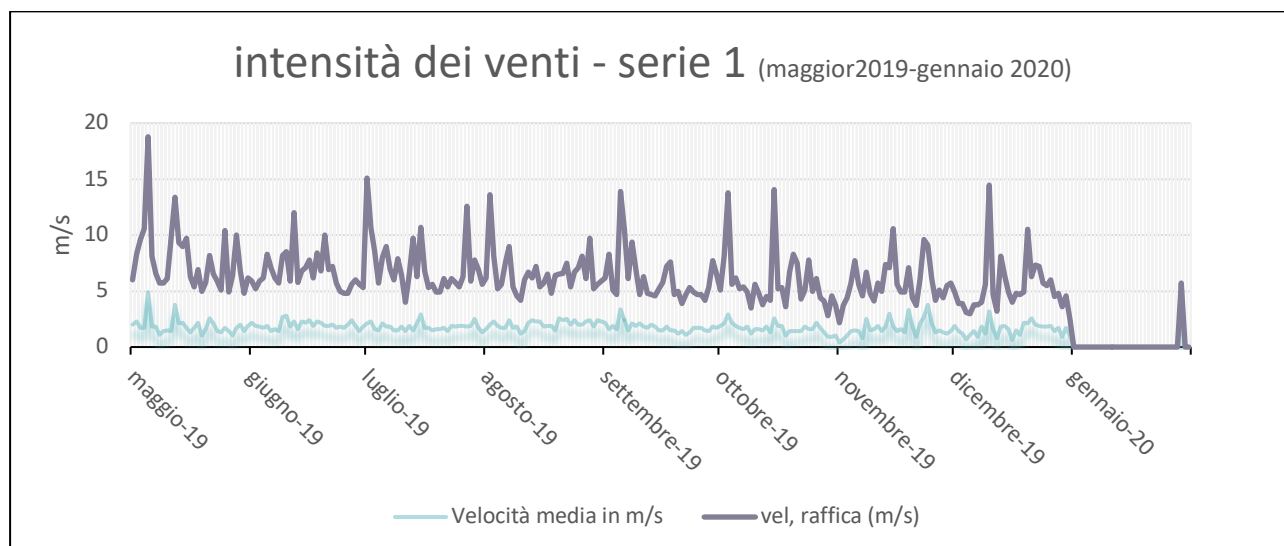


Figura 3.1.11 Rappresentazione della velocità media giornaliera del vento per l'intervallo sperimentale che ha riguardato la serie 1 e velocità giornaliera delle raffiche per il medesimo periodo

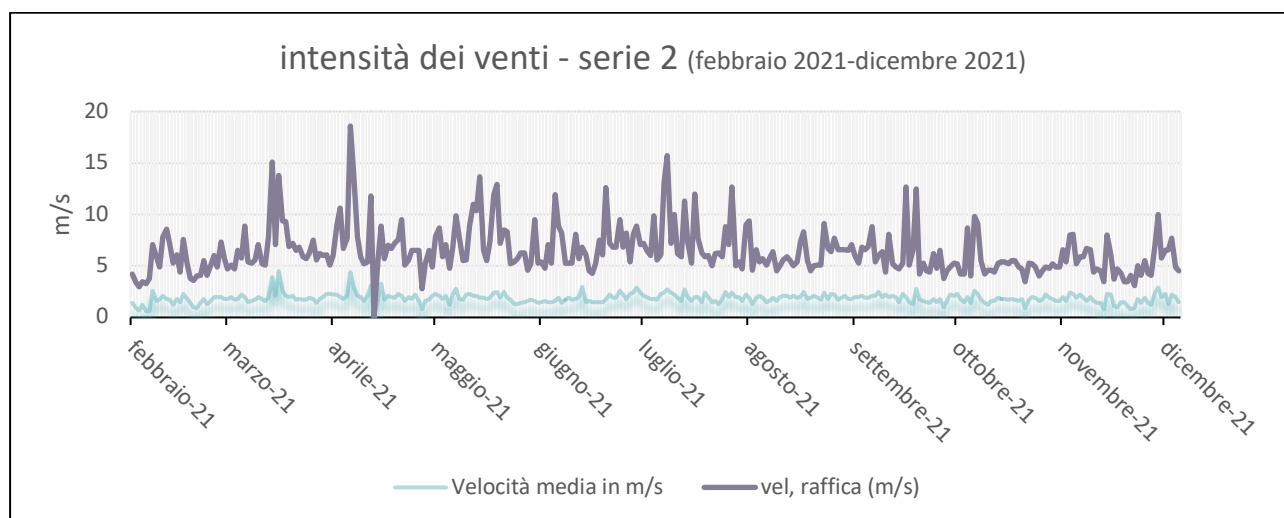


Figura 3.1.12 Rappresentazione della velocità media giornaliera del vento per l'intervallo sperimentale che ha riguardato la serie 2 e velocità giornaliera delle raffiche per il medesimo periodo

Caratterizzazione vegetazionale

I boschi della Riserva Isola del Mandelli, area che include interamente il luogo della sperimentazione, sono dominati dalla farnia (*Quercus robur* L.), a cui si aggiungono specie arboree tipiche di queste zone come il pioppo bianco (*Populus alba* L.) e ibrido, il carpino bianco (*Carpinus betulus* L.), l'ontano nero (*Alnus glutinosa* (L.) Gaertn.), il pado (*Prunus padus* L.), l'olmo campestre (*Ulmus minor* Mill.) e la robinia (*Robinia pseudoacacia* L.). A questi si accompagna un ricco strato arbustivo, con specie come il biancospino (*Crataegus monogyna* Jacq.), il viburno (*Viburnum lantana* L.), la frangola (*Rhamnus frangula* Mill.), il prugnolo (*Prunus spinosa* L.), il sanguinello (*Cornus sanguinea* L.), il nocciolo (*Corylus avellana* L.), l'evonimo (*Euonimus europaeus* L.) e il corniolo (*Cornus mas* L.). Inoltre, è segnalata la presenza di una stazione di ginepro comune (*Juniperus communis* L.), molto rara in pianura (sito ufficiale Parco del Ticino, Natura 2000 a, b).

Per quanto riguarda più in dettaglio l'area della sperimentazione, in essa sono identificabili due zone che risultano macroscopicamente diverse per vegetazione: un'area aperta, di prato definita area A, e un'area chiusa di bosco, definita area B. Le due aree sono separate da una strada sterrata.

Area A (Ambiente aperto - Prato)

Questa area, collocata a ovest della strada, è stata a sua volta divisa in 3 aree secondarie, definite A-1, A-2 e A-3, la cui diversità può trovare giustificazione nella presenza/assenza di disturbo provocata da precedenti sperimentazioni (Caccianiga et. al, 2012):

- Area A-1 (Ambiente aperto - disturbato)

Questa zona ha visto un importante evento di disturbo nel 2009, quando un progetto di ricerca ivi localizzato ha richiesto lo scavo di buche preposte al seppellimento di carcasse di maiale e il successivo dissotterramento delle stesse. Questo ha portato alla distruzione della vegetazione erbacea presente con successivo innesto di una vegetazione che risulta ancora oggi differente da quella della zona A-2 indisturbata. Questa zona appare dominata da *Teesdalia nudicaulis* e *Aira caryophyllea*, a cui si aggiungono altre specie erbacee come Graminacee e Cistaceae e *Robinia pseudoacacia* tra le specie arboree.

- Area A-2 (Ambiente aperto - indisturbato)

Questa area mostra quella che è stata interpretata come la vegetazione originale non disturbata. In questa zona sono presenti *Melica ciliata* e *Bromus* sp., che caratterizzano l'ambiente per altezza e densità degli esemplari, nonché per il colore in una visione d'insieme. Abbondante è anche *Euphorbia cyparissias*, presente tuttavia anche in Zona A-1. Così come le altre specie arbustive e arboree sopra citate: farnia (*Quercus robur*), il biancospino (*Crataegus monogyna*) e *Robinia pseudoacacia*.

- Area A-3 (Foresta di bambù in avanzamento)

Questa area anch'essa indisturbata, mostra una foresta di bambù in rapido avanzamento verso le due aree sopra descritte. Commisti al bambù sono presenti specie quali il biancospino e la robinia, nonché la farnia. Presenti in minore quantità anche Poaceae come *Festuca* sp. e *Dactylis glomerata* e specie esclusive di questo sotto ambiente come *Iris* sp. e *Rubus* sp.

Area B (Ambiente chiuso - Querceto)

Quest'area è collocata a est della strada, a una distanza di circa 20 metri dalla Area A. Anche quest'area ha subito il disturbo connesso alle sperimentazioni di cui sopra (Caccianiga et. al, 2012), tuttavia non ne sono originate aree floristicamente diverse, al contrario, la zona è rimasta omogenea al suo interno pur essendo ancora visibili le buche che tuttavia sono state escluse in questo progetto. Questa area presenta specie tipiche del querceto come *Quercus robur*, *Robinia pseudoacacia*, e *Crataegus monogyna*, ma anche specie non presenti nell'area A, arbustive come il nocciolo (*Corylus avellana*), l'ailanto (*Ailanthus altissima*), la frangola (*Frangula alnus*), e varie specie di rovi (*Rubus* sp.) o erbacee, come *Oxalis* sp. e *Brachypodium rupestre*, che caratterizza questo ambiente o ancora specie lianose come l'edera (*Hedera helix*) rampicante sulle specie arboree e arbustive sopra citate.

Caratterizzazione zoologica

Il Parco del Ticino è caratterizzato da un'ampia varietà di habitat che ospitano un'elevata diversità faunistica, esso svolge il ruolo importante di serbatoio di biodiversità, di fatto sono state censite 3.264 specie animali, inoltre la sua posizione funge da corridoio ecologico tra Alpi e Appennini (Parco Lombardo del Ticino, n.d.).

Il Parco del Ticino è un parco fluviale che contiene 47 specie ittiche di cui 30 autoctone e 17 alloctone, sono stati realizzati diversi programmi per tutelare alcune specie in declino come la trota marmorata (*Salmo trutta marmoratus*), lo storione cobice (*Acipenser naccarii*) o il pigo (*Rutilus pigus*). Sono

state osservate 57 specie di mammiferi, tra queste troviamo il capriolo (*Capreolus capreolus*), la faina (*Martes foina*) e la martora (*Martes martes*), tuttavia ci sono anche alcune specie che recano importanti danni ambientali come il cinghiale (*Sus scrofa*) o la nutria (*Myocastor coypus*). Il Parco è stato anche riconosciuto come Important Bird Area secondo BirdLife International poiché ospita una grande diversità di uccelli che negli ultimi decenni è incrementata, attualmente si contano 320 specie osservate tra cui la gru (*Grus grus*), il succiacapre (*Caprimulgus europaeus*) e diversi pelecaniformi. Anche i rettili, gli anfibi e gli invertebrati sono ben rappresentati all'interno del Parco (Natura 2000 a, b; Furlanetto, 2002; Rondinini et al., 2013).

Corpo

Il corpo come accennato è stato simulato mediante lattonzoli di maiale, maiali di massimo quattro mesi che non hanno completato lo svezzamento, morti per cause naturali. Oltre ai lattonzoli sono state utilizzate ciocche di capelli ottenute da volontari. La scelta del lattonzolo di maiale vede la sua giustificazione nelle numerose somiglianze in termini di massa, composizione corporea etc. con la specie umana. In questo caso la scelta è viepiù lecitata dalla dimostrata somiglianza tra la cute umana e quella del lattonzolo di maiale tanto da un punto di vista anatomico quanto funzionale (Avon e Wood, 2005), pur con i limiti intrinseci nella scelta di un surrogato (Dautartas et al., 2018).

Il secondo substrato di interesse, i capelli, sono stati ottenuti da donatori volontari mediante taglio. Nel complesso sono stati utilizzati 20 lattonzoli di maiale tra 3 e i 6 kg e 200 ciocche di capelli da 0,5 grammi ciascuna.

Infine, sono stati raccolti campioni di due fluidi biologici, tra i più comuni in contesto forense, sangue e sperma, il primo raccolto in sala anatomica in accordo con il Regolamento di Polizia Mortuaria, Capo VI, Rilascio di cadaveri a scopo di studio. Lo sperma invece è stato raccolto da donatori volontari in regime di anonimato: i campioni, infatti, non erano corredati da informazioni del donatore, una volta campionato il fluido sarebbe stato sottoposto ad analisi microscopica per escludere casi di azoospermia che avrebbero potuto compromettere gli esami successivi.

Preparazione dei campioni

La preparazione dei campioni ha previsto il lavaggio dei lattonzoli con acqua corrente, sapone neutro e spugne nuove al fine di standardizzare la condizione di partenza. Successivamente, un emitorace è stato rasato con rasoi usa e getta, infine i campioni sono stati sciacquati con acqua e acqua distillata. Con i capelli raccolti sono state realizzate ciocche del peso di circa 0.5 grammi, omogenee per lunghezza e origine dei capelli, i capelli della singola ciocca sono stati trattiene mediante una fascetta da elettricista. Una volta composte, anche le ciocche sono state lavate con acqua e sapone neutro e infine sciacquate con acqua distillata per le ragioni di cui sopra. Di seguito si riporta il protocollo di lavaggio delle ciocche di capelli:

- ogni gruppo di 10 ciocche è stato immerso in soluzione di acqua e shampoo neutro (10 ml di shampoo per 350 ml circa di acqua). Le dieci ciocche sono state lasciate in soluzione per 5 minuti durante i quali sono state sottoposte a lenta agitazione.
- rimosse dalla soluzione di acqua e shampoo le ciocche sono state lavate in acqua corrente per 1 minuto.
- è seguito un passaggio del pool di 10 ciocche in acqua distillata.
- dopodiché le ciocche hanno subito un secondo passaggio in acqua distillata realizzato tramite immersione di ogni singola ciocca in contenitore sterile con acqua distillata nuova.

-le ciocche sono state poste ad asciugare in apposito contenitore realizzato appositamente perché permettesse l'asciugatura in ambiente pulito lontano da fonti di contaminazione.

Infine, le ciocche sono state fissate ai lattonzoli in numero di dieci per lattonzolo nel seguente modo; è stata realizzata una linea di ciocche, parallela alla colonna vertebrale, spostata lateralmente di due cm rispetto ad essa, le ciocche della fila distavano tre centimetri l'una dall'altra. Ciascuna è stata fissata mediante l'uso di filo di nylon per mezzo di due punti di sutura uno dorsalmente e uno ventralmente rispetto alla fascetta. Il campione così preparato è stato idealmente suddiviso in 5 zone per agevolare le analisi e la raccolta dati; le cinque aree corrispondevano grossomodo alle regioni anatomiche di capo, zona dorsale craniale, zona dorsale caudale, zona ventrale craniale e arti superiori, zona ventrale caudale e arti inferiori (Figura 3.1.13).

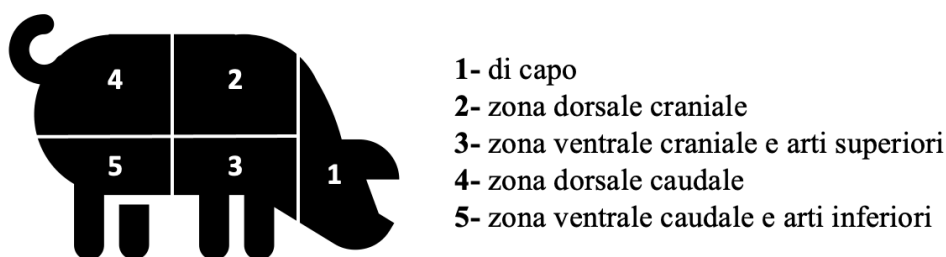


Figura 3.1.13 Rappresentazione grafica della suddivisione in aree del campione

I lattonzoli sono sempre stati conservati in congelatore a -20°C fino alla messa in posto in ambiente. Il trattamento dei maiali con fluidi biologici è avvenuto in ambiente, mediante il posizionamento di 10 macchie circolari per ciascun lattonzolo poste una sulla ciocca e una sulla cute a formare anche in questo caso due file parallele. Le macchie sono state realizzate mediante un tampone in spugna usa e getta che veniva intinto nel contenitore con il fluido prima di eseguire ogni macchia, in accordo con Simmons et al. (2014), ciascuna macchia era costituita da circa 100 μl di fluido.

Posizionamento

I campioni sono stati posti in ambiente in due momenti differenti una prima serie di otto campioni è stata posizionata in ambiente il 9 maggio 2019 e rimossa il 30 gennaio 2020 la seconda serie di campioni è stata invece posta in ambiente il 24 febbraio 2021 e rimossa il 4 dicembre 2021.

I campioni sono poi permasti in ambiente in oltre otto mesi durante i quali sono stati campionati ad intervalli prestabiliti, più frequenti all'inizio e via via più diradati fino ad una cadenza mensile dallo scadere de primo mese.

Per ciascuna serie erano stati preparati 10 campioni di cui otto posizionati in ambiente e due conservati in laboratorio a -20° a modi controllo. Gli otto lattonzoli posizionati in ambiente sono stati così suddivisi nelle sopraccitate area A e area B: due campioni sono stati posizionati in area A, l'area di prato, mentre i restanti sei sono stati posizionati in area B, l'area boschiva (Figura 3.1.14). Tutti i campioni sono stati posti in superficie, protetti da gabbie in rete e metallica a maglie di dimensioni 6×8 cm, precedentemente costruite con lo scopo di proteggere i campioni dalla predazione ma il contempo di consentire la più naturale interazione con l'ambiente. Ciascuna gabbia era sufficientemente grande da ospitare due campioni infatti ciascuna coppia di campioni era destinata ad uno specifico trattamento: una coppia priva di fluidi biologici è stata posizionata in ciascuna delle due aree mentre le due coppie trattate rispettivamente con sangue e con sperma sono state entrambe posizionate nell'area boschiva, l'area B. La coppia di campioni privi di fluidi biologici, posti in area

aperta, sarebbero stati spostati in area boschiva al Tempo 2. In fase di posizionamento la distanza di ciascuna gabbia dalle principali specie vegetali presenti è stata determinata.

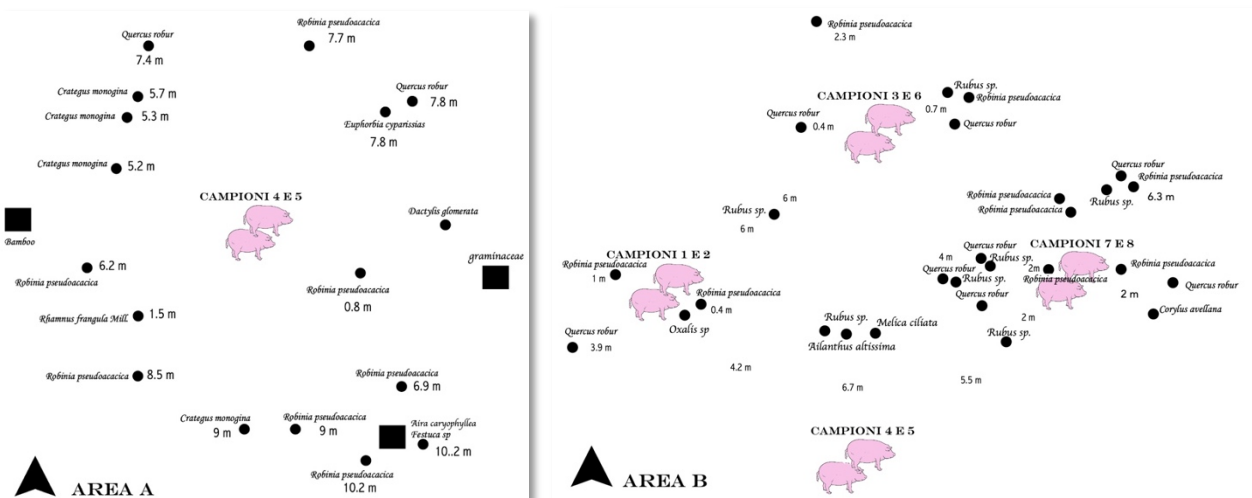


Figura 3.1.14 Rappresentazione della posizione dei campioni nelle due aree, area A e area B, così come visibili al tempo 0, si noti che i campioni denominati 4 e 5, posizionati inizialmente in ambiente aperto (area A) subiranno, al tempo 2, spostamento in ambiente chiuso (area B).

Campionamento e analisi

Durante tutta la sperimentazione i campioni sono stati osservati e da ciascuno sono stati eseguiti specifici prelievi, con maggior frequenza nei primi giorni seguenti il posizionamento, laddove l'intervento di entomofauna e i cambiamenti a livello delle carcasse sono più evidenti e via via meno frequenti al procedere dell'intervallo temporale, fino a raggiungere la cadenza mensile. I campionamenti hanno coperto un intervallo di 8/9 mesi per ciascuna delle due serie e sono stati svolti in tutte e quattro le stagioni (Figura 3.1.15).

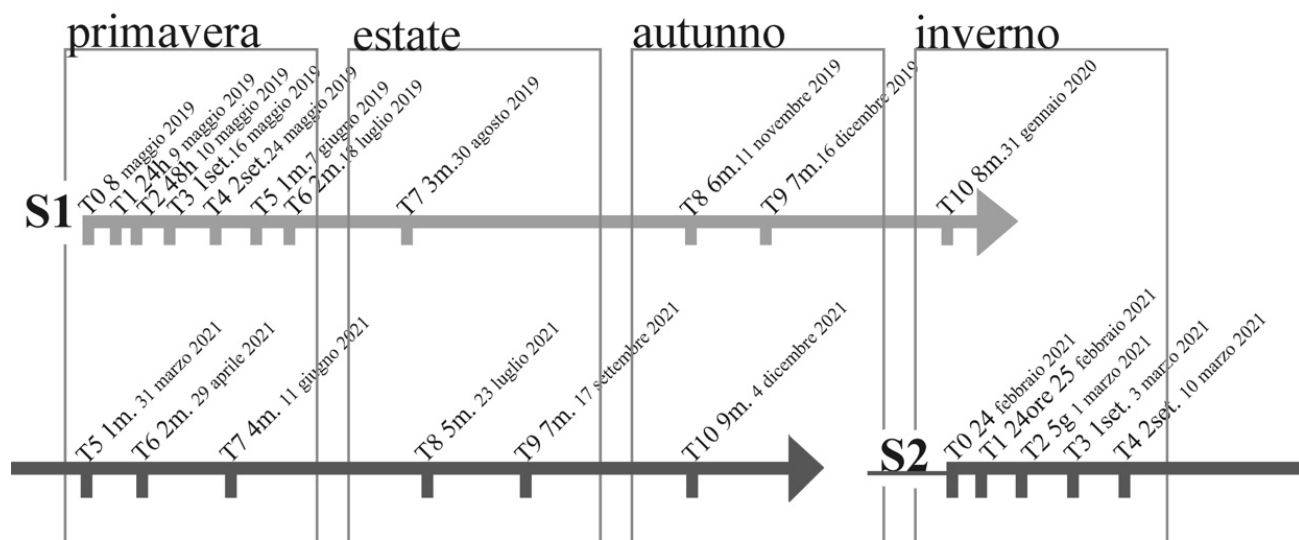


Figura 3.1.15 Rappresentazione grafica dei diversi tempi sperimentali delle due serie di campioni e della loro distribuzione nelle quattro stagioni

Ciascun campionamento ha previsto la messa in atto del seguente protocollo:

Fasi della raccolta dati sul campo

1. esecuzione di alcune foto dell'area, raccolta dati, repertazione fotografica ed eventuale campionamento di elementi vegetali di interesse al fine di caratterizzare l'ambiente anche in funzione dell'elemento stagionale
2. foto dei campioni prima e dopo l'apertura della gabbia, valutazione del loro stato di conservazione complessivo ed in particolare dei substrati di interesse (cute, capelli, osso) valutazione del TBS, valore rappresentativo dello stato di conservazione di un corpo ottenuto dalla somma dei punteggi attribuiti secondo una scala predefinita alle regioni di capo torso e arti. Questo valore è stato stimato utilizzando delle tabelle che rivedono quelle originali sviluppate sull'uomo (Megyesi et al., 2005) proprio per il maiale (Keough et al., 2017).
3. raccolta dati, repertazione fotografica delle tracce biologiche apposte con focus su visibilità e localizzazione della traccia stessa
3. raccolta dati, repertazione fotografica ed eventuale campionamento di elementi botanici presenti sui campioni annotandone: tipologia (fiori, frutti, foglie, fusti), stato di conservazione (fresco, secco, appartenente alla lettiera), posizione di rinvenimento (il maiale è stato infatti suddiviso in 5 zone) e substrato di deposizione (cute o capelli, osso).
4. raccolta dati, repertazione fotografica ed eventuale campionamento di elementi entomologici presenti sui campioni valutandone lo stadio di sviluppo (uova, larve, pupari, adulti), la posizione sul campione e il substrato come per la componente vegetale.
5. raccolta dati, repertazione fotografica ed eventuale campionamento di altri elementi di interesse (zoologici, merceologici o di altra natura).
6. prelievo di un campione di cute e di cute con ciocca di capelli, tale prelievo è stato eseguito mediante l'utilizzo di bisturi, pinzette e forbici. Il campione prelevato è stato poi posto in borsa freezer fino all'arrivo in laboratorio e poi conservato in congelatore a -20°C.
7. foto post campionamento.
8. compilazione di appositi data base tematici includenti tutti i dati di cui sopra.

Di seguito le tabelle tratte dal lavoro di Keough per la determinazione dell'indice TBS (Figura 3.1.16).

CAPO

A (1pt)	Fresh 1. Fresh, no discoloration—slight lividity (pink/red)
B (2pts)	Early decomposition 1. Insect activity; pronounced lividity (dark pink/red)
(3pts)	2. Dark-red discoloration with some flesh still relatively fresh; edema of ears; maggot colonization (mouth); initial bloating of neck and skin slippage
(4pts)	3. Discoloration and/or brownish shades particularly at edges, drying of nose, ears, and lips; prominent bloating of neck; maggot colonization (mouth and eyes); purging of decompositional fluids (mouth)
(5pts)	4. Purging of decompositional fluids (mouth, eyes, nose); brown discoloration; hair loss and skin slippage; drying of lips, nose and ears
(6pts)	5. Black discoloration of flesh; extensive maggot colonization and migration
C (7pts)	Advanced decomposition 1. Caving in of the flesh and tissues of eyes and throat
(8pts)	2. Moist decomposition with bone exposure less than one half that of the area being scored
(9pts)	3. Mummification with bone exposure less than one half that of the area being scored
D (10pts)	Skeletonization 1. Bone exposure of more than half of the area being scored with greasy substances and decomposed tissue
(11pts)	2. Bone exposure of more than half the area being scored with desiccation of mummified tissue
(12pts)	3. Bones largely dry, but retaining some grease
(13pts)	4. Dry bone

TRONCO

A (1pt)	Fresh 1. Fresh, no discoloration—slight lividity (pink)
B (2pts) (3pts) (4pts) (5pts)	Early decomposition 1. Skin appears shiny/glossy with early bloating and may show purple-black discoloration over abdominal area 2. Gray-purple to green discoloration: some flesh still relatively fresh; marbling of abdomen with maximum bloat 3. Purple-black discoloration and purging of decompositional fluids; skin slippage with maggot-filled blisters present; hair loss 4. Postbloating following release of the abdominal gases, with extensive skin slippage and drying out of blisters
C (6pts) (7pts) (8pts)	Advanced decomposition 1. Decomposition of tissue producing sagging of flesh; caving in of the abdominal cavity 2. Moist decomposition with bone exposure less than one half that of the area being scored 3. Mummification with bone exposure less than one half that of the area being scored
D (9pts) (10pts) (11pts) (12pts)	Skeletonization 1. Bones with decomposed tissue, sometimes with body fluids and grease still present 2. Bones with desiccated or mummified tissue covering less than one half of the area being scored 3. Bones largely dry, but retaining some grease 4. Dry bone

ARTI

A (1pt)	Fresh 1. Fresh, no discoloration—slight lividity (pink) with rigor present
B (2pts) (3pts) (4pts) (5pts)	Early decomposition 1. Pink-white appearance with bloating of proximal parts of limbs 2. Gray to green discoloration: marbling and shiny appearance of skin; some flesh still relatively fresh; skin slippage and hair loss 3. Discoloration and/or brownish shades particularly at edges, drying of skin (starting distal to proximal) 4. Brown to black discoloration, skin having a leathery appearance
C (6pts) (7pts)	Advanced decomposition 1. Moist decomposition with bone exposure less than one half that of the area being scored 2. Mummification with bone exposure less than one half that of the area being scored
D (8pts) (9pts) (10pts)	Skeletonization 1. Bone exposure over one half the area being scored, some decomposed tissue and body fluids remaining 2. Bones largely dry, but retaining some grease 3. Dry bone

Figura 3.1.16 Tabelle per la determinazione dell'indice TBS dal lavoro di Keough e colleghi (2017)

Fasi dell'analisi di laboratorio dei campioni

1. Esecuzione di foto di ogni prelievo con un riferimento metrico (ABFO).
2. Valutazione dello stato di conservazione dei substrati presenti sia macroscopica che con l'ausilio di microscopio episcopico Wild Heerbrugg M650
3. Analisi dei campioni con microscopio episcopico ad ingrandimento 6X, ed esecuzione di immagini dell'intera superficie.
4. Esecuzione di foto di dettaglio di tutto il materiale presente (16X, 25X o 40X). Durante questa analisi vengono ricercati in particolare elementi botanici, zoologici, geologici e merceologici.
5. Compilazione di appositi database con i dati di ogni campione analizzato.

Di seguito tabella per la valutazione qualitativa dello stato di conservazione dei substrati corporei (Figura 3.1.17) e dei fluidi (Figura 3.1.18):

STATO DI CONSERVAZIONE	DEFINIZIONE	PUNTEGGIO
CUTE		
Ben conservata	Il campione non presenta alterazioni evidenti a livello di colore e morfologia	1
Iniziale putrefazione	Il campione si presenta di colore brunastro e risulta umido	2
Iniziale mummificazione	Il campione appare leggermente scurito e mostra parziale disidratazione	3
Mummificazione	Il campione appare scurito e disidratato	4

Completa distruzione del tessuto	Il campione, completamente putrefatto, non è più osservabile	5
CAPELLI		
Ben conservati	Il campione non presenta alterazioni evidenti a livello di colore e morfologia e quantità	1
Alterazione cromatica	I capelli presentano colorazione alterata tendente al rosso-bruno	2
Alterazione quantitativa	Il materiale si presenta quantitativamente ridotto rispetto all'originale	3
Assenza del substrato	Il campione non è più osservabile	4

Figura 3.1.17 Tabella descrittiva dello stato di conservazione dei due substrati indagati: cute e capelli

STATO DI CONSERVAZIONE	DEFINIZIONE	PUNTEGGIO
SANGUE		
Ben visibile	Visibile e circoscritto all'area originale di apposizione	1
Poco visibile	Ancora visibile ma schiarito	2
Poco visibile e diffuso	Schiarito e diffuso su un'ampia superficie, visibile solo come un alone	3
Non visibile	Non più visibile	4
SPERMA		
Ben visibile	Visibile e circoscritto all'area originale di apposizione	1
Poco visibile	Ancora visibile ma solo in piccole aree di aggregazione	2
Non visibile	Non più visibile	3

Figura 3.1.18 Tabella descrittiva dello stato di conservazione dei due fluidi biologici indagati: sangue e sperma

3.1.2 Risultati

Stato di conservazione del corpo e dei suoi substrati

La valutazione dello stato di conservazione generale del lattonzolo è stata realizzata mediante l'utilizzo dell'indice TBS. Dal calcolo di tale indice per ciascun lattonzolo di maiale a ciascun tempo (Figura 3.1.19, 3.1.20) è stato ottenuto quanto segue:

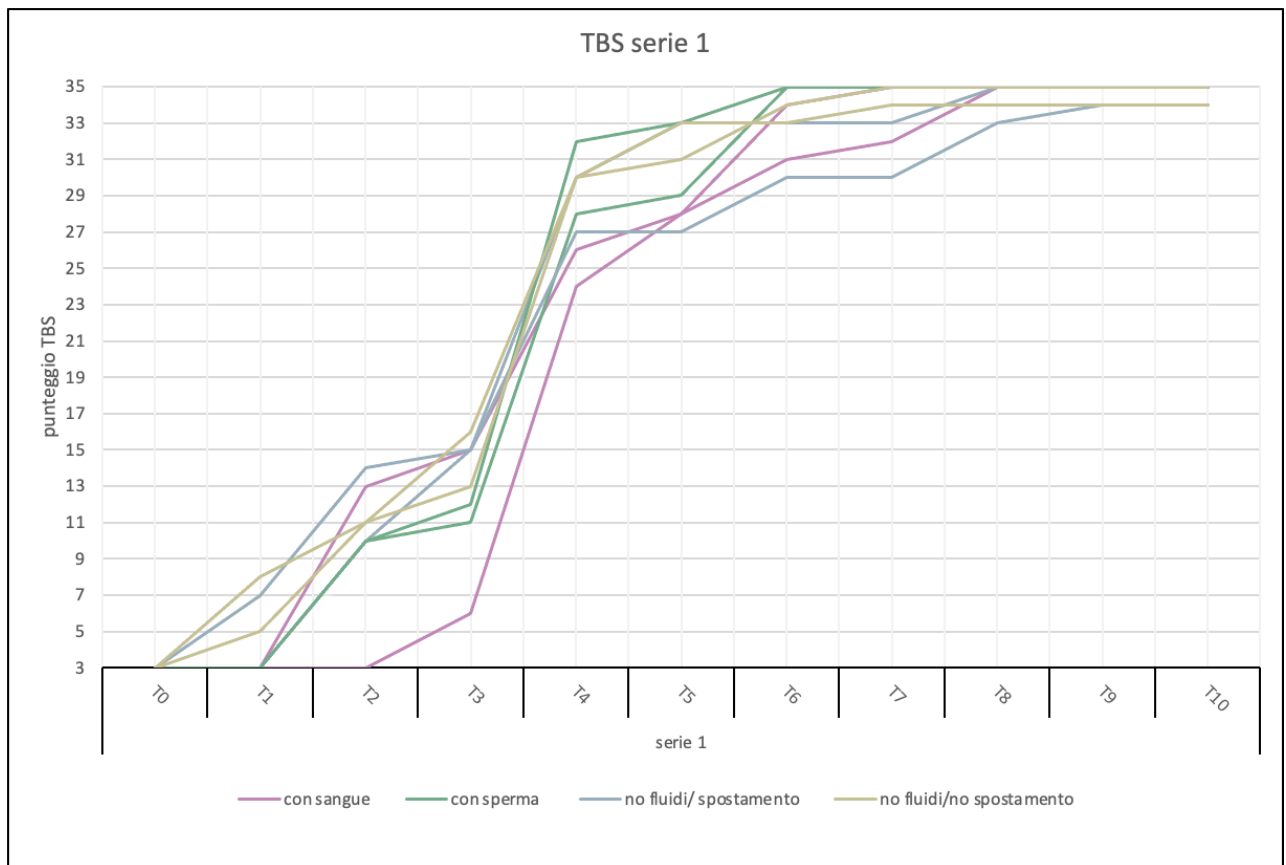


Figura 3.1.19 Grafico a linee riportante il valore TBS ai diversi tempi sperimentali, di ciascun campione della serie 1

Dal grafico sopra riportato (Figura 3.1.19) è possibile osservare come tutti i campioni del primo set sperimentale presentino un indice TBS relativamente basso (<15) fino al tempo 3, una settimana, per poi andare incontro ad un brusco aumento in corrispondenza di T4, due settimane, dove il valore minimo di TBS è pari a 24 (campione 1).

Dal grafico si nota altresì come i valori del TBS mostrino il massimo delta di variazione in corrispondenza di T2 e T3, dove campioni diversi arrivano ad avere una forbice di valori dell'indice TBS di 11 e 10 punti. È inoltre possibile osservare come campioni sottoposti al medesimo trattamento (linea del medesimo colore nel grafico) e posizionati nella stessa gabbia, a pochi cm l'uno dall'altro, mostrino andamenti differenti; il caso più eclatante è quello dei campioni con sangue. Questi, posti entrambi da subito in ambiente boschivo, mostrano valori differenti di TBS in tutto l'intervallo compreso tra T2 e T8, con variazione dell'indice che in corrispondenza di T2, supera i 10 punti.

Se però si considerano i campioni sottoposti a spostamento, si può notare che il loro indice TBS ai tempi 1, 2 e 3, ossia fino che siti in ambiente aperto e appena dopo lo spostamento, risultava in uno dei campioni costantemente superiore a quello della maggior parte dei campioni di ambiente chiuso, l'altro campione tuttavia appare, solo al tempo 3 superiore a 4 dei sei campioni originari dell'ambiente chiuso. Si può quindi ipotizzare un effetto dovuto all'attesa maggior temperatura di questo ambiente se si consideri il trend registrato per la serie 2 che vedeva, nel periodo dell'anno considerato, temperature di 1, 2 °C superiori in ambiente aperto rispetto a quello chiuso. Tuttavia, il trend non è sufficiente ad escludere un effetto diverso forse imputabile a fenomeni endogeni del campione.

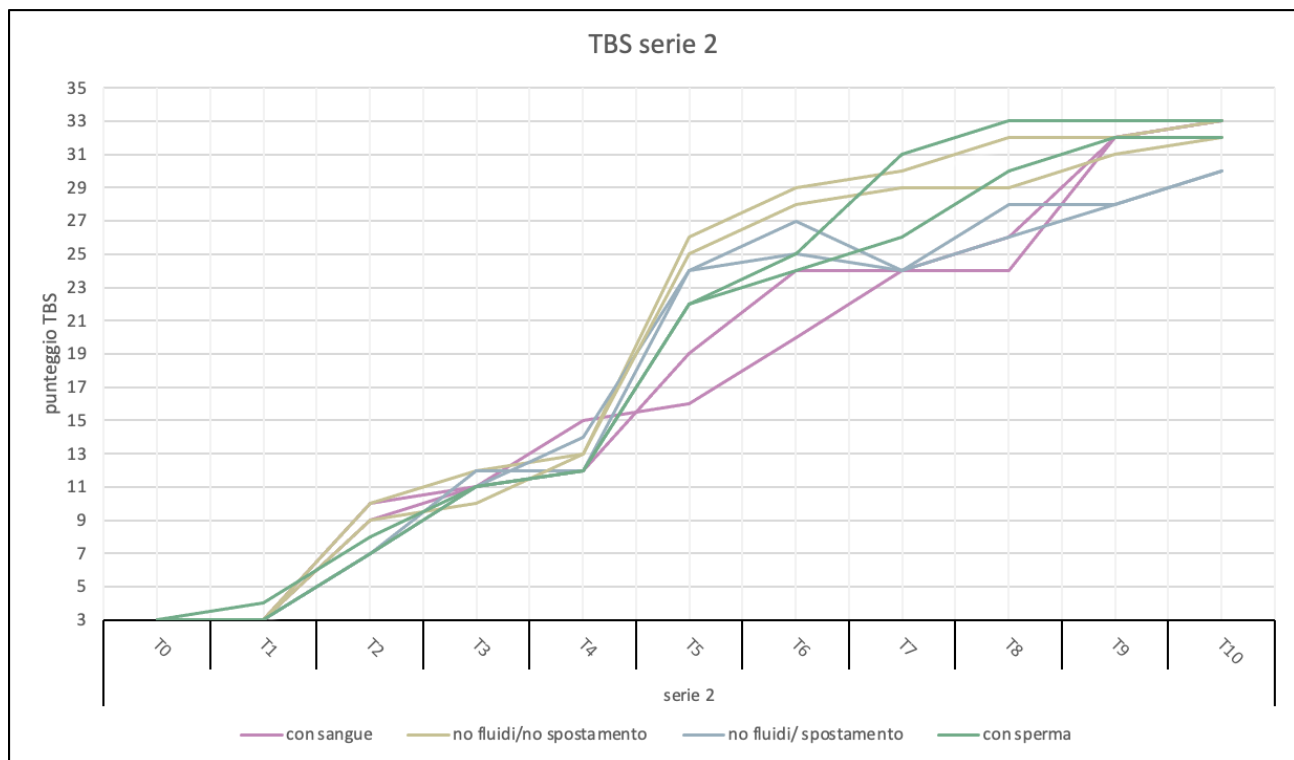


Figura 3.1.20 Grafico a linee riportante il valore TBS ai diversi tempi sperimentali, di ciascun campione della serie 1

Dal grafico del secondo set di campioni (Figura 3.1.20) è possibile osservare come i valori del TBS mostrino il massimo campo di variazione in corrispondenza di T5 dove campioni diversi arrivano ad avere una differenza di valore dell'indice di 10 punti seguito da T6 e T8 dove la differenza è di 9 punti. Le due porzioni iniziale e terminale dell'intervallo temporale presentano invece più omogeneità nei campioni: nessuna variazione tra i campioni a T0 e variazione massima di 7 punti in corrispondenza di T7.

È inoltre possibile osservare come, in questa seconda serie, vi sia una relativa somiglianza nell'andamento di campioni sottoposti al medesimo trattamento e posizionati nel medesimo ambiente. Tali campioni infatti differiscono al massimo di 5 punti come nel caso dei campioni con sperma, al tempo 7.

Se si considerano i campioni sottoposti a spostamento, si può notare che, anche nei primi intervalli sperimentali, quando essi permanevano nell'ambiente aperto, il loro indice TBS non differiva da quello dei campioni di ambiente chiuso, coerentemente con una maggior somiglianza nelle temperature medie dei due ambienti in questo periodo dell'anno (differenze comprese tra 0.4 e 1 °C). Si nota infine come il trend generali di questa seconda serie veda un incremento dell'indice graduale, senza brusche accelerazioni ed il raggiungimento di un valore finale leggermente più basso di quello osservato nella serie precedente.

Nel grafico che segue (Figura 3.1.21) vengono messi a confronto gli indici TBS medi per serie, ottenuti dalla media degli indici TBS di tutti i campioni al medesimo tempo. Tuttavia, non essendo stato possibile far sempre coincidere i tempi nella serie 1 e nella serie 2, si veda la discrepanza a livello di T2 (Figura 3.1.15), il confronto prenderà in considerazione solo i tempi sperimentali che hanno avuto la medesima cadenza nelle due serie: T0, T1(24h), T3(1 settimana), T4(2 settimane), T5(1 mese), T6(2 mesi) e T9(7 mesi), analogamente si opererà nei successivi confronti tra le due

serie. Dal grafico riportato è possibile osservare quanto in parte già visto nelle singole analisi: la serie 1 mostra un picco di crescita dell'indice tra la prima e la seconda settimana di permanenza in ambiente dei campioni (tempo 3 e tempo 4), picco non altrettanto presente nella serie 2 dove l'indice tende a crescere in modo regolare. È possibile notare inoltre come la serie 2 non raggiunga mai i valori della serie 1 a significare che anche al tempo 9 i campioni presentavano ancora tessuto molle conservato pur se in quantità ridotta.

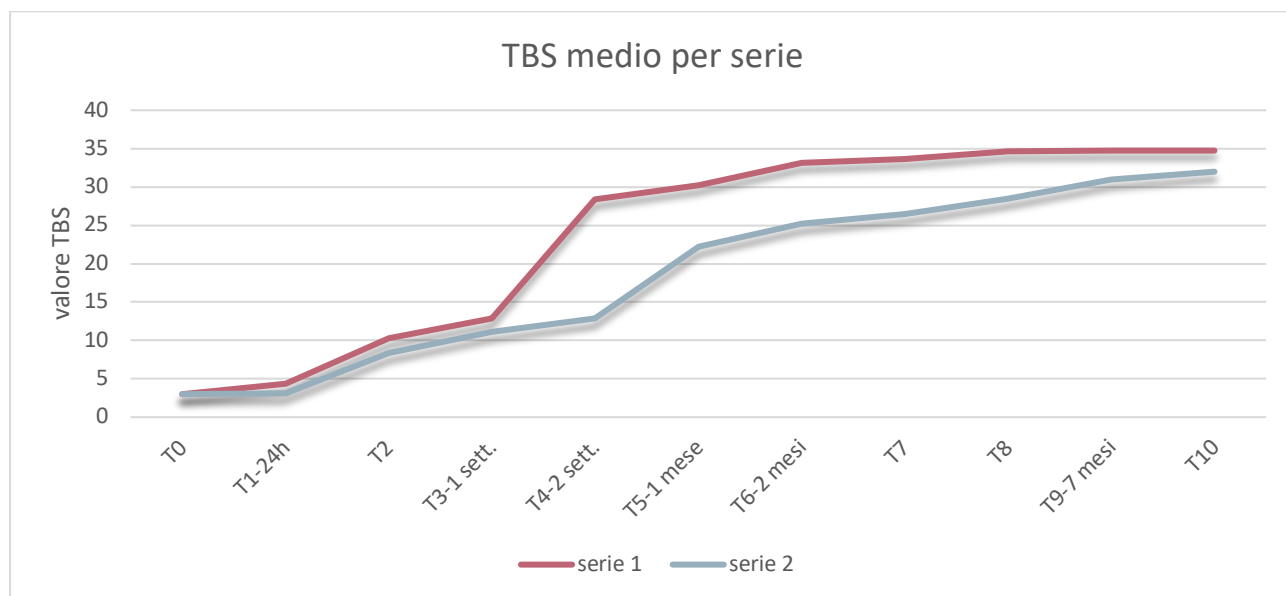


Figura 3.1.21 Rappresentazione comparativa degli indici TBS medi per serie

Per quanto riguarda i due substrati di interesse: cute e capelli, essi sono stati valutati qualitativamente e mediante l'attribuzione di un punteggio, come descritto nei materiali e metodi; per la cute sono stati identificati 5 stati di conservazione: ben conservata (1), in stato di iniziale putrefazione (2), in stato di iniziale mummificazione (3), mummificata (4) e non più presente (5). Per i capelli invece sono stati identificati quattro stati: ben conservati (1), mostranti alterazione cromatica (2), mostranti alterazione quantitativa (3) a non più presenti (4).

Di seguito si riportano i risultati ottenuti dal punteggio medio per tempo sperimentale ottenuto dai substrati nelle due serie di campioni (Figura 3.1.22, 3.1.23).

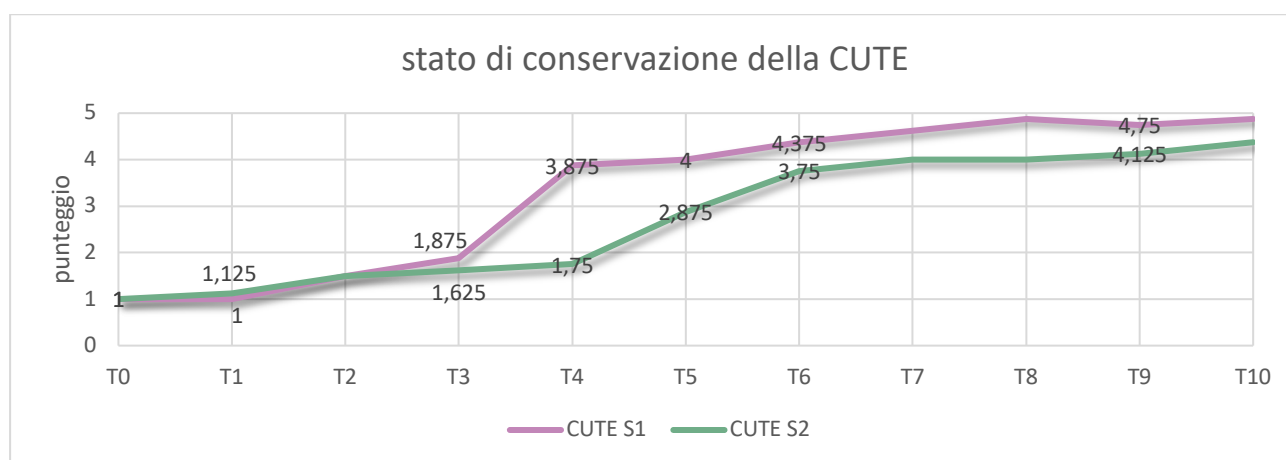


Figura 3.1.22 Rappresentazione comparativa dei punteggi medi ottenuto per lo stato di conservazione della cute nelle due serie

Dal grafico riportato (Figura 3.1.22) è possibile osservare che la cute nella serie 1 risulti complessivamente più alterata con evidenze di iniziale putrefazione sulla quasi totalità dei campioni al tempo 3, mummificazione diffusa in stato più o meno avanzato, a partire dal tempo 4 e perdita completa del substrato a partire dal tempo 6. Nella serie 2 invece la cute mostra un deterioramento più lento e meno marcato, con le prime tracce di iniziale mummificazione a partire dal tempo 5, prevalenza di cute mummificata dal tempo 6 ma cute sempre presente e primi casi di perdita completa del substrato a partire dal tempo 9.

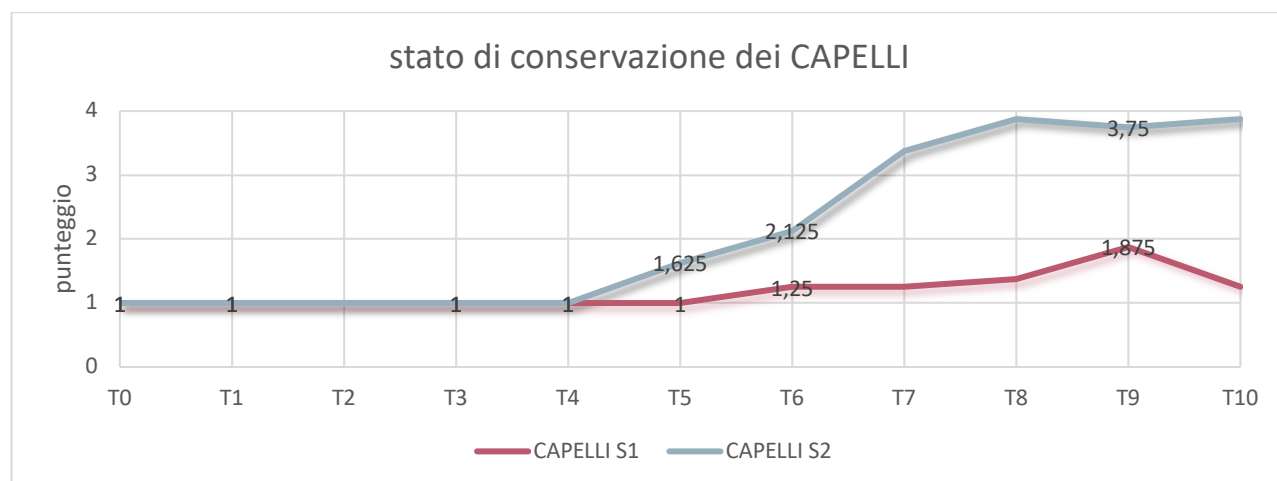


Figura 3.1.23 Rappresentazione comparativa dei punteggi medi ottenuto per lo stato di conservazione dei capelli nelle due serie

Anche per quanto riguarda i capelli (Figura 3.1.23) si nota una marcata discrepanza tra il deterioramento a cui vanno incontro nella serie 1 e quello nella serie 2. La prima, infatti, mostra un basso grado di alterazione con capelli sempre ben conservati dall'inizio della sperimentazione fino a T5, nei tempi successivi si osservano singoli casi di capelli alterati da un punto di vista quantitativo al tempo 6, casi di alterazione cromatica e quantitativa al tempo 9. Si tratta, in questa prima serie, di un substrato che, pur mostrando episodi di alterazione, risulta generalmente conservato per tutto l'intervallo sperimentale. I capelli della serie 2 invece, pur conservandosi in buono stato fino al tempo 4, vanno poi incontro ad un rapido deterioramento fino a risultare nella maggior parte dei casi del tutto assenti al tempo 9.

Analisi quali-quantitativa delle tracce botaniche raccolte dal substrato corpo

Verranno di seguito riportati i dati relativi alle tracce botaniche rinvenute sui campioni delle due serie sperimentali, durante analisi macroscopica sul campo e quella in laboratorio (Figura 3.1.24, 3.1.25, 3.1.26, 3.1.27) (I dati nella loro forma integrale sono riportati in appendice 3.1 A pag. 283).

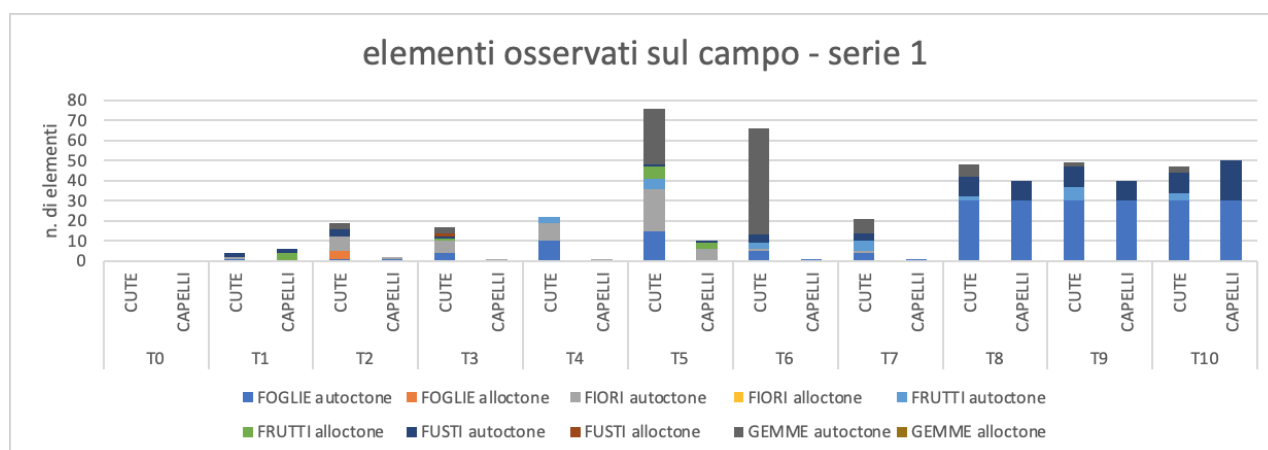


Figura 3.1.24 Istogramma rappresentante i diversi elementi macroscopici tratti dalle cute e dai capelli durante la prima stagione sperimentale

Considerando gli elementi macroscopici tratti dalle cute e dai capelli durante la prima stagione sperimentale (Figura 3.1.24), si nota come al tempo 0 nessun campione e nessun substrato presentino tracce botaniche macroscopicamente visibili; tuttavia, già dopo 24 ore diverse tipologie di elementi botanici fanno la loro comparsa. Nel primo intervallo sperimentale, dal tempo 1 al tempo 7, è essenzialmente la cute il substrato che maggiormente raccoglie elementi botanici freschi di varia natura: foglie, fiori, frutti e fusti, mentre i capelli ne risultano quasi del tutto privi. Nell'ultimo intervallo della sperimentazione invece la distribuzione delle tracce risulta più equa, si tratta in questo caso quasi esclusivamente di fusti, frutti e foglie facenti parte della lettiera.

Dal punto di vista quantitativo si nota altresì come tra l'inizio della sperimentazione e il tempo cinque il numero di elementi tratti dalle cute aumenti progressivamente per poi calare bruscamente al tempo 6 e 7, per tornare infine a valori intorno ai 40 elementi per substrato ai tempi 8, 9 e 10. Considerando poi l'aspetto qualitativo delle tracce botaniche esse risultano per la maggior parte autoctone, compatibili quindi con l'ambiente di persistenza. La prima eccezione è il rinvenimento di elementi propri dell'ambiente aperto sui due campioni sottoposti a spostamento, è il caso dei fusti di *Teesdalia nudicaulis*. Nello specifico il riferimento è ai fusti rinvenuti al tempo 3, sulla cute dei campioni spostati, fusti che tuttavia non risultano più visibili al tempo successivo. Altra tipologia di elementi alloctono rinvenuti sono i semi del pioppo (*Populus alba*) reperiti in diverse occasioni soprattutto sulle ciocche di capelli dei campioni in ambiente boschivo. Questi elementi, tuttavia, pur non essendo propri dell'ambiente boschivo sperimentale, sono in un certo senso compatibili con esso dato che filari di pioppo sono presenti ad un paio di centinaia di metri dal luogo della sperimentazione e che i semi del pioppo per la loro morfologia sono estremamente volatili.

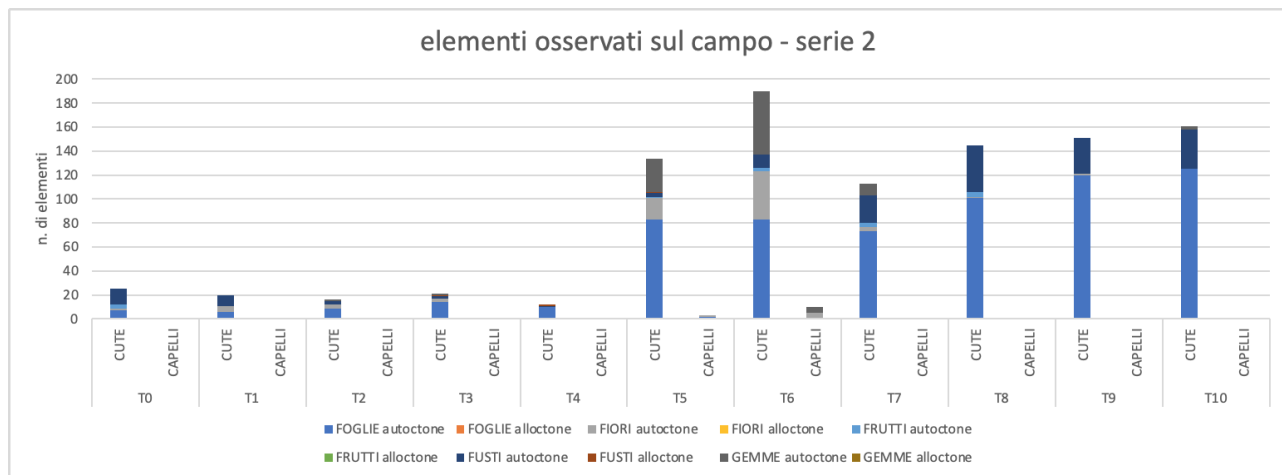


Figura 3.1.25 Istogramma rappresentante i diversi elementi macroscopici trattenuti dalla cute e dai capelli durante la seconda stagione sperimentale

Considerando anche in questo caso l'abbondanza e la varietà di elementi botanici rinvenuti si nota come, anche durante la seconda stagione sperimentale, la cute sia il principale accettore di tracce (Figura 3.1.25).

In generale, tuttavia le tracce in questa serie, risultano poco varie, essendo costituite prevalentemente da foglie, fiori e fusti autoctoni. Unica eccezione alla generale coerenza tra elementi botanici e ambiente di rinvenimento, consiste nella presenza di un numero estremamente ridotto di fusti alloctoni al tempo 3, 4 e 5. Anche in questo caso, come per la serie 1, questi elementi sono riconducibili ad elementi propri dell'ambiente aperto (*Teesdalia nudicaulis*) rinvenuti nell'ambiente chiuso sui campioni sottoposti a spostamento.

Quantitativamente rilevante è la presenza di fiori e altre strutture riconducibili all'inizio della nuova stagione vegetativa come le perule, sulla cute dei campioni al tempo 5 e 6.

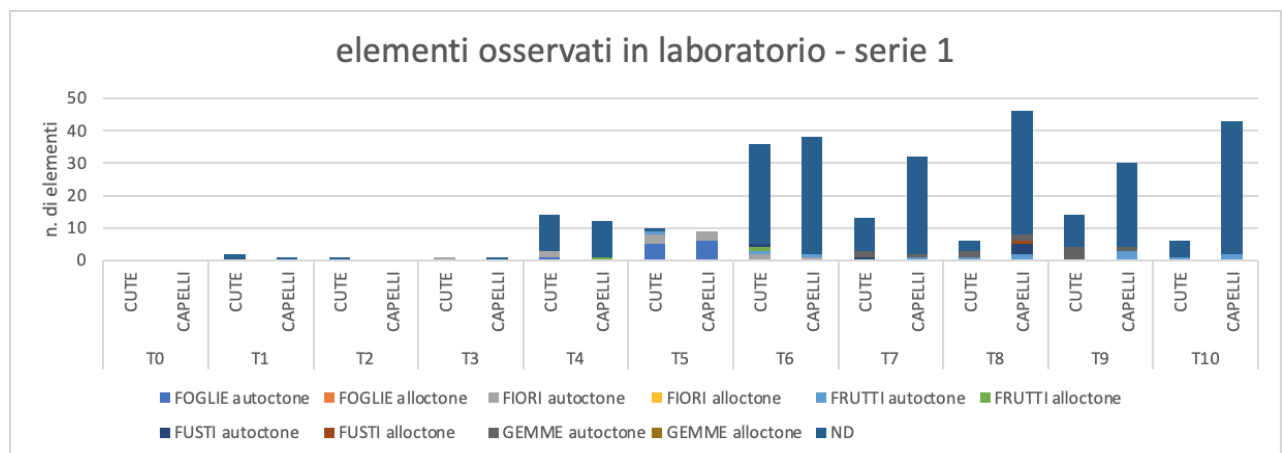


Figura 3.1.26 Istogramma rappresentante i diversi elementi microscopici trattenuti dalla cute e dai capelli durante la prima stagione sperimentale

Osservando la distribuzione di tracce botaniche microscopiche, sui prelievi eseguiti durante la prima serie sperimentale (Figura 3.1.26) è possibile osservare come vi sia una fase iniziale, corrispondente ai primi quattro campionamenti, in cui il particolato è assente o estremamente ridotto e non mostra una distribuzione preferenziale per substrato. A partire dal tempo 4 invece il quantitativo di elementi aumenta notevolmente; esso inoltre sembra collocarsi prevalentemente sulla cute al tempo 4 e 5 per poi invertire la tendenza e permanere prevalentemente sui capelli a partire dal tempo 6. Da un punto

di vista qualitativo la maggior parte degli elementi rientra nella categoria dell'indeterminato, presente su entrambi i substrati a partire dal tempo quattro, vi è poi la categoria dei frutti autoctoni che, pur se con numeri piuttosto bassi, risultano regolarmente presenti a partire dal tempo sei. Le foglie invece abbondano al tempo 5 su entrambi i substrati. Fiori autoctoni sono presenti infine al tempo 4, 5 e 6 prevalentemente sulla cute.

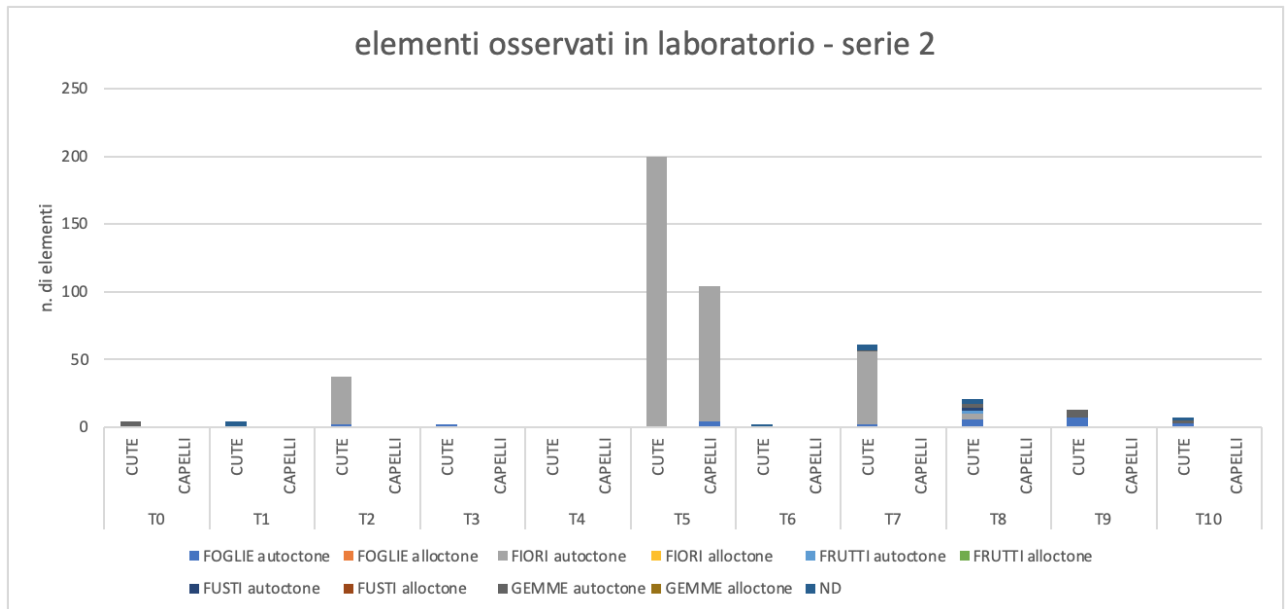


Figura 3.1.27 Istogramma rappresentante i diversi elementi microscopici tratti dalla cute e dai capelli durante la seconda stagione sperimentale

La serie 2 vede una minor variabilità di elementi botanici rinvenuti così come una minor quantità media di elementi per tempo (Figura 3.1.27). Da un punto di vista qualitativo gli elementi rinvenuti sono riconducibili in generale a fiori, porzioni di essi o altre porzioni riferibili all'inizio della stagione vegetativa come gemme e perule ma anche pollini come nel caso dei campioni al tempo 5 e al tempo 7. Per quanto riguarda la distribuzione gli elementi sembrano collocarsi prevalentemente sulla cute.

Analisi qualitativa delle tracce biologiche sul substrato corpo

La visibilità dei fluidi biologici sui due substrati considerati, cute e capelli, è stata valutata in termini di evidenza e circoscrizione della traccia, come descritto in precedenza, nei grafici sottostanti sono riportati gli esiti delle osservazioni sulle due serie sperimentali distinte per fluido e substrato (Figura 3.1.28, 3.1.29).

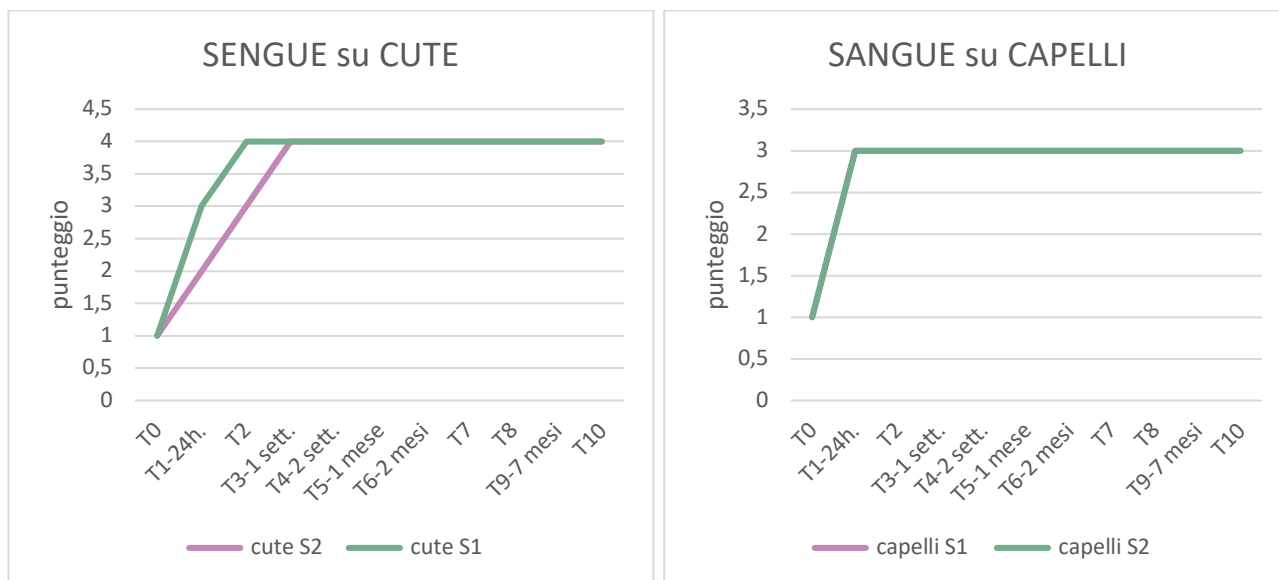


Figura 3.1.28 A sinistra, grafico riportante il punteggio indicante lo stato di conservazione del sangue su cute ai diversi tempi sperimentali nella serie 1 e 2. A destra analogamente sui capelli.

Considerando la visibilità del sangue sulla cute (Figura 3.1.28 sinistra) è possibile osservare come vi sia una leggera discrepanza tra gli esiti, infatti, nella serie 1 il fluido non risultava più visibile a partire dalle 48 ore dalla messa in posizione, nella serie 2 invece esso risultava ancora visibile a 1 settimana dal posizionamento. Per quanto riguarda invece la visibilità del sangue sui capelli (Figura 3.1.28 destra) in entrambe le serie il fluido risulta visibile esclusivamente al tempo zero mentre non più osservabile a partire dal tempo uno.

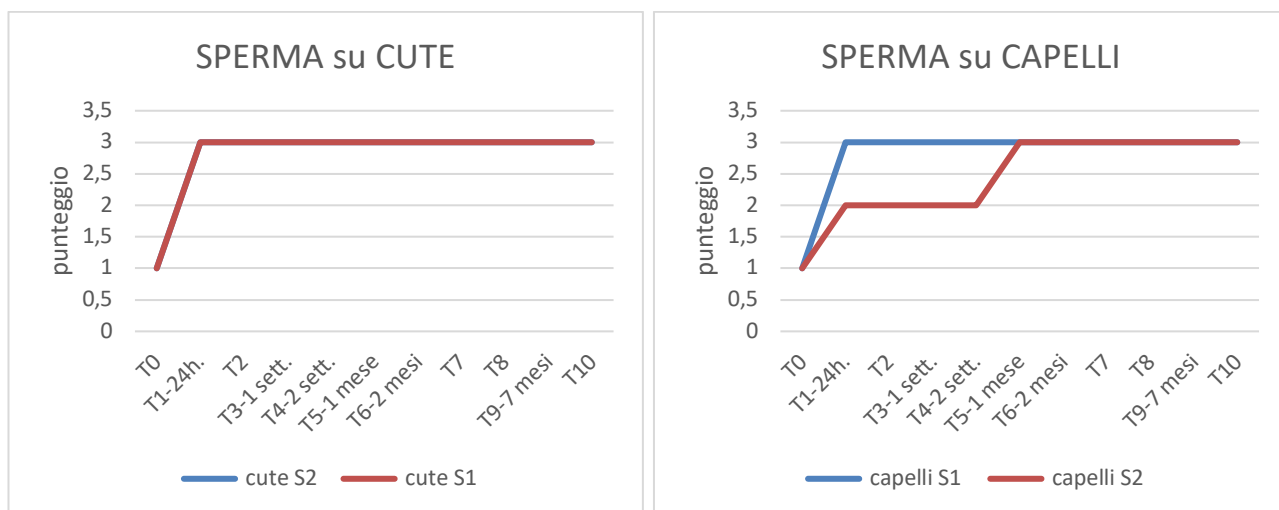


Figura 3.1.29 A sinistra, grafico riportante il punteggio indicante lo stato di conservazione dello sperma su cute ai diversi tempi sperimentali nella serie 1 e 2. A destra analogamente sui capelli.

Per quanto riguarda lo sperma, esso risulta osservabile sulla cute esclusivamente al momento del posizionamento (T0) per poi non essere più visibile dal tempo 1 al termine della sperimentazione (Figura 3.1.29 sinistra). Al contrario, sui capelli il fluido risulta osservabile nella serie 1 esclusivamente al tempo 0 mentre nella serie 2 fino al tempo 5 (1 mese) anche se solo al tempo 0 risulta ben visibile (Figura 3.1.29 destra).

3.1.3 Discussione

Considerazioni in merito alla persistenza dei substrati corporei ai fenomeni conservativi e trasformativi in essi verificatesi.

Considerando il cadavere nella sua interezza, i risultati hanno dimostrato, in accordo con la letteratura, come temperature più basse, soprattutto nei primi intervalli post mortali, rallentino il processo decompositivo. Temperature basse, infatti, da un lato rallentano i fenomeni tanatologici e dall'altro risultano ostili per la maggior parte dell'entomofauna e quindi determinano una minore colonizzazione del cadavere da parte della stessa (Brock et al., 1988; Campobasso et al., 2001; Byers, 2017). Questo è messo bene in evidenza dall'analisi comparata tra l'indice TBS della serie 1 e quello della serie 2 ma sembra anche confermato dalla valutazione dello stato di degradazione della cute, come verrà discusso in seguito. Inoltre, se si osserva l'indice TBS dei campioni focalizzando l'attenzione su quelli sottoposti a spostamento, si osserva come la pur lieve differenza di temperatura sembra essere sufficiente a determinare in primavera, nell'ambiente aperto, più caldo, un'accelerazione dei processi decompositivi con TBS maggiori al tempo 1 e 2, differenza che poi va sparendo ai tempi successivi. Tale differenza non è stata osservata nella serie messa in posto in inverno, coerentemente con la minor differenza di temperatura esistente tra i due siti, giustificabile con l'assenza di copertura vegetale in ambiente boschivo e quindi con la maggior somiglianza vegetazionale dei due ambienti.

Se si considera il differente trend degli otto campioni ne risulta tuttavia che l'omogeneità di posizione e trattamento non sembra sufficiente a determinare un analogo iter decomposizionale; lattonzoli di maiale posti nella medesima gabbia e sottoposti al medesimo trattamento (con o senza apposizione di fluidi biologici) mostravano indici TBS anche piuttosto diversi non di meno rispetto a campioni posti in luoghi leggermente differenti e sottoposti a trattamenti differenti. Questo fatto sembra indicare che altre variabili quali leggere differenze nelle condizioni di partenza in termini di peso e intervallo post mortale possono avere un effetto maggiore rispetto alle condizioni esterne. È stato notato ad esempio come la maggiore o minore quantità di massa grassa sembri influire sul tasso di colonizzazione da parte dell'entomofauna; i campioni con minore massa grassa sembravano più appetibili per gli insetti, in particolare ditteri che, una volta rimosso il tassello di cute per l'analisi in laboratorio, colonizzavano rapidamente la zona dove il tessuto muscolare risultava esposto, ciò accadeva invece in misura molto minore quando la rimozione della cute lasciava esposto il tessuto adiposo.

Per quanto riguarda lo stato di conservazione dei substrati specifici, cute capelli, è possibile osservare che la prima va incontro, nella serie 2, a una degradazione più lenta e meno accentuata rispetto a quanto accade nella serie 1, con il subentrare diffuso di fenomeni conservativi quali la mummificazione; è possibile che, anche in questo caso come per la conservazione generale del lattonzolo, determinante sia la minore attività da parte dell'entomofauna che abbia consentito il subentrare dei fenomeni conservativi che altrimenti non avrebbero avuto tempo di instaurarsi. Il processo conservativo della mummificazione si presenta in questi campioni in modo abbastanza diffuso a partire da T6 nella serie 2 e da T4 nella serie 1; questo tipo di fenomeno è coerente con l'ambiente di persistenza, un ambiente caratterizzato da un basso grado di umidità al suolo dovuto a un substrato estremamente drenante (Galloway et al., 1989). Il subentrare precoce della mummificazione sui campioni della serie 1 può trovare giustificazione nelle temperature più alte tipiche della stagione primaverile ed estiva che hanno caratterizzato i primi mesi di permanenza in

ambiente di questi campioni e nel minor tasso di umidità. Pur essendo tuttavia la mummificazione un fenomeno conservativo, la cute, specialmente in questa serie di campioni, tende ad andare incontro, seppur lentamente, alla completa distruzione, probabilmente ad opera di particolari gruppi di insetti quali i coleotteri che continuano anche se lentamente a nutrirsi (Kadej et al., 2020). Tali insetti, forse presenti in misura minore nella serie 2 per questioni climatiche, consentono in questo caso la migliore conservazione del substrato.

I capelli risultano, dai dati ottenuti, un substrato estremamente persistente che, nella maggior parte dei casi, non mostra alcun tipo di deterioramento quantitativo o qualitativo macroscopicamente visibile nella serie 1, tuttavia la situazione è drasticamente diversa tuttavia nella serie 2, dove essi vanno incontro a una rapida alterazione quantitativa fino alla scomparsa. Questo fenomeno è potrebbe essere attribuibile all'azione di entomofauna, molte falene e coleotteri usano la cheratina come fonte di nutrimento (Allsopp e Seal 1986) ma, data l'assenza di tali evidenze nella stagione calda è possibile ipotizzare anche l'azione di piccoli uccelli che possono usare i capelli come materiale isolante per il nido (Rodriguez, 1997) o altri organismi che vi ricorrono mossi dalle scarse risorse della stagione invernale. La predominanza di tale azione nella stagione due è probabilmente da attribuire a fattori stagionali, quali: minor disponibilità di cibo e necessità di protezione dal freddo.

In rari casi in entrambe le stagioni il substrato va incontro a un'alterazione cromatica dovuta probabilmente ad un deterioramento del pigmento responsabile della colorazione bruno-nera con conseguente prevalere della colorazione bruno-rossiccia (Wilson 2017). Questo fenomeno è ben noto in letteratura come fenomeno connesso con condizioni estreme di pH e lunghi intervalli post mortali, in questo caso è ipotizzabile che condizioni locali e caratteristiche proprie del capello ne siano co responsabili (Christian et al. 2011).

Considerazioni in merito la persistenza e la visibilità macroscopica dei fluidi biologici

Osservando i dati ottenuti dall'osservazione delle tracce biologiche su cute e capelli ne risulta che il sangue permanga visibile più a lungo su un substrato quale la cute, qui infatti il fluido è stato osservato anche dopo una settimana dal posizionamento, sui capelli al contrario il fluido non risultava più macroscopicamente visibile già dopo 24 ore dal posizionamento. La principale causa di questa discrepanza è da attribuire ad una questione cromatica, i capelli scuri rendevano difficoltosa l'osservazione del fluido, al contrario il colore chiaro della cute ne ha permesso la visualizzazione anche quando questo era ormai diluito e diffuso. Situazione opposta si è verificata invece per lo sperma che risultava non più osservabile già al tempo 1 in entrambe le serie su cute mentre è stato osservato fino al tempo 5 (un mese), nella serie 2, sui capelli. In questo caso oltre a una questione cromatica anche la morfologia del substrato è risultata determinante, la struttura della ciocca di capelli ha permesso il persistere di aggregati del fluido che proprio per il loro stato sono risultati visibili a lungo. In linea generale inoltre è possibile osservare come la serie 1 abbia visto una minor persistenza dei fluidi, riferendosi esclusivamente alla loro osservabilità macroscopica, questo fatto può trovare spiegazione nei regimi pluviometrici dell'area; infatti, durante la serie 1, sono caduti circa 35 mm di pioggia nel corso della prima settimana di permanenza dei campioni, al contrario, totalmente assenti sono state le piogge durante analogo periodo della serie 2. Situazione simile per quanto riguarda il primo mese di permanenza dei campioni durante il quale sono caduti circa 94 mm di pioggia nella serie 1 e poco più di 3 nella serie due. Quindi è ragionevole pensare che le piogge cadute anche il giorno stesso della messa in posto dei campioni e il giorno successivo abbiano lavato i fluidi della serie 1 rendendoli da subito poco visibili. Lo sperma in particolare può aver beneficiato maggiormente della scarsità di piogge nel primo periodo della serie 2, infatti, forse a causa della sua maggiore

viscosità, 9,35 +/-0,99 cps (Lin et al. 1992) rispetto ai 3,5 +/-0,05 cps del sangue (Lowe et al. 1997), una volta seccato tende meno facilmente a miscelarsi all'acqua piovana e può quindi persistere più a lungo del sangue, maggiormente idrosolubile.

Purtroppo, ad oggi non è ancora stato possibile portare avanti analisi chimiche immunoistochimiche e biomolecolare sui fluidi di questo filone del progetto di ricerca come invece è stato fatto in un altro progetto che verrà descritto nelle pagine successive. Tale indagine, tuttavia, sono previste per il futuro.

Considerazioni in merito alle tracce botaniche la loro variabilità quali e quantitativa in funzione della stagione e il loro potere informativo in contesto forense

Per quanto riguarda le tracce botaniche è possibile osservare come l'interazione tra il corpo e l'ambiente si concretizzi molto rapidamente, nel corso di massimo 24 ore, in tracce macroscopiche e microscopiche di natura botanica. Tali tracce, che siano esse foglie secche facenti parte della lettiera o materiale vegetale fresco depositatosi sui resti dopo il loro posizionamento, sono in grado fin da subito di dare informazioni sulle caratteristiche ecologiche dell'ambiente di provenienza di un corpo. L'analisi quindi delle tracce botaniche presenti sul corpo sarà in grado tanto di delineare, da un punto di vista ecologico, l'ambiente di provenienza, quanto di evidenziare eventuali incompatibilità. In questo senso i campioni sottoposti a spostamento hanno dimostrato come spesso elementi dell'ambiente di origine persistano nell'ambiente secondario anche per diversi giorni dopo lo spostamento.

Le tracce botaniche inoltre sono in grado di fornire informazioni di tipo temporale consentendo di determinare quello che viene definito il minimo *post mortem interval*; questo dato, ben noto in letteratura, è stato confermato dalle osservazioni dello studio in esame. Sulla maggior parte dei campioni, infatti, sono stati rinvenuti elementi in grado di fornire un dato temporale con risoluzione stagionale o anche sub stagionale, ne sono esempi le foglie della lettiera che naturalmente forniscono informazioni differenti in funzione del fatto che il corpo si trovi sopra o sotto di esse ma anche frutti, fiori, perule, tutti elementi che, qualora determinati, possono fornire un dato temporale preciso grazie alla fenologia delle diverse specie vegetali.

Dati di tipo spaziale e temporale possono essere ottenuti sia dall'approccio macroscopico sul campo sia da quello microscopico in laboratorio, tuttavia, nel secondo caso, il dato risulta spesso più complesso da interpretare e molti elementi sono di difficile determinazione quando frammentati e di piccole dimensioni. Tuttavia questo tipo di approccio permette di implementare del pool di elementi con micro tracce quali i pollini, strumento ampiamente noto in letteratura in gradi di fornire, anche in contesto archeologico, preziosi dati spaziali e temporali (Mildenhall et al., 2006; Montali et al., 2006; Wiltshire et al., 2014). Nel caso di approccio microscopico, tuttavia, l'utilizzo di tecniche aggiuntive quali microscopia elettronica e tecniche biomolecolari, sarebbero suggerite per diminuire il pool di elementi non determinati.

Considerazioni in merito al potere di trattenimento dei substrati: cute e capelli

Considerando quindi il rapporto tra tracce e substrati, alla luce di quanto visto finora emerge come la cute sia il principale substrato accettore di tracce soprattutto nei primi intervalli post mortali. Tuttavia, la relativa deteriorabilità della cute tende a penalizzarla su intervalli post mortali più lunghi, superiori al mese, in favore dei capelli, i quali, pur meno efficaci come trattenitori di tracce, beneficiano di un'elevata persistenza. I capelli, infatti, si sono dimostrati un substrato selettivo nei confronti delle

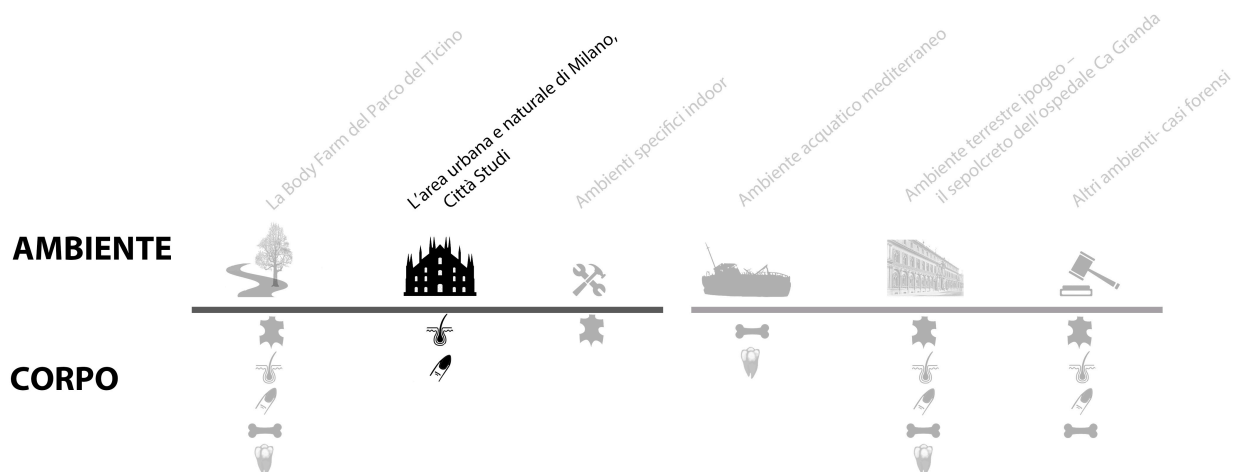
tracce, prediligendo, forse per le loro caratteristiche fisiche, elementi più leggeri e di dimensioni ridotte. Come osservato altresì, tanto la deteriorabilità della cute quanto la persistenza dei capelli possono subire gli effetti della stagione e delle caratteristiche peculiari dell'ambiente; nello studio in esame ad esempio l'ambiente ha favorito il subentrare diffuso di fenomeni conservativi quali la mummificazione che hanno sicuramente esteso la persistenza del substrato, al contrario la fauna ha agito come fattore di degradazione sui capelli in particolare nella stagione invernale e primaverile riducendone la persistenza.

3.2 L'area urbana e naturale di Milano, Città Studi

La seconda linea di ricerca è stata anch'essa condotta in ambienti terrestri epigei noti e controllati, nello specifico in due aree definite come area naturale ed area urbana della città di Milano, zona Città Studi. Quest'indagine a differenza della precedente si è focalizzata su substrati corporei specifici: capelli e unghie.

3.2.1 Persistenza e determinabilità di tracce biologiche umane su capelli posti in ambienti naturali ed antropizzati

Oltre alla specificità del substrato corporeo considerato, i capelli, un altro aspetto differenzia questo filone di ricerca dal precedente, l'ambiente in questo caso non è stato valutato tanto come produttore di tracce quanto come fattore di disturbo. Si è infatti andati a valutare la determinabilità di tracce umane, fluidi biologici, in funzione del tempo e dell'esposizione ad ambienti diversi.



La prima parte di questo filone di ricerca si proponeva di:

- studiare l'interazione dei capelli con l'ambiente in termini di persistenza del substrato in funzione del tempo e del tipo di ambiente
- valutare l'effetto di tempo e ambiente su persistenza e determinabilità dei fluidi biologici
- testare diverse tecniche di analisi dei fluidi individuando un idoneo protocollo per il substrato considerato

Il presente lavoro ha fatto uso di una serie di campioni sperimentali precedentemente realizzati, per testare tecniche di indagine validate, comunemente in uso nei più avanzati protocolli di intervento dei nuclei di investigazioni scientifiche, su un substrato poco studiato quale i capelli.

Il lavoro completo è attualmente disponibile sulla rivista *Science & Justice* al seguente riferimento:

Caccia G, Cappella A, Castoldi E, Marino A, Colloca D, Amadasi A, Caccianiga M, Lago G, Cattaneo C (2021) Blood and sperm traces on human hair. A study on preservation and detection after 3-month outdoor exposure. *Sci. Justice* 61(6):657-666. <https://doi.org/10.1016/j.scijus.2021.08.001>

3.2.1.1 Materiale e metodi

Corpo

Lo studio prevedeva un singolo substrato corporeo, i capelli, e due fluidi biologici, sangue e sperma, come tracce. I capelli sono stati scelti in ragione della loro elevata persistenza, non di rado infatti, risultano essere l'unico substrato di interazione diretta, esposto e in grado di interagire con l'esterno al momento della morte, che si conserva dopo i primi intervalli post mortali. In condizioni favorevoli possono infatti essere sufficienti un paio di settimane per scheletrizzare un corpo (Mann, 1990), i capelli possono quindi trovarsi a costituire l'unico substrato su cui ancora persistono tracce dell'evento criminoso, come appunto fluidi biologici dell'aggressore, nonostante questo spesso i capelli risultano trascurati nella pratica medico legale.

I capelli sono stati ottenuti da un unico donatore: una donna bianca di 29 anni con capelli castano chiaro naturale dopo il lavaggio con shampoo neutro e l'asciugatura con asciugacapelli. I capelli sono stati tagliati con forbici pulite, quindi il campione non includeva le radici ma solo fusto e punta. Dopo la raccolta, essi sono stati conservati in un sacchetto di plastica fino alla preparazione del campione. Il sangue e lo sperma sono stati raccolti dai donatori e conservati in congelatore a 20° C in contenitori sterili fino alla preparazione del campione. Per escludere casi di azoospermia o altre anomalie nella componente cellulare del liquido, prima della sperimentazione, lo sperma è stato analizzato in microscopia ottica (Zeiss AXIO Scope A.1).

Con i capelli raccolti, sono state formate 48 ciocche, ciascuna del peso di 0,1 g (circa 500 capelli); ogni ciocca è stata fissata su un supporto di plastica con un nastro biadesivo. Il supporto di plastica era stato precedentemente suddiviso in quattro settori, che sarebbero state destinate alle diverse analisi. I 48 campioni sono stati così organizzati: sedici (un terzo) sono stati contaminati con sangue, 16 con sperma e l'ultima serie di 16 è stata lasciata incontaminata, come controllo. Il fluido è stato posizionato per mezzo di un pennello a formare quattro tracce su ciascun campione di capelli, una per ogni sezione del supporto di plastica. Al fine di standardizzare la quantità di fluidi biologici su ogni campione, il pennello è stato immerso ogni volta nel contenitore del fluido in modo da evitare diluizioni; è stato stimato che la quantità di fluido per ogni traccia era di circa 100 µl, distribuiti su un'area di forma circolare con un diametro di circa 1 cm. (Figura 3.2.1).

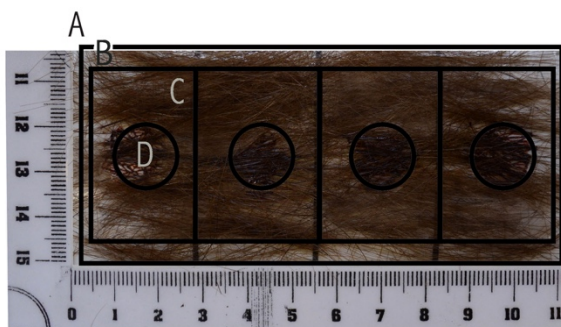


Figura 3.2.1 *Struttura del campione: supporto plastico (A), area adesiva all'interno del supporto plastico a cui aderisce la ciocca di capelli (B), sezione del campione dedicata a una specifica tecnica di analisi (C), fluido (sangue/sperma) apposto (D).*

Ambiente

Due ambienti sono stati selezionati, nell'area milanese ed in particolare nel quartiere Città Studi, come rappresentativi di un tipico ambiente naturale e un tipico ambiente antropizzato della Pianura Padana:

- Ambiente naturale aperto rappresentato da un'area boschiva degradata dell'Orto Botanico Cascina Rosa dell'Università di Milano.

L'orto nel suo complesso è una realtà che si estende su una superficie di 22000 mq, in questo contesto si inserisce l'area adibita all'attività sperimentale in questione, una piccola superficie, circa 400 mq, collocata nell'angolo sud est dell'orto. L'area in questione rispondeva inaspettatamente alle esigenze del progetto, infatti, in un contesto estremamente curato si presentava invece come sostanzialmente incolta e degradata, rispecchiando quindi quello che più frequentemente costituisce il contesto di rinvenimento di resti umani in ambiente naturale: aree boschive degradate dove piante autoctone si mescolano a piante alloctone invasive con presenza di un fitto strato lianoso. In quest'area la vegetazione, già di per sé meno soggetta al controllo da parte del personale tecnico dell'orto, è stata lasciata indisturbata per l'intera durata del progetto.

- Ambiente artificiale aperto (OMME), rappresentato dal tetto di un edificio dell'Università di Milano. L'edificio era situato a nord-est di Milano come l'area precedente, ma, al contrario di questa, si trovava al centro di una rete di strade ed edifici.

- L'ambiente di controllo (CE), utilizzato come controllo "negativo", era rappresentato da una serie di scatole sigillate in grado di mantenere i campioni protetti dalla luce e mantenuto ad una temperatura costante di circa 20 °C, nei laboratori universitari.

In ciascuno dei tre ambienti è stato posto un set di campioni così costituito: cinque campioni di capelli trattati con sangue, cinque trattati con sperma e cinque privi di fluidi biologici. Un campione per ciascuna tipologia è stato analizzato al tempo zero a modi controllo.

Ad eccezione dei tre campioni messi da parte ed esaminati al tempo 0, tutti gli altri sono stati posizionati nei tre ambienti per un massimo di tre mesi (dal 17 agosto 2016 al 18 novembre 2016); durante questo periodo di tempo un set composto da 9 campioni è stato rimosso e analizzato dopo 24 h (Tempo 1,), una settimana (Tempo 2), e al termine del primo, secondo e terzo mese (rispettivamente tempi 3,4 e 5) (Figura 3.2.2).

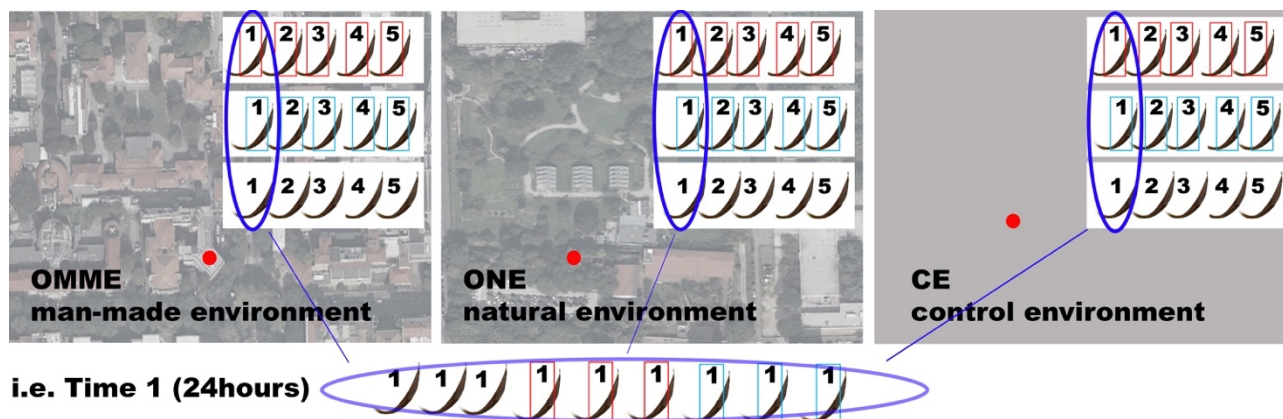


Figura 3.2.2 Schema dei 45 campioni collocati nei diversi ambienti, con l'aggiunta di sangue (campioni con bordo rosso), sperma (campioni con bordo azzurro), e senza l'aggiunta di fluidi biologici (campioni senza bordo). Sotto, un esempio di campionamento al tempo 1 con la raccolta di tre campioni di capelli da ogni ambiente.

Durante tutto l'intervallo della sperimentazione le condizioni ambientali sono state monitorate quotidianamente attraverso le stazioni di ARPA (Agenzia Regionale per la Protezione dell'Ambiente) Lombardia, facendo uso in particolare dei dati di temperatura e piogge della stazione di Milano Lambrate, la più prossima al sito.

Due diagrammi che mostrano l'andamento giornaliero dei parametri considerati sono riportati nelle Figure 3.2.3 e 3.2.4.

I dati indicano che durante i tre mesi della sperimentazione, i campioni sono stati sottoposti a una quantità totale di 125 mm di pioggia e una delta di temperatura di 24 gradi Celsius (media minima di 3 °C e massima di 28 °C).

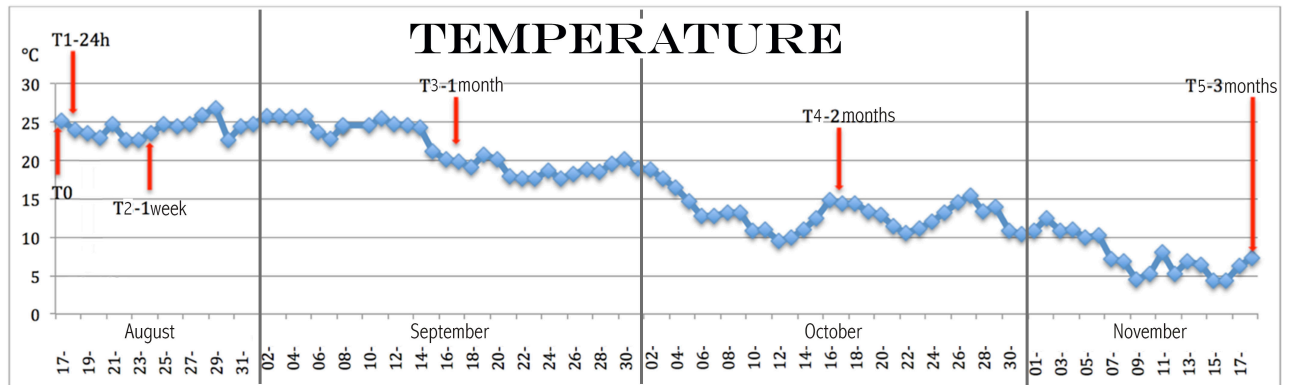


Figura 3.2.3 Grafico della distribuzione giornaliera della temperatura (espressa in gradi Celsius sull'ascissa) durante la sperimentazione (espressa in giorni sulle ordinate), le frecce rosse indicano i diversi tempi di campionamento.

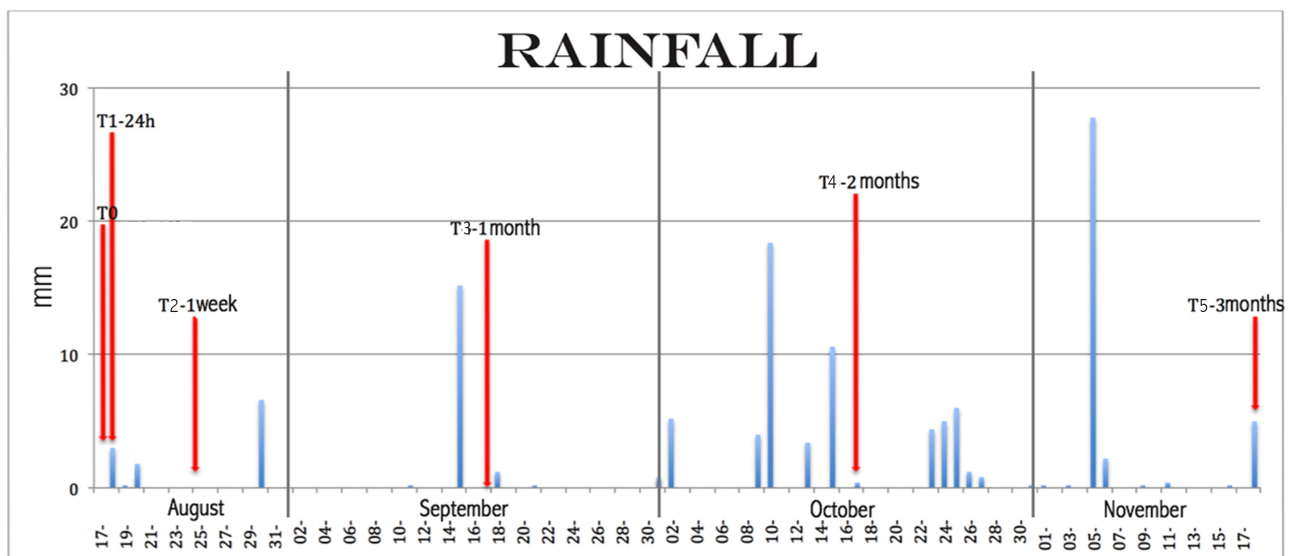


Figura 3.2.4 Grafico della distribuzione giornaliera delle precipitazioni (espressa in millimetri sull'ascissa) durante l'intervallo sperimentale (espressa in giorni sulle ordinate), le frecce rosse indicano i diversi tempi di campionamento.

Tecniche di analisi

I campioni sono stati sottoposti a diversi tipi di analisi in funzione della presenza e della tipologia di fluido biologico. L'analisi condotta sui fluidi è stata un'analisi di tipo tafonomico, essa mirava infatti esclusivamente a valutare lo stato di conservazione dei fluidi stessi, attraverso la loro identificabilità con tecniche comuni, senza ricercare un'associazione tra fluido e donatore ma solo portando avanti un confronto tra lo stato di conservazione del fluido all'inizio e alla fine della sperimentazione.

I campioni con sangue sono stati sottoposti a:

- osservazione macroscopica con luce bianca e osservazione in microscopia episcopica

i campioni sono stati inizialmente osservati in luce bianca per l'individuazione di tracce visibili, durante questa analisi è stato valutato il colore della traccia e la sua distribuzione (limitata o meno alla posizione originale). Successivamente i campioni sono stati osservati a basso ingrandimento (16X) mediante microscopio episcopico (Leica M650 Wild Heerbrugg) valutando i medesimi parametri.

Nel complesso l'esito di questo tipo di analisi è stato descritto come positivo (+) quando il residuo era chiaramente visibile, intermedio (+/-) quando il residuo era poco visibile e negativo (-) quando il residuo non era più visibile.

- *Combur3Test®E (Roche Diagnostics S.p.A., Germania)*

Questo test è stato effettuato nei laboratori del Reparto Investigazioni Scientifiche dei Carabinieri di Parma (RIS). Il test presuntivo Combur è un test commercialmente distribuito per testare la presenza di sangue nelle urine ma è comunemente usato in campo forense (De Vittori et al., 2016). Si basa sulla reazione di ossidazione della tetrametilbenzidina, una molecola in grado di trasformarsi in un composto blu-verde in presenza dell'attività della perossidasi. Nonostante la sua grande sensibilità per il sangue, questo test non è specifico e può fornire falsi positivi in presenza di altre sostanze quali rame, ferro, perossidasi vegetali o animale (Butler et al., 2019). Questo tipo di test è stato eseguito mettendo a contatto la porzione di striscia dedicata all'emoglobina direttamente con il campione e osservando il cambiamento di colore, esso è stato eseguito anche su campioni puliti (cioè senza sangue o sperma) per escludere falsi positivi.

La risposta è stata definita positiva (+) quando lo *stub* ha assunto colorazione blu-verde, o negativa (-) quando non è stato osservato alcun cambiamento di colore.

- *Hexagon OBTI (Human GmbH, Germania)*

Si tratta di un test immunocromatografico, effettuato anch'esso nei laboratori del Reparto Investigazioni Scientifiche dei Carabinieri di Parma (RIS), basato sull'uso di anticorpi monoclonali specifici per l'emoglobina umana. Limitazione da considerare per questo test è il così detto *hook effect*, che si verifica quando una concentrazione di emoglobina troppo alta produce un falso negativo. Falsi positivi possono invece verificarsi con emoglobina di coniglio, primati e tassi: per escludere la possibilità di falsi positivi questo test è stato eseguito anche su campioni puliti (cioè senza sangue o sperma).

Per l'esecuzione un sottocampione di circa 25 mm² di capelli contaminati è stato posto in circa 150 ul di soluzione del kit, la soluzione è stata quindi posta direttamente sul test (Gascho et al., 2017). La risposta è stata definita positiva (+) quando il test ha prodotto sia la barra di controllo, C, che la barra del test, T, negativo (-) quando è apparsa solo la barra di controllo.

- *Test del Luminol*

Si tratta nuovamente di un test chimico basato sulla capacità dell'emoglobina e dei suoi derivati presenti nel sangue di favorire l'ossidazione della soluzione madre Luminol in presenza di una soluzione alcalina. Si esegue spruzzando direttamente l'area con una soluzione acquosa di Luminol e una soluzione ossidante. La soluzione di Luminol (Sigma-Aldrich®) è stata preparata in accordo con Weber et al. (1966). Anche questo test è stato eseguito sia su campioni con sangue che su campioni puliti (cioè senza sangue o sperma) per escludere falsi positivi, ad esempio dovuti a contaminanti ambientali (perossidasi vegetali e composti di ferro o composti di rame) (Quickenden e Creamer 2001).

L'intensità della risposta è stata classificata in quattro categorie: nessuna chemiluminescenza (-), chemiluminescenza debole (+), chemiluminescenza chiara (++) e chemiluminescenza forte (+++), secondo il protocollo descritto da Caudullo e colleghi (2017).

I campioni con sperma sono stati sottoposti a:

- *Osservazione macroscopica dei campioni con luce bianca e con luci forensi (lampada Crime-lite®)*

I campioni sono stati osservati ad occhio nudo e con luce bianca ma anche con una particolare lampada che sfrutta due lunghezze d'onda: 420-470 nm con filtro 495 e 395-425 nm con filtro 455.

Quest'ultimo esame è stato effettuato nei laboratori del Reparto Investigazioni Scientifiche dei Carabinieri di Parma (RIS). Come sempre il test è stato eseguito anche su campioni puliti (cioè senza sangue o sperma) per escludere falsi positivi.

La risposta è stata definita positiva (+) quando il residuo era chiaramente visibile, intermedia (+/-) quando il residuo era poco visibile e negativo (-) quando il residuo non era più visibile.

- *Seratec PSA Semiquant*

Si tratta di un test immunocromatografico per l'identificazione dell'antigene prostatico specifico (PSA) umano, effettuato nei laboratori del Reparto Investigazioni Scientifiche dei Carabinieri di Parma (RIS); questo test può essere utilizzato come marcatore del liquido seminale e ha il vantaggio, in contesto forense, di non essere inficiato nella sua efficacia da condizioni di azoospermia. Questo test, tuttavia, può dare falsi positivi con campioni di fluidi vaginali anche in assenza di sperma e con alcune schiume contraccettive. Il test è stato eseguito anche su campioni puliti (cioè senza sangue o sperma) per escludere falsi positivi (Kishbaugh et al., 2019).

Questa tecnica è stata eseguita su un sotto campione di capelli contaminati secondo il protocollo precedentemente descritto per l'OBTI test.

La risposta è stata definita positiva (+) quando, a contatto con la soluzione, sono comparse sia la linea di controllo (C) che la linea del test (T), negativa (-) quando è apparsa soltanto solo la barra C di controllo.

- *Osservazione della componente cellulare*

Ricerca ed analisi microscopica delle cellule spermatiche in microscopia ottica (Zeiss AXIO Scope A.1) a 200 ingrandimenti. Il test è stato realizzato eluendo il fluido presente sul campione in 10 ml di acqua distillata, la soluzione è stata utilizzata per la realizzazione di un preparato istologico che è stato poi colorato con ematossilina-eosina per facilitare l'osservazione della componente cellulare.

L'esito è stato valutato come: positivo (+) quando le cellule spermatiche apparivano numerose (più di 15 per campo) o anche rare (meno di 15 per campo visivo), ma morfologicamente ben definite e intatte (con code attaccate), intermedio (+/-) quando gli spermatozoi erano rari, spesso morfologicamente non ben definiti e non integri (con code staccate), negativo (-) quando non erano visibili spermatozoi integri.

- *Sperm-HY-Liter™ Express*

Tecnica ibrida, morfologica e immunoistochimica, realizzata nei laboratori del Reparto Investigazioni Scientifiche dei Carabinieri di Parma (RIS). Questa tecnica è finalizzata all'identificazione microscopica della cellula spermatica umana attraverso l'utilizzo di un anticorpo monoclonale anti-

sperma umano. La combinazione di una tecnica immunologica e una tecnica morfologica rende l'analisi estremamente specifica.

Questa tecnica è stata eseguita ponendo un sotto campione di ca. 25 mm² di capelli contaminati in una soluzione che è stata poi posta sull'apposito vetrino e trattata in accordo con il protocollo del produttore (Takamura et al., 2016).

La risposta è stata definita con un sistema di punteggio binario di presenza/assenza ("+" uno o più cellule spermatiche, " " nessuna cellula spermatica) (Westring et al., 2014).

Tutti i campioni con fluidi biologici sono stati poi sottoposti ad analisi biomolecolari: Il DNA è stato estratto con il kit EZ1 Investigator (Qiagen, Germania), quantificato con il Quantifiler Trio DNA Quantification Kit (Thermo Fisher Scientific), e amplificato con PowerPlex® Fusion System (Promega, Wisconsin). I campioni amplificati sono stati sequenziati con sequenziatore 3130xl o 3500xl e i dati ottenuti sono stati analizzati utilizzando il software GeneMapper IDX v.1.4. Sono state utilizzate le soglie analitiche e stocastiche di 165 e 300 per il sequenziatore 3130xl e 305 e 605 per il sequenziatore 3500xl. Estrazioni, quantificazioni, amplificazione PCR e sequenziamento sono state eseguite secondo il protocollo delle fabbriche.

I risultati sono stati definiti come positivi (+) per profili completi e parziali o negativi (-) quando non è stato ottenuto alcun profilo. La definizione di profilo parziale prevedeva tra i 10 e i 21 su 22 loci autosomici correttamente caratterizzati (per confronto con il campione di riferimento di sangue e sperma dei donatori) con un approccio di *consensus* delle tre repliche di PCR (vedi tab. 2a e 2b per i dettagli). Non sono stati osservati profili misti, cosicché l'eventuale contaminazione da parte del donatore dei capelli ha potuto essere esclusa. L'indice di degradazione, ottenuto dal kit Quantifiler Trio Real-Time PCR è riportato in tabella 2a e 2b insieme al resto dell'esito.

Tutte le operazioni di controllo, le osservazioni, i test presuntivi e di conferma sono stati eseguiti da almeno due operatori. I risultati sono stati registrati dopo una perizia concordante.

Per riassumere, tutte le tecniche analitiche applicate ad ogni tipo di campione sono riportate nella tabella sottostante (Figura 3.2.5).

Campioni con SANGUE	Campioni con SPERMA
Osservazione macroscopica/Microscopio episcopico	Osservazione macroscopica con luce bianca e con lampada <i>Crime-lite</i> ® - Osservazione con microscopio episcopico
Combur3Test®E	Osservazione della componente cellulare
Luminol test	Seratec PSA Semiquant
Hexagon OBTI	Sperm-HY-Liter™ Express
Analisi biomolecolare	Analisi biomolecolare

Figura 3.2.5 Tabella riassuntiva delle tecniche applicate su ciascuno per la determinazione dei due fluidi in esame

3.2.1.2 Risultati

I capelli si sono conservati pressoché invariati per tutta la durata della sperimentazione senza mostrare significative variazioni quantitative o qualitative.

Di seguito si riportano quindi risultati delle analisi eseguite sui due fluidi biologici con le diverse tecniche sopra elencate.

Campioni con sangue

Ambiente di controllo

Le tracce di sangue sui campioni di controllo, conservati quindi in ambiente protetto, si sono mostrate ben visibili anche a occhio nudo e spazialmente circoscritte alla posizione originale per tutto l'intervallo sperimentale. Solo il colore della traccia ha mostrato alcune variazioni passando dal rosso vivo al tempo 0 al rosso scuro -marrone dopo 24 h (Tempo 1), colore che poi è rimasto inalterato fino alla fine della sperimentazione.

Per quanto riguarda Combur Test e OBTI Test, essi hanno sempre dato una risposta positiva, al contempo, nessuna positività è stata osservata sui campioni privi di sangue.

Il test Luminol ha dato come esito una forte positività (+++) a tutti i tempi sperimentali ad eccezione del tempo 4 (2 mesi) in cui la risposta è stata ad ogni modo quella definita una chemiluminescenza chiara (++) . Una risposta positiva, costituita da un singolo punto di chemiluminescenza, è stata osservata su campioni privi di sangue al tempo 3 (un mese).

Per quanto riguarda l'analisi biomolecolare, era atteso, dato l'ambiente controllato, che la degradazione del fluido in questo set di campioni fosse trascurabile ed effettivamente l'esito ha confermato l'atteso, il profilo STR è risultato completo su tutti i campioni, la resa è stata superiore a 1000 Large Probe-picogrammi per microlitro per l'intero intervallo sperimentale e l'indice di degradazione sempre intorno a 1.

Ambiente antropizzato

Da un punto di vista macroscopico, le tracce di sangue in ambiente antropizzato, dopo 24 ore (Tempo 1), apparivano diffuse e non più circoscritte all'area originale, tuttavia pur se alterate nella disposizione, persistevano macroscopicamente visibili fino alla fine del secondo mese (Tempo 4). Il colore appariva sempre rosso scuro-marrone quando visibile.

Combur e OBTI Test hanno sempre fornito risultati positivi mentre nessun falso positivo è stato osservato su campioni puliti. Il test Luminol ha sempre fornito risposta positiva, con intensità più (+++) o meno forte (++) senza che fosse identificabile una particolare tendenza; al tempo 5 (3 mesi), tuttavia è stata registrata una debole positività (+). Sui campioni privi di fluido sono stati registrati casi di positività consistenti in punti di positività localizzata sul campione.

Per quanto riguarda l'analisi biomolecolare, l'indice di degradazione ha mostrato un progressivo aumento durante la sperimentazione fino a due mesi (Tempo 4); a 3 mesi (Tempo 5) questo indice non è stato rilevato. Il profilo STR, coerentemente con l'indice di degradazione, ha mostrato un profilo completo dopo 24 h (Tempo 1), un profilo parziale dopo una settimana (Tempo 2), un mese (Tempo 3) e due mesi (Tempo 4), e un profilo negativo al termine della sperimentazione (Tempo 5). Come accennato, al termine dei tre mesi l'indice di degradazione ha fornito come esito N/A, dicitura che fa riferimento alla non disponibilità dell'esito a causa del fallimento dell'amplificazione della sonda ad alto peso molecolare, fatto probabilmente legato a una minore sensibilità del test di degradazione rispetto al profilo STR.

Ambiente naturale

Ad osservazione macroscopica, la traccia è apparsa chiaramente visibile e ancora circoscritta all'area originale di apposizione dopo 24 ore (Tempo 1), nei tempi sperimentali successivi e poi fino a un mese (Tempo 3) essa appariva diffusa e difficilmente identificabile, infine dopo due mesi (Tempi 4 e 5) la traccia non risultava più visibile. Il colore è risultato sempre rosso scuro-marrone quando visibile.

Combur Test e l'OBTI Test hanno sempre fornito esito positivo con una sola eccezione, un risultato negativo per l'OBTI Test al tempo 4 (2 mesi). Non sono stati osservati invece falsi positivi su campioni privi di fluido. Il Test Luminol ha mostrato intensità decrescente nella risposta che tuttavia è rimasta positiva per tutta la sperimentazione: positività forte (+++) fino a una settimana (Tempo 2) e positività debole (+) a partire da un mese (Tempo 3) fino alla fine della sperimentazione.

Infine, l'analisi biomolecolare ha mostrato una degradazione crescente con un picco dopo una settimana (Tempo 2), dopo un mese l'esito non risultava più disponibile a causa del fallimento della sonda ad alto peso molecolare. Gli ultimi due tempi sperimentali mostrano invece una diminuzione dell'indice di degradazione. In accordo con questo indice, il profilo STR è risultato completo dopo 24 ore (Tempo 1), negativo da una settimana (Tempo 2) a due mesi (tempo 4), e parziale dopo tre mesi (tempo 5).

Tutti i risultati sono riassunti nella tabella sottostante (Figura 3.2.6).

SANGUE															
TEMPO	1			2			3			4			5		
AMBIENTE	CONTROLLO	ANTROPIZZATO	NATURALE	CONTROLLO	ANTROPIZZATO	NATURALE	CONTROLLO	ANTROPIZZATO	NATURALE	CONTROLLO	ANTROPIZZATO	NATURALE	CONTROLLO	ANTROPIZZATO	NATURALE
<i>Osservazione macroscopica/microscopio episcopico</i>	+	+	+	+	+	+/-	+	+	+/-	+	+	-	+	-	-
Combur3Test®E	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Hexagon OBTI	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+
Test Luminol	+	++	+++	+	+++	+++	+	++	+	+	++	+	+	+	+
<i>Quantificazione (Human DNA Large Probe- pg/ul)</i>	3178	766	749	1423 0	2448	39	2709	3688	6	1165	52	7	1981	195	235
<i>Indice di degradazione</i>	1,075	1,3 42	2,108	1,169	2,308	61,06 4	0,933	2,559	N/A	1,017	10,23 7	18,43 6	1,001	N/A	12,16 7
<i>n. di loci sul totale</i>	22/22	22/ 22	22/2 2	22/22	17/2 2	4/22	22/2 2	18/2 2	0/2 2	22/2 2	13/22	0/22	22/2 2	8/2 2	10/22
esito	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	-	+

Figura 3.2.6 Tabella riassuntiva degli esiti delle analisi realizzate sui campioni con sangue

Campioni con sperma

Ambiente di controllo

In ambiente di controllo i campioni presentavano tracce sempre macroscopicamente visibili e circoscritte alla posizione originale, il fluido appariva incolore e brillante al tempo 0, per poi mutare in opalescente dopo 24 ore (Tempo 1) e rimanere tale fino alla fine della sperimentazione.

L'osservazione delle macchie con la lampada Crimescope a lunghezze d'onda 420-470 nm e filtro 495 nm non ha mostrato alcuna traccia di interesse fino al tempo 2 (una settimana) quando è stato registrato il primo risultato positivo, dopodiché la luminescenza è rimasta visibile fino alla fine della sperimentazione. L'osservazione con la medesima lampada a lunghezza d'onda 395-425 e filtro 455 ha mostrato un andamento simile: nessuna risposta da parte della traccia fino a un mese (Tempo 3) seguita da risposta positiva a due e tre mesi (Tempo 4 e 5). Nessuna luminescenza è stata osservata sui campioni privi di fluido.

Il test PSA invece ha fornito sempre risposta positiva; nessun falso positivo è stato rilevato sui campioni puliti.

Considerando poi le tecniche di microscopia ed in particolare l'osservazione classica con ematossilina ed eosina, gli spermatozoi sono apparsi ben definiti, numerosi e integri per tutta la durata della sperimentazione; tuttavia, si è notato come, se nel primo periodo risultavano prevalenti le cellule isolate, in seguito gli spermatozoi apparivano frequentemente aggregati e inclusi in materiale eosinofilo (materiale amorfo con colorazione rosa).

Con la tecnica Sperm-HY-LiterTM Express, gli spermatozoi apparivano, a tutti i tempi sperimentali, sia aggregati che isolati, integri e ben definiti, solo ad una settimana (Tempo 2) la situazione appariva diversa (con prevalenza di cellule aggregate a morfologia poco definita con code non ben visibili).

Considerando poi l'analisi biomolecolare tutti i profili STR sono risultati completi, come atteso; tuttavia, il test di degradazione ha sempre mostrato un DNA leggermente degradato, con valori compresi tra 0,6 e 0,8 e resa tra 160 e 1000 Large Probe- picogrammi per microlitro.

Ambiente antropizzato

In ambiente antropizzato le tracce sono apparse macroscopicamente visibili e limitate alla posizione originale dopo 24 ore (Tempo 1), ancora visibili anche se meno evidenti e non più circoscritte alla localizzazione originale fino a un mese (Tempo 2, 3), ed infine non più visibili dopo due (Tempo 4) e tre mesi (Tempo 5); quando visibili, le tracce apparivano sempre incolori e opalescenti.

L'utilizzo della lampada Crimescope a lunghezze d'onda 420-470 nm e filtro 495 nm ha evidenziato, dopo 24 h (Tempo 1), un piccolo grumo di materiale opaco che inglobava i capelli, nei tempi sperimentali successivi invece nessuna traccia è stata evidenziata. Utilizzando invece la medesima lampada con lunghezza d'onda 395-425 nm e filtro 455 nm non è stata registrata alcuna risposta da parte del fluido. Nessuna luminescenza è stata trovata sui campioni privi di fluido.

Il test PSA ha fornito esito positivo fino a una settimana (Tempo 2) e negativo dal termine del primo mese fino alla fine della sperimentazione. Il test su campioni privi di fluido ha dato sempre esito negativo.

Considerando poi l'analisi in microscopia, l'osservazione del campione colorato con ematossilina e eosina ha evidenziato spermatozoi multipli, isolati, ben definiti e integri dopo 24 ore (Tempo 1), nei tempi sperimentali successivi il numero di spermatozoi è diminuito e la loro integrità si è andata riducendo cosicché, una settimana dopo l'inizio della sperimentazione (Tempo 2), essi apparivano rari e aggregati ma ancora ben definiti e integri, mentre dopo un mese (Tempo 3) gli spermatozoi apparivano spesso non ben definiti e non più integri. Dopo due mesi (Tempo 4), la contaminazione ambientale appariva significativa (strutture cristalline e aggregate di colore variabile dal giallo al marrone) complicando l'identificazione delle cellule spermatiche, a questo tempo sperimentale nessuna cellula integra è stata identificata, situazione analoga a tre mesi (Tempo 5).

La tecnica Sperm-HY-LiterTM Express ha evidenziato, dopo 24 ore (Tempo 1), molteplici cellule spermatiche, ben definite, sia isolate che aggregate; dopo una settimana (Tempo 2) la quantità di cellule appariva drasticamente ridotta ma gli spermatozoi erano ancora visibili, dopo un mese (Tempo 3) gli spermatozoi erano rari e aggregati in una singola area, mentre dopo due mesi (Tempo 4) e al termine della sperimentazione non sono stati rilevati spermatozoi.

Passando infine all'analisi biomolecolare, l'indice di degradazione è andato aumentando costantemente lungo l'intervallo sperimentale, (dopo tre mesi (Tempo 5) il risultato non era disponibile a causa del fallimento totale della sonda ad alto peso molecolare amplificazione), il profilo STR, in accordo con il tasso di degradazione, appariva completo dopo 24 ore (Tempo 1), parziale dopo una settimana (Tempo 2) e negativo per il restante intervallo sperimentale.

Ambiente naturale

Macroscopicamente, le tracce sono apparse visibili e circoscritte alla posizione originale dopo 24 ore (Tempo 1), meno visibili e diffuse dopo una settimana (Tempo 2) e un mese (Tempo 3) mentre apparivano non più visibili dopo due mesi (Tempo 4) e fino alla fine della sperimentazione. La traccia è apparsa sempre incolore e opalescente quando visibile.

L'osservazione con lampada Crimescope a lunghezze d'onda 420-470 nm e filtro 495 nm ha mostrato macchie diffuse dopo 24 h e una settimana (Tempo 1 e 2), nei tempi successivi invece nessuna traccia è stata evidenziata. L'analisi con la medesima lampada a lunghezza d'onda 395-425 nm e filtro 455 nm non ha mostrato alcuna traccia di interesse. Nessuna luminescenza è stata evidenziata sui campioni privi di fluido.

Il test PSA ha avuto esito positivo fino a una settimana (Tempo 2) e negativo fino alla fine della sperimentazione, il test su campioni privi di fluido ha dato sempre esito negativo.

Per quanto riguarda le tecniche di analisi in microscopia, l'analisi mediante colorazione con ematossilina ed eosina ha evidenziato cellule spermatiche multiple, isolate, ben definite e integre dopo 24 ore (Tempo 1), al tempo sperimentale successivo (Tempo 2) è stato osservato un calo nel numero di cellule. Dopo un mese (Tempo 3) inoltre gli spermatozoi apparivano non sempre ben conservati, e la contaminazione ambientale (strutture cristalline e aggregati di colore dal giallo al marrone) appariva evidente. Dopo due mesi (Tempo 4) le cellule apparivano estremamente rare, non erano più rilevabili cellule integre e i presunti spermatozoi apparivano esclusivamente aggregati come così come dopo tre mesi (Tempo 5).

La tecnica Sperm-HY-LiterTM Express ha evidenziato una bassa quantità di fluido dopo 24 ore (Tempo 1), tuttavia le cellule spermatiche presenti apparivano ben definite e integre, isolate o aggregate. Dopo una settimana (Tempo 2) invece solo rare cellule isolate erano visibili, mentre dopo un mese (Tempo 3) gli spermatozoi si presentavano esclusivamente aggregati, non ben visibili e non integri, infatti solo le teste erano rilevabili. Dopo due mesi (Tempo 4) è stata osservata l'ultima cellula spermatica, nessun spermatozoo è stato infatti individuato dopo 3 mesi (tempo 5).

Passando infine all'analisi biomolecolare, l'indice di degradazione mostrava un andamento oscillatorio, il profilo STR risultava completo fino a una settimana (Tempo 1, 2) e poi parziale fino alla fine della sperimentazione.

Tutti i risultati sono riassunti nella tabella sottostante (Figura 3.2.7).

SPERMA															
TEMPO	1			2			3			4			5		
AMBIENTE	CONTROLLO	ANTROPIZZATO	NATURALE	CONTROLLO	ANTROPIZZATO	NATURALE	CONTROLLO	ANTROPIZZATO	NATURALE	CONTROLLO	ANTROPIZZATO	NATURALE	CONTROLLO	ANTROPIZZATO	NATURALE
<i>Osservazione macroscopica/microscopi o episcopico</i>	+	+	+	+	+/-	+/-	+	+/-	+/-	+	-	-	+	-	-
<i>Crimescope 420-470 λ, filtro 495</i>	-	+	+/-	-	-	+/-	+	-	-	+	-	-	+	-	-
<i>Crimescope 395-425 λ, filtro 455</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-
<i>Seratec PSA Semiquant</i>	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	+	-	-
<i>Osservazione della componente cellulare</i>	+	+	+	+	+	+	+	+/-	+/-	+	-	-	+	-	-
<i>Sperm-HY-Liter™ Express</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-
<i>Quantificazione (Human DNA Large Probe-pg/μl)</i>	166	203	56	270	853	451	280	22	164	1000	2	143	260	0	70
<i>Indice di degradazione</i>	0,73 8	1,06 9	1,73 6	0,84 5	1,98 3	1,70 3	0,58 1	10,18 9	0,16 1	0,76 5	14,25 6	3,87 8	0,84 8	N/A	2,67 3
<i>n. di loci sul totale</i>	22/2 2	22/2 2	22/2 2	22/2 2	21/2 2	22/2 2	22/2 2	3/22	21/2 2	22/2 2	0/22	20/2 2	22/2 2	0/2 2	16/2 2
<i>esito</i>	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+

Figura 3.2.7 Tabella riassuntiva degli esiti delle analisi realizzate sui campioni con sperma

3.2.1.3 Discussioni

Le analisi condotte su campioni di capelli contaminati con sangue e sperma hanno confermato la persistenza dei capelli che infatti sono apparsi macroscopicamente inalterati per tutto l'intervallo sperimentale; essi possono quindi fungere da substrato per tracce di varia natura quali quelle biologiche. Le tracce di sangue e sperma, d'altro canto hanno dimostrato di essere identificabili attraverso diverse tecniche anche dopo 3 mesi. Tuttavia, è stato altresì osservato che, con l'aumentare del tempo di esposizione in ambiente aperto, la rilevabilità delle tracce diminuisce; al contrario, la durata del tempo trascorso in un ambiente controllato non sembra influenzare le caratteristiche strutturali del fluido e quindi inficiarne l'identificabilità.

Efficacia di diverse tecniche di identificazione del sangue su campioni di capelli

Considerando l'esito delle diverse tecniche applicate sui campioni contaminati con sangue ne risulta che l'osservazione macroscopica può costituire un utile strumento per la prima valutazione; tuttavia, l'assenza di una traccia macroscopicamente visibile non deve essere considerata indice di assenza o non determinabilità della traccia stessa, infatti, profili STR parziali sono risultati anche da tracce non macroscopicamente visibili.

Il test del Luminol ha fornito sempre risposta positiva, in accordo con l'alta sensibilità della tecnica anche su campioni potenzialmente alterati da molteplici fattori ambientali, come già affermato in letteratura nei lavori di Waldoch (1996), Gabel (2011) e Stene (2013). Tuttavia, all'aumentare del tempo di esposizione in ambienti aperti, la risposta, pur se positiva, risultava meno intensa, fatto che

può essere correlato alla crescente quantità di pioggia a cui sono stati sottoposti i campioni e quindi al tasso crescente di diluizione del fluido (Barni et al., 2007). I falsi positivi osservati, principalmente in ambiente antropizzato, risultavano morfologicamente ben distinguibili dal vero risultato positivo dato dal sangue e potrebbero essere attribuiti a contaminanti ambientali, in particolare alla verificata presenza di ferro nell'ambiente (componente della pavimentazione identificato mediante analisi SEM-EDX).

Il test del Luminol può annoverare molteplici pregi come test di screening, infatti, oltre all'alta sensibilità, esso non è pericoloso come altri reagenti (Castell'ò et al., 2002) e soprattutto può essere diffuso su un'ampia superficie anche non necessariamente piatta, mediante spray, risultando quindi perfetto per un substrato quale i capelli.

Combur e OBTI Test risultano entrambi efficaci ed estremamente sensibili, tuttavia, mentre il Combur Test non è specifico per il sangue umano, l'OBTI test ha un'alta sensibilità per il sangue umano anche su materiale invecchiato o degradato (Spalding, 2003) e anche se sono possibili alcuni rari falsi positivi e falsi negativi, il suo esito positivo ha un valore probatorio importante (Gascho et al., 2017; Johnston et al., 2008). Quindi, questa tecnica potrebbe essere sfruttata quale seconda fase di indagine da eseguirsi su un'area specifica individuata attraverso lo screening del Luminol per ottenere una diagnosi di sangue umano.

L'analisi biomolecolare infine sembra subire pesantemente l'effetto negativo dell'esposizione all'ambiente aperto, se infatti in ambiente di controllo essa risultava sempre efficace, in ambiente aperto l'esito del test è apparso imprevedibile (profilo negativo dopo una settimana e parziale dopo tre mesi). Tuttavia, considerando le variabili dell'ambiente aperto, il profilo negativo ottenuto con questo tipo di indagine può essere imputato a condizioni di umidità o di pioggia che hanno impedito alla traccia di asciugarsi e di proteggersi dall'effetto dannoso dell'idrolisi, inficiando l'esito del test (Lindahl, 1993; Burger et al., 1999; Hall e Ballantyne, 2004; Gates, 2009).

Efficacia di diverse tecniche di identificazione dello sperma su campioni di capelli

Osservando l'efficacia delle diverse tecniche applicate sui campioni contaminati con sperma e provenienti da ambienti aperti, è emerso che l'osservazione macroscopica sia scarsamente informativa a causa delle caratteristiche intrinseche del fluido. In questo contesto le luci forensi potrebbero essere uno strumento utile per un primo screening, lo sperma secco non trattato è infatti notoriamente un substrato in grado di generare forte fotoluminescenza (Wee-Chuen e Bee-Ee 2010); tuttavia, nella nostra esperienza, queste luci si sono dimostrate inefficaci. L'efficacia di questa tecnica, tuttavia, come già riportato in letteratura, è strettamente legata al substrato; è noto, infatti, che alcuni materiali di colore scuro, altamente assorbenti, o che mostrano una forte fluorescenza quando esposti alle luci, tendano a mascherare la traccia (Wee-Chuen e Bee-Ee 2010; Sterzik et al., 2016). Nel presente caso, il supporto plastico del campione, essenziale per mantenere la struttura dello stesso, ha risposto alle luci generando una forte luminescenza che ha mascherato la traccia; i capelli, invece, a causa della loro natura estremamente idrofila (Velasco et al., 2009), hanno assorbito il fluido producendo una luminescenza diffusa che ne ha reso difficile l'individuazione. Ulteriori studi dovrebbero essere portati avanti per valutare la reale utilizzabilità delle luci forensi come test di screening su capelli, ad esempio strutturando diversamente il campione in modo da eliminare il fattore di disturbo costituito dalla base di plastica.

Il test per l'antigene prostatico specifico, test PSA, è uno dei test più comuni per l'individuazione di macchie di sperma, e la sua notorietà è dovuta anche al fatto di non necessitare di cellule spermatiche per identificare il fluido. Nel presente studio l'efficacia del test è stata confermata dai campioni di

controllo; tuttavia, esso è risultato efficace solo fino ad una settimana, sui campioni di ambiente aperto; questo risultato è in accordo con il lavoro di Marangoni (2003) e Srettabunjong (2005) che hanno dimostrato l'influenza negativa delle alte temperature e dell'umidità sull'efficacia di questo strumento. La proteina PSA, infatti, può venir denaturata da agenti come l'elevata temperatura, l'umidità, ma anche il pH, i detergenti, la contaminazione batterica e l'azione degli enzimi proteolitici (Srettabunjong et al., 2005).

La temperatura media registrata in ambiente aperto nei primi 7 giorni della sperimentazione è stata di circa 24 °C, un valore che, in accordo con la letteratura, non sembra consentire la determinazione del fluido per più di 7 giorni (Srettabunjong et al., 2005). Inoltre, i due ambienti aperti hanno subito diversi giorni di pioggia durante la prima settimana (Fig. 2), non permettendo alla traccia di asciugarsi. L'ambiente di controllo ha invece garantito alle tracce una temperatura costante e di qualche grado inferiore rispetto ai due ambienti aperti e l'assenza di acqua, condizioni che hanno portato a risultati positivi con questo test fino a 3 mesi, in accordo con Stubbing e Newall (1985) e Hochmeister et al. (1999).

Da un punto di vista morfologico, la tecnica Sperm-HY-Liter™ Express ha mostrato risultati simili a quelli ottenuti con l'osservazione della colorazione con ematosilina ed eosina; con entrambe le tecniche l'esposizione alle condizioni atmosferiche hanno costituito un significativo fattore di disturbo a partire da una settimana (un aumento delle cellule non ben definite e non integre), tale effetto si è acuito con il tempo fino a quando, a partire da due mesi, non sono state più visibili cellule integre. In questo contesto però, la tecnica dello Sperm-HY-Liter non richiede l'identificazione di cellule integre per confermare la presenza del fluido, infatti, questa tecnica combina l'elemento morfologico con una colorazione specifica e molto sensibile. L'anticorpo Sperm Hy-Liter™ infatti non reagisce con lo sperma di specie comuni o con altri tessuti umani che si possono incontrare nelle prove di violenza sessuale (Miller et al., 2011). Inoltre, la colorazione estremamente specifica permette di superare le difficoltà introdotte da contaminanti come lieviti e batteri solitamente presenti nei campioni degradati, contaminanti che invece complicano l'osservazione esclusivamente morfologica (Westring et al., 2014). Così, quando l'analisi dello sperma colorato con ematosilina e eosina è fallita perché non erano più visibili cellule integre (Tempo 4, 2 mesi), la tecnica Sperm Hy-Liter ha dato ancora un risultato positivo.

La stessa azione di disturbo dovuta all'ambiente aperto è visibile nell'analisi biomolecolare, un'opera di disturbo dovuta probabilmente, in particolare, all'azione di degradazione dell'acqua che, come già riportato, ha impedito che le tracce si seccassero inficiandone la conservazione (Lindahl, 1993 Burger et al., 1999; Hall e Ballantyne, 2004; Gates, 2009). Il risultato dell'indagine biomolecolare è apparso maggiormente compromesso in particolare nell'ambiente antropizzato; tuttavia, il set di dati è troppo piccolo per poter escludere che il diverso effetto dei due ambienti sia stocastico.

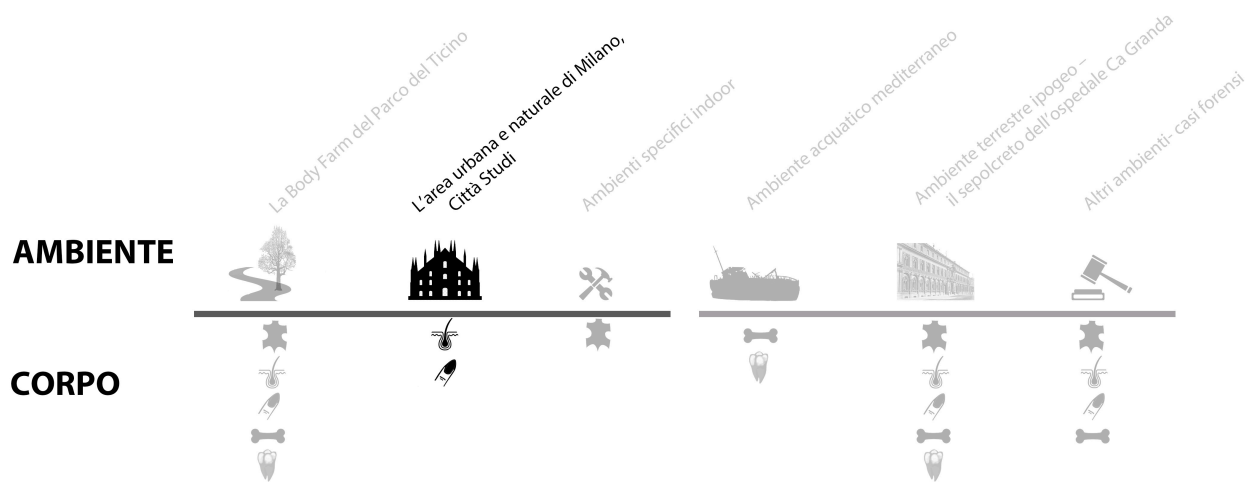
Nella tabella sottostante (Figura 3.2.8) è riportato un elenco delle diverse tecniche applicate sui campioni in funzione del fluido corporeo; il tempo massimo in cui i test ha avuto esito positivo è riportato tra parentesi a fianco di ogni tecnica.

	SANGUE	SPERMA
Ambiente naturale	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Osservazione macroscopica/Microscopio episcopico (1 mese)</i> • <i>Combur3Test®E (3 mesi)</i> • <i>OBTI test (3 mesi)</i> • <i>Luminol (3 mesi)</i> • <i>Analisi biomolecolare (24h. e 3 mesi)</i> 	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Osservazione macroscopica/Microscopio episcopico (1 mese)</i> • <i>Crimescope (1 settimana)</i> • <i>PSA test (1 settimana)</i> • <i>Sperm-HY-Liter™ Express (2 mesi)</i> • <i>Osservazione della componente cellulare (1 mese)</i> • <i>Analisi biomolecolare (3 mesi)</i>
Ambiente antropizzato	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Osservazione macroscopica/Microscopio episcopico (2 mesi)</i> • <i>Combur3Test®E (3 mesi)</i> • <i>OBTI test (3 mesi)</i> • <i>Luminol (3 mesi)</i> • <i>Analisi biomolecolare (2 mesi)</i> 	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Osservazione macroscopica/Microscopio episcopico (1 mese)</i> • <i>Crimescope (24 h.)</i> • <i>PSA test (1 settimana)</i> • <i>Sperm-HY-Liter™ Express (1 mese)</i> • <i>Osservazione della componente cellulare (1 mese)</i> • <i>Analisi biomolecolare (1 settimana)</i>
Ambiente di controllo	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Osservazione macroscopica/Microscopio episcopico (3 mesi)</i> • <i>Combur3Test®E (3 mesi)</i> • <i>OBTI test (3 mesi)</i> • <i>Luminol (3 mesi)</i> • <i>Analisi biomolecolare (3 mesi)</i> 	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Osservazione macroscopica/Microscopio episcopico (3 mesi)</i> • <i>Crimescope (24 h.)</i> • <i>PSA test (3 mesi)</i> • <i>Sperm-HY-Liter™ Express (3 mesi)</i> • <i>Osservazione della componente cellulare (3 mesi)</i> • <i>Analisi biomolecolare (3 mesi)</i>

Figura 3.2.8 Elenco delle diverse tecniche applicate sui campioni trattati con i due diversi fluidi, il tempo massimo in cui i test ha positivamente identificato il fluido, nei due ambienti e nel controllo, è riportato tra parentesi a fianco di ogni tecnica.

3.2 L'area urbana e naturale di Milano, Città Studi

3.2.2 Persistenza e determinabilità di tracce biologiche ambientali e inorganiche umane e ambientali su iponichio



Il secondo progetto si proponeva di:

- Studiare l'interazione tra un substrato corporeo specifico quale l'iponichio ungueale e specifici substrati ambientali attraverso la simulazione di una dinamica di attacco/difesa
- Valutare il potere informativo del residuo naturale o merceologico derivante dalla dinamica simulata e la sua coerenza con il substrato ambientale di origine
- Valutare la persistenza e l'alterabilità quali/quantitativa del residuo stesso

Il seguente progetto è confluito in una pubblicazione sulla rivista *International Journal of Legal Medicine* disponibile al seguente riferimento:

Caccia G, Re L, Caccianiga M, Cattaneo C (2021) *Traces under nails in clinical forensic medicine: not just DNA*. *Int J Legal Med* 135: 1709–1715. <https://doi.org/10.1007/s00414-021-02519-w>

La mano svolge spesso un ruolo di primo piano nelle dinamiche violente di aggressione e di difesa, quella porzione della falange sita tra l'unghia e il dito, l'iponichio, si trasforma quindi spesso in un valido raccoglitore di tracce. Questo dato è supportato da un'analisi condotta dal Ministero di Giustizia, nel 2016, su oltre 400 sentenze di omicidio di donne commessi tra il 2012 e il 2016, questa ricerca ha dimostrato che il 9% di questi omicidi è stato commesso senza l'ausilio di strumenti; a ciò si aggiunge la percentuale ben più alta di azioni difensive svoltesi senza l'ausilio di strumenti (ISTAT). In conseguenza di ciò è ormai entrato nella pratica comune medico legale il prelievo e l'analisi del residuo iponichiale per indagini genetiche volte all'individuazione dei soggetti coinvolti; tuttavia, il materiale biologico umano è solo uno degli elementi potenzialmente trattenuti da questo sito. Pur essendo evidente il valore probatorio di un elemento identificativo quale il profilo genetico di un individuo è necessario tener presente come, in alcune condizioni, tracce ambientali o merceologiche possano essere altrettanto dirimenti. Si pensi ad esempio a tutti quei casi in cui vittima aggressore risultino conviventi e in cui quindi la presenza del materiale genetico di uno sull'altro non possa essere considerato indice dell'avvenuta aggressione, in questi casi informazioni di contesto, ottenute ad esempio da una fibra tessile o da un residuo vegetale possono avvalorare una determinata ricostruzione dei fatti e arricchire il quadro investigativo. Si è quindi cercato con questo studio pilota di valutare la possibile metodica di indagine e il potere informativo di "altri elementi" trattenuti dall'iponichio in prospettiva di un'analisi multidisciplinare di questo materiale che naturalmente non esclude quella biomolecolare.

3.2.2.1 Materiali e metodi

I substrati selezionati per questo progetto, in numero di sei, erano i seguenti: un piano in legno coperto di vernice bianca, un frammento di tessuto in cotone e uno in lana, il suolo di un'aiuola urbana, un muro di mattoni e cemento e una pianta di edera rampicante (Figura 3.2.9). Questi substrati sono stati campionati per mezzo di un raschietto di legno e il particolato raccolto usato come riferimento per l'analisi del residuo iponichiale.

Essi sono stati osservati per mezzo di microscopio episcopico (Leica Wild Heerbrugg op mikroskop M650) e microscopio ottico (Zeiss Axio scope. A1). Lo scopo di questa analisi era di definire nel modo più esaustivo possibile le caratteristiche di ciascun substrato come: il colore, la morfologia del particolato, le sue dimensioni, il quantitativo totale e altri parametri specifici per i diversi substrati.



Figura 3.2.9 Immagini dei sei substrati selezionati per la sperimentazione

Dopo essere stati sottoposti al lavaggio delle mani secondo le direttive OMS (WHO), ai volontari dello studio è stato chiesto di graffiare e raschiare i diversi substrati eseguendo movimenti naturali con la loro mano dominante per 15 s.

Il materiale trattenuto dall'iponichio dopo l'azione è stato prelevato a diversi tempi sperimentali: immediatamente dopo l'azione (tempo 0), dopo 1 h (tempo 1), dopo 4 h (tempo 2), dopo 8 h (tempo 3) e infine, dopo 24 ore (tempo 4). Durante le 24 ore il candidato ha svolto normalmente le sue attività

quotidiane. Il residuo iponichiale è stato campionato per mezzo di uno *scraper* in legno che è stato mosso lungo lo spazio iponichiale da un estremo all'altro. I residui delle cinque unghie della mano sono stati raccolti su un foglio di carta pulita e trasferiti in una provetta Eppendorf dove sono stati conservati fino al momento dell'esame (Figura 3.2.10).



Figura 3.2.10 Immagini di alcuni passaggi della procedura e degli strumenti necessari per la rimozione del residuo iponichiale

L'esame è stato svolto, come per i campioni di controllo, mediante microscopio episcopico e ottico e i medesimi parametri, con l'aggiunta del quantitativo totale, sono stati valutati al fine di definire la compatibilità del campione con il substrato d'origine e la sua alterabilità quali e quantitativa nel tempo (Figura 3.2.11 informazioni dettagliate sui parametri scelti e valutati per ciascun substrato sono riportate in appendice 3.2.2 A1 pag. 309).

SUBSTRATE	CHARACTERS	NOTES
WOODEN BAR PAINTED WHITE	Morphology	classification of the geological soil structure (prismatic, columnar, angular polyhedral, subangular polyhedral, lamellar, granular) (Soil Science Division Staff)
	Colour	Munsell system (Oyama e Takehara, 1967)
	Dimensions	Measurement in micrometers of the larger axis of the individual fragments
	No. of elements	
COTTON VEST AND WOOLLEN VEST	Surface aspect and morphology	homogeneous > cylindrical, undulated or irregular helical morphology > tape morphology (Robertson e Grieve, 1999)
	Colour	Munsell system (Oyama e Takehara, 1967)
	Gauge	Ø in micrometres
	Origin of the fibre	“A” = animal, “V” = vegetable, “I” = inorganic, “S” = synthetic
	Pleochroism	Presence/absence (Robertson e Grieve, 1999)
No. of elements		
SOIL	Morphology of the elements	Classification of the geological skeleton forms (prismatic, columnar, angular polyhedral, subangular polyhedral, lamellar, granular) (Soil Science Division Staff)
	Colour	Munsell system (Oyama e Takehara, 1967)
	Aggregation	% of the aggregated and non-aggregated component (aggregation = tendency of the single particles to remain isolated or to stick to each other and aggregate into compounds of greater dimensions) (Mc Rae, 1991)

	Pleochroism	Presence/absence (Robertson e Grieve, 1999)
	% of cover	Synoptic tables for estimating the percentage of cover (Costantini, 2007)
BRICK AND MORTAR WALL	Morphology of the elements	classification of the geological skeleton forms (prismatic, columnar, angular polyhedral, subangular polyhedral, lamellar, granular) (Soil Science Division Staff)
	Colour	Munsell system (Oyama e Takehara, 1967)
	Aggregation	% of the aggregated and non-aggregated component (aggregation = tendency of the single particles to remain isolated or to stick to each other and aggregate into compounds of greater dimensions) (Mc Rae, 1991)
	Pleochroism	Presence/absence (Robertson e Grieve, 1999)
	% of cover	Synoptic tables for estimating the percentage of cover (Costantini, 2007)
	Dimensions	Measurement in micrometres of the larger axis
	No. of elements	
IVY	Colour	Munsell system (Oyama e Takehara, 1967)
	Dimensions	Measurement in micrometers of the larger axis
	Cuticle	Presence/absence (Gerola, 1997)
	Epidermis	Presence/absence (Gerola, 1997)
	Trichomes	Presence/absence (Gerola, 1997)
	Stomas	Presence/absence (Gerola, 1997)
	Parenchyma	Presence/absence (Gerola, 1997)
	Veins	Presence/absence (Gerola, 1997)
	No. of elements	

Figura 3.2.11 Tabella riassuntiva dei parametri considerati nell'analisi di ciascun substrato

3.2.2.2 Risultati

Di seguito la sintesi dei risultati ottenuti dall'osservazione del residuo iponichiale ai diversi tempi sperimentali e dei relativi campioni di controllo tutti osservati in microscopia episcopica ed ottica. (La raccolta integrale dei risultati ottenuti è consultabile in appendice 3.2.2 A2 pag. 316)

Piano in legno verniciato

Il campione di controllo era caratterizzato da frammenti di vernice con morfologia lamellare o a "U" con colore verde chiaro o grigio secondo Munsell; i frammenti presentavano dimensioni medie superiori a 500 µm. All'interno del materiale è stato osservato un frammento di legno attribuibile alla barra di supporto (Figura 3.2.12).


Tecnica di osservazione	Colore Munsell	Dimensione asse maggiore (µm)	Morfologia	Inclusioni
M. EPISCOPICO	 10 GY 8/1 "Light Greenish Gray", Grigio chiaro-verde	Range 300 - 400 : 2 Range 400 - 500 : 1 Range >500 : 9	Lamellare U-shaped	Non osservate
M. OTTICO	Non valutato	Range 100-200 : 5 Range 300-400 : 2 Range >500 : 9	Lamellare U-shaped	1 probabile epidermide vegetale

Figura 3.2.12 Tabella riassuntiva delle caratteristiche del campione di controllo prelevato dal legno verniciato

Il campionamento dall'iponichio ha restituito particolato con una morfologia leggermente diversa: al tempo 0, dopo 1 e 4 ore dall'azione esso (T0, T1, T2) presentava elementi principalmente poliedrici subangolari, successivamente (dopo 8 ore, tempo 3) si poteva osservare un uguale rappresentazione di elementi di forma poliedrico subangolare e elementi di forma lamellare. Infine, a 24 ore dall'interazione gli elementi componenti il particolato mostravano forma poliedrico subangolare e poliedrico angolare (T4). Per quanto riguarda il colore invece, il particolato da iponichio era generalmente coerente con il campione di controllo anche se si è potuto osservare un progressivo arrossamento del campione a partire da 4 ore (T2). Le dimensioni degli elementi del particolato da iponichio apparivano simili a quelli di controllo, generalmente superiori ai 500 μm con l'eccezione di T0 e T4.

Per quanto riguarda il quantitativo del campione e la sua variazione nel tempo, il numero di frammenti non ha mostrato evidente diminuzione con il passare del tempo.

Infine, in tutti i campioni sono stati osservati vari tipi di fibre, così come frammenti legnosi ed elementi minerali contaminanti.

Tessuto di cotone

Il campione di controllo consisteva in fibre vegetali con superficie irregolare e morfologia a nastro, colore grigio scuro, il cui calibro era compreso tra 10 e 20 μm , prive di pleocroismo (Figura 3.2.13).


Tecnica di osservazione	Colore Munsell	Aspetto superficiale	Morfologia	O (μm)	Origine fibra	Pleocroismo	Aspetto fibra
M. EPISCOPIO	 N 3/0: "Dark Gray"	Irregolare	A nastro	13.44 (++)	Vegetale	Non valutabile	Non valutato
M. OTTICO	Non valutato	Irregolare	A nastro	12.32 (++)	Vegetale	Assente	Maturo

Figura 3.2.13 Tabella riassuntiva delle caratteristiche del campione di controllo prelevato dal tessuto di cotone

Il campionamento dall'iponichio ha restituito, fino a T4, campioni coerenti con il campione di controllo per morfologia, aspetto superficiale, colore, calibro, origine e assenza di pleocroismo.

Tuttavia, sono state al contempo osservate fibre incoerenti con il controllo per tutti i parametri considerati già a partire da T0. Il numero di queste ultime fibre è risultato pressoché costante nel tempo. Il numero complessivo di elementi non mostra un trend chiaro; tuttavia, il numero di quelli morfologicamente compatibili con il campione mostra una progressiva riduzione.

Tessuto in lana

Il campione di controllo consisteva in fibre di origine animale con un aspetto omogeneo e morfologia cilindrica, colore grigio scuro trasparente, di calibro compreso tra 10 e 20 μm , mostranti pleocroismo (Figura 3.2.14).

Tecnica di osservazione	Colore Munsell	Aspetto superficiale	Morfologia	Ø (µm)	Origine fibra	Pleocroismo
M. EPISCOPIO	 N 3/0: "Dark Gray"	Omogeneo	Cilindrica	13.75	Animale	Non valutabile
M. OTTICO	Non valutato	Omogeneo	Cilindrica	16.00	Animale	Presente

Figura 3.2.14 Tabella riassuntiva delle caratteristiche del campione di controllo prelevato dal tessuto in lana

Il residuo iponichiale ha restituito fibre in tutti i tempi di campionamento; tuttavia, molte di esse differivano dal controllo per una o più caratteristiche. La piena compatibilità per tutte le caratteristiche indagate può essere osservata solo al tempo 0, dopo una e otto ore dall'interazione. In generale, è stata osservata una progressiva riduzione del numero di fibre presenti al trascorrere del tempo e una riduzione, anche se meno evidente, di quelle morfologicamente compatibili con il campione di controllo.

Suolo

Il campione di controllo è costituito da elementi la cui morfologia principale è subangolare poliedrica anche se anche il contingente granulare è ben rappresentata. Presenta elementi in tre tonalità di colore: nero/oliva e marrone chiaro declinato in due tonalità. Per quanto riguarda lo stato di aggregazione, il 90% del campione è in forma aggregata mentre il 10% è in forma non aggregata. Al suo interno sono presenti elementi botanici e fibre (Figura 3.2.15).


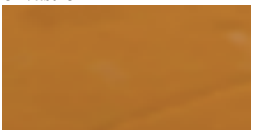
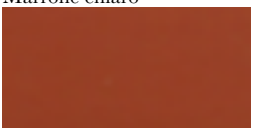
Tecnica di osservazione	Colore Munsell	% di copertura	Stato di aggregazione	Morfologia	Sostanze organiche	Inclusioni
M. EPISCOPICO	 5 Y 3/2 "Olive Black", Nero olivastro  10 YR 6/6 "Bright Brown", Marrone chiaro  2.5 Y 5/6 "Bright Brown", Marrone chiaro	100	90% aggregato 10% non aggregato	Poliedrica Subangolare per la maggior parte Granulare Lamellare, in forma di qualche elemento	Presenti, sotto forma di frammenti lignei e formazioni botaniche lamellari	Non osservate
M. OTTICO	Non valutato	100	90% aggregato 10% non aggregato	Poliedrica Subangolare per la maggior parte Granulare Lamellare, in forma di qualche elemento Colonnare, in forma di qualche elemento	Presenti, sotto forma di frammenti lignei e formazioni botaniche lamellari	4 fibre, 2 minerali

Figura 3.2.15 Tabella riassuntiva delle caratteristiche del campione di controllo prelevato dal suolo

Il prelievo dall'iponichio restituisce, a T0, un campione coerente con quello di controllo per tutte le caratteristiche considerate. Ai tempi successivi la situazione è simile ma con una chiara diminuzione della porzione aggregata rispetto a quella non aggregata, fino a T4 quando il 99% del materiale si presenta non aggregato. Anche il colore subisce lievi cambiamenti nel tempo, con un progressivo ingiallimento del campione. Da un punto di vista quantitativo, il campione subisce un calo più o meno costante da T0 a T4. I campioni da iponichio presentano a tutti i tempi sperimentali, oltre agli elementi propri del campione di controllo anche diversi elementi organici principalmente di origine botanica ma anche zoologica e diverse fibre.

Muro di mattoni e calce

Il campione di controllo consiste in un particolato leggermente aggregato di colore marrone chiaro con morfologia granulare che include formazioni cristalline iridescenti e minerali pleocroici. La dimensione media degli elementi è inferiori a 100 µm. Presenza di fibre incluse (Figura 3.2.16).

Tecnica di osservazione	Colore Munsell	Dimensione asse maggiore (µm)	Morfologia	% di copertura	Stato di aggregazione	Inclusioni
M. EPISCOPICO		Range 0.1 - 100	Granulare	100	Debolmente aggregato	Formazioni cristalline iridescenti
	2.5 YR 5/8 "Bright Brown", Marrone chiaro					
M. OTTICO	Non valutato	Range 0.1 - 100	Granulare	100	Debolmente aggregato	5 fibre vegetali a nastro, 3 fibre animali cilindriche pleocroiche, 1 formazione tubulare pleocroica, 5 formazioni minerali pleocroiche

Figura 3.2.16 Tabella riassuntiva delle caratteristiche del campione di controllo prelevato dal muro di mattoni e calce

Il campionamento dall'iponichio ha restituito un campione coerente con quello di controllo per la morfologia delle particelle fino a 8 ore, T3. Dimensioni e colore dei campioni risultano coerenti con il controllo fino al termine della sperimentazione, T4, anche se si assiste ad un progressivo opacizzarsi del campione e ad un suo progressivo ingiallimento. Il campione mostra anche una perdita generale di aggregazione rispetto al controllo. Da un punto di vista quantitativo, esso subisce un calo più o meno costante da T0 a T4. Oltre agli elementi propri del controllo, i campioni mostrano fibre di vario tipo e morfologia, nonché elementi botanici.

Edera

Il campione di controllo consiste in una foglia di edera di colore grigio oliva scuro sul lato adassiale e più luminoso su quello abassiale. Le venature sono chiaramente visibili all'osservazione con il microscopio episcopico mentre, in microscopia ottica, la una sezione trasversale opportunamente preparata, montata e colorata, mostra in modo chiaro sia le strutture superficiali, come cuticola, epidermide, tricomi e stomi, sia quelle profonde, come il parenchima e le strutture di conduzione (vene) (Figura 3.2.17).

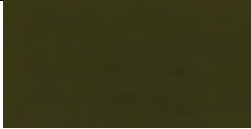
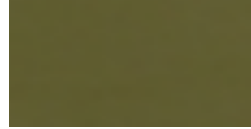
Tecnica di osservazione	Colore Munsell	Vene	Cuticola	Stomi	Epidermide	Parenchima
M. EPISCOPICO	 10 Y 4/2 "Olive Gray", Oliva grigio – Lato adassiale  10 Y 5/2 "Olive Gray", Oliva grigio – Lato abassiale	Presenti	Non valutabile	Non valutabile	Non valutabile	Non valutabile
M. OTTICO	Non valutato	Presenti	Presente	Presenti	Presente	Presente

Figura 3.2.17 Tabella riassuntiva delle caratteristiche del campione di controllo prelevato dalla pianta di edera

Il campionamento dall'iponichio ha restituito un campione coerente con il campione di controllo per colore e fino a T4. Sono inoltre presenti al suo interno elementi di indiscutibile origine vegetale grazie alla visibilità della cuticola e dei tricomi a 5 punte tipici anche se non esclusivi della specie in vegetale in oggetto, l'edera. Non si evidenzia alcun andamento chiaro dal punto di vista quantitativo.

Fibre di diverso tipo e morfologia, non proprie del campione di controllo, sono visibili nei campioni a tutti i tempi sperimentali.

Le tabelle sottostanti (Figura 3.2.18, 3.2.19) mostrano rispettivamente le immagini della mano pre-campionamento in vista palmare con le dita flesse, e il residuo raccolto dopo il campionamento.





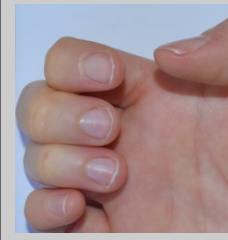
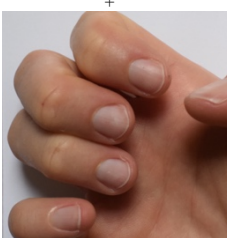
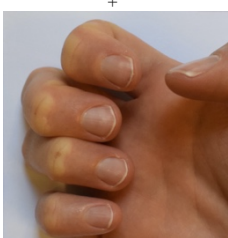
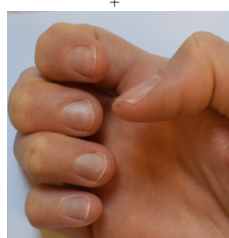
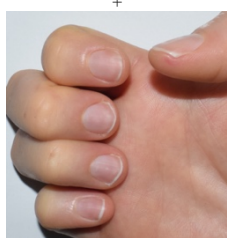
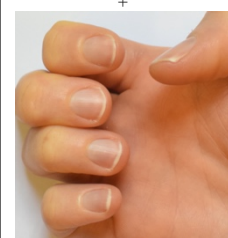
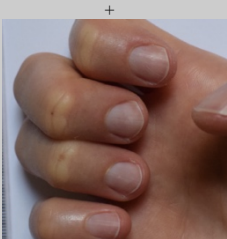
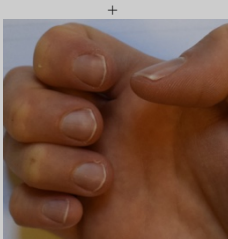
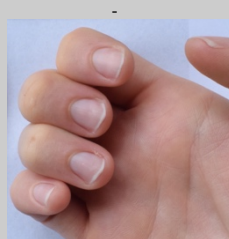
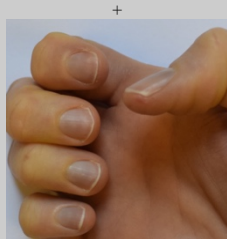
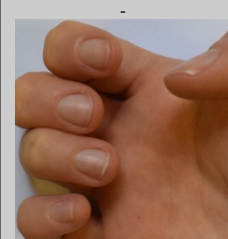

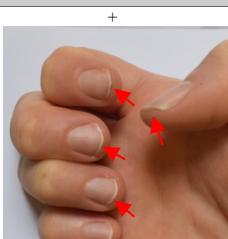
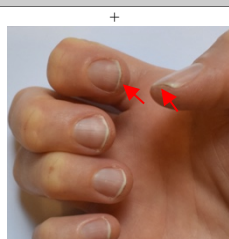


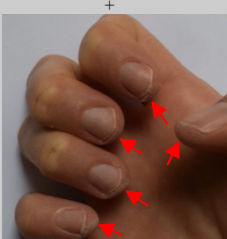
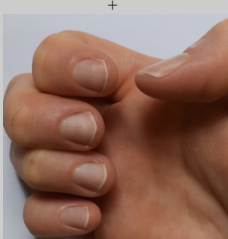
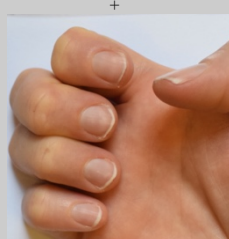
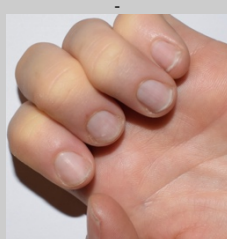
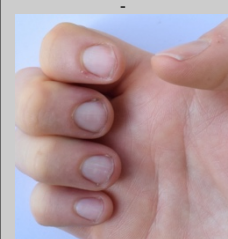
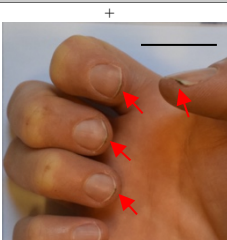


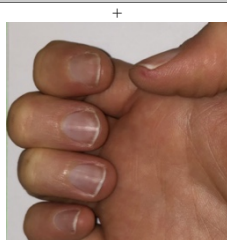
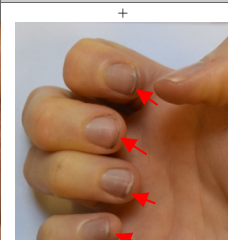
SUBSTRATO	T0	T1(1 ora)	T2(4 ore)	T3(8 ore)	T4(24 ore)
PIANO IN LEGNO CON VERNICE BIANCA					
TESSUTO IN COTONE					
TESSUTO IN LANA					
SUOLO					
MURO IN MATTONI E CALCE					
EDERA					

Figura 3.2.18 Tabella riassuntiva dei risultati: vista della mano in senso palmare, le frecce rosse indicano il residuo iponichiale macroscopicamente visibile

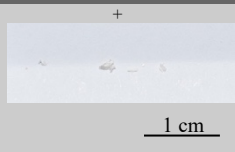
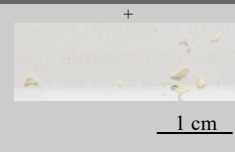
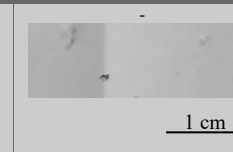

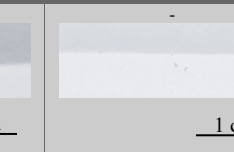
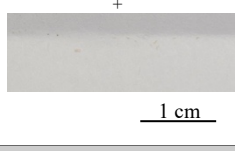
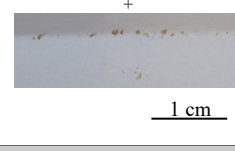
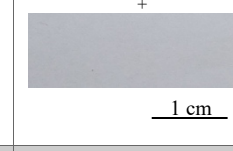
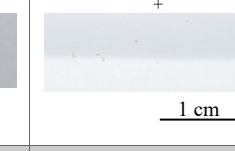
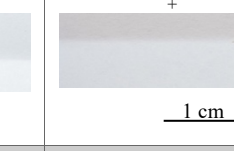
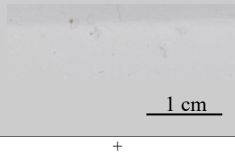
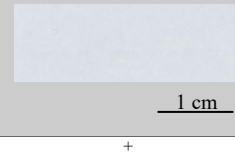
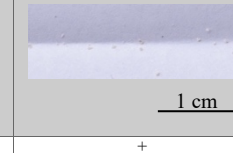

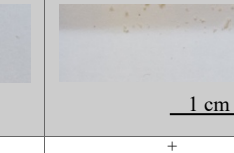
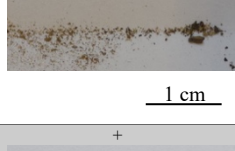
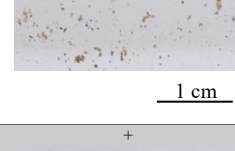
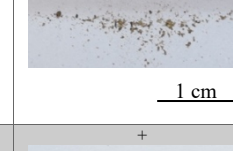
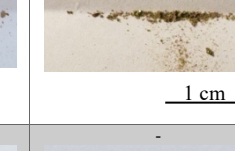
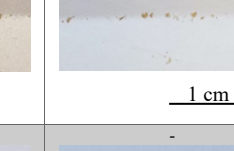
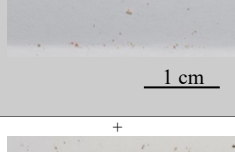
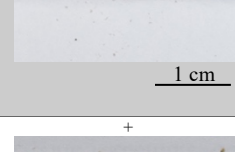
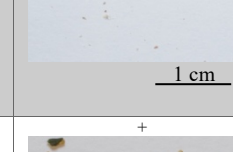
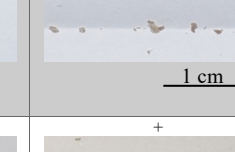

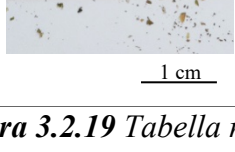
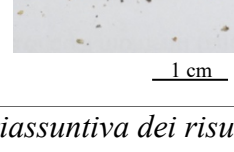
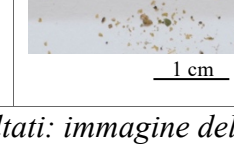
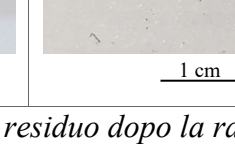
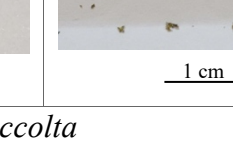
SUBSTRATO	T0	T1(1 ora)	T2(4 ore)	T3(8 ore)	T4(24 ore)
PIANO IN LEGNO CON					
TESSUTO IN COTONE					
TESSUTO IN LANA					
SUOLO					
MURO IN MATTONI E					
EDERA					

Figura 3.2.19 Tabella riassuntiva dei risultati: immagine del residuo dopo la raccolta

3.2.2.3 Discussione

I risultati descritti mostrano come tutti i substrati scelti siano ancora presenti sull'iponichio un residuo almeno parzialmente compatibile con essi che si è conservato tale anche diverse ore dopo il campionamento, ore durante le quali i volontari hanno potuto usare le mani per le loro normali attività. Naturalmente, l'unghia ha svolto un effetto selettivo e alterante sul substrato di origine, fin dal primo momento dell'interazione, privando il residuo iponichiale di alcune delle caratteristiche proprie del substrato di origine, come la morfologia e la dimensione delle particelle nel caso della vernice o l'aggregazione nel caso del muro di mattoni e cemento.

Tuttavia, elementi coerenti con il controllo possono ancora essere distinti a distanza di 1 ora dal contatto per la tavola di legno dipinta, anche se solo per il colore, a distanza di 8h per il tessuto di lana (con un risultato negativo dopo 1h) e il muro, e infine fino a 24h per il tessuto in cotone, suolo dell'aiuola e l'edera.

Considerando i risultati ottenuti, non sembra possibile identificare una relazione tra la tipologia di substrato e la sua persistenza come residuo iponichiale: le fibre di cotone hanno avuto un iter diverso da quelle in lana, il suolo si è comportato diversamente dall'altro materiale "geologico" campionato, il muro. Tuttavia, ulteriori indagini dovrebbero essere fatte per verificare questa ipotesi, considerando più in dettaglio le caratteristiche morfologiche del materiale e ampliando il campione includendo un maggior numero di substrati per macrocategoria.

L'osservazione microscopica fino ad ora realizzata ha permesso l'identificazione del materiale e la sua attribuzione al substrato scelto entro gli intervalli di tempo sopra elencati; tuttavia, un'importante conferma della corrispondenza così come un'estensione degli intervalli temporali di efficacia potrebbe derivare da analisi più specifiche come analisi chimiche (in particolare nel caso di fibre e vernici) o genetiche (in particolare nel caso di elementi botanici).

La spettroscopia Raman, ad esempio, ha già dimostrato la sua validità in analisi comparative e identificative di diverse sostanze come le vernici (De Gelder et al., 2005; Zi ę ba-Palus e Trzcińska, 2013), fibre (Kirkbride e Tungol, 1999), droghe (West e Went, 2011) ed esplosivi (Zhang, 2018); inoltre, gli articoli citati in precedenza hanno confermato l'efficacia di questa tecnica anche sulle unghie come substrato (Ali et al., 2008; 2009). Questa tecnica, quindi, sembra estremamente promettente, e sarebbe interessante testare il suo potenziale in questo frangente con ulteriori studi.

Per quanto riguarda le sostanze organiche e in particolare quelle botaniche, l'uso della genetica sembra essersi già diffuso in campo forense (Zaya e Ashley, 2012) quale valido ausilio alla determinazione morfologica, potrebbe quindi essere interessante testare la sua efficacia in un contesto ostico quale quello in esame per via della ridotta quantità di materiale disponibile e per l'azione meccanica esercitata su di esso dall'unghia.

Oltre alle questioni relative alle tecniche utilizzate, sarebbe opportuno indagare in futuro l'effetto di variabili come la lunghezza delle unghie o la presenza di unghie artificiali sulla capacità delle stesse di rimuovere e trattenere le tracce ambientali.

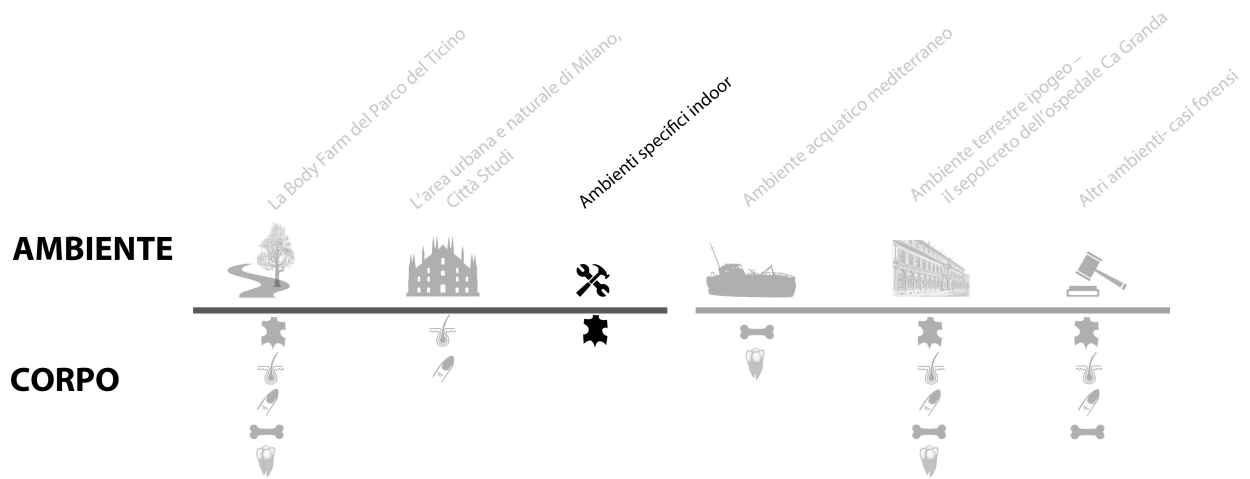
Ciò nonostante, questa, pur nella sua semplicità, è la prima indagine sulla presenza e persistenza di elementi botanici, geologici e tessili sotto le unghie di una "vittima" viva anche dopo 24 ore, potenziali elementi informativi che, una volta noti, non possono essere ignorati a priori nel processo investigativo. Questi risultati, anche se frutto di un primo studio pilota, sembrano sufficienti a suggerire l'opportunità di effettuare una analisi di routine ad ampio spettro e non distruttiva sul residuo iponichiale, sia nel contesto della *clinical forensic medicine* che in quello dell'esame autoptico

3.3 Ambienti specifici indoor

Come terza linea di ricerca sono stati selezionati ancora ambienti noti, in questo caso si è voluto utilizzare ambienti specifici caratterizzati dall'ospitare attività ripetitive e caratteristiche. Questo tipo di ambienti, costituiti per la maggior parte da ambienti di lavoro, sono stati scelti in quanto costituivano un contesto ottimale per valutare presenza, persistenza e specificità, del micro particolato rinvenibile sul substrato corporeo per eccellenza, la cute, dopo un contatto più o meno intenso e prolungato con i suddetti ambienti.

Verranno descritti due studi, accomunati sia dalla tipologia di ambienti che dal substrato corporeo ma con alcune differenze.

3.3.1 Micro tracce inorganiche e organiche su cute umana



L'indagine si poneva i seguenti obiettivi:

- valutare presenza e caratteristiche del micro particolato presente su cute di soggetti provenienti da ambienti specifici indoor, mediante indagine morfologica e chimica (SEM-EDX) da *stub* in grafite
- valutare l'effetto di variabili quali la presenza o assenza di indumenti sul particolato trattenuto dalla cute
- verificare l'esistenza di un rumore di fondo nel particolato presente su cute, ossia un pool di elementi ubiquitari e quindi non informativi per quanto riguarda gli ambienti di provenienza

Il presente progetto è confluito in una pubblicazione sulla rivista Australian Journal of Forensic Sciences reperibile al seguente riferimento:

Caccia G, Mazzarelli D, Amadasi A, Rizzi A, Caccianiga M, Cattaneo C (2021) SEM-EDX analysis of microscopic surface debris collected from the skin - preliminary study, Australian Journal of Forensic Sciences 1-21. <https://doi.org/10.1080/00450618.2021.1900393>

La ricerca si è sviluppata in due stadi, una prima fase sperimentale, che aveva lo scopo di realizzare un'analisi comparativa tra i residui sulla pelle (coperta e scoperta) e residui dell'ambiente di recupero e una seconda realizzata su soggetti deceduti e sottoposti ad indagine autoptica provenienti da ambienti noti. Questa seconda fase aveva lo scopo di avere una panoramica del particolato diffuso e comune sulla cute, quel rumore di fondo non specifico che deve essere identificato per poter meglio comprendere gli elementi caratterizzanti i diversi ambienti.

3.3.1.1 Materiali a metodi

Prima fase della ricerca, il vivente

L'ambiente

Sei luoghi di lavoro sono stati selezionati per questa fase dello studio (Figura 3.3.1).













PROFESSION	SYMBOL	WORK ENVIRONMENT	SYMBOL
Florist		Flower shop	
Baker		Bakery	
Veterinary		Stable	
Workman		Foundry	
Doctor		Hospital	
Mechanic		Mechanic's workshop	

Figura 3.3.1 Elenco dei sei luoghi di lavoro e dei relativi lavoratori selezionati per la fase 1 del progetto

Il corpo

I relativi lavoratori sono stati campionati al termine della giornata lavorativa per mezzo di 4 *stub* adesivi (classici *Stub* SEM-EDX, larghezza 1,2 cm, linguetta di carbonio biadesiva, base in policarbonato, ottenuto da Ted Pella Inc.) su aree prestabilite di pelle, due esposte all'ambiente (parte anteriore e posteriore della mano) e due coperte da indumenti (seno e ascella) come controlli (Figura 3.3.2).

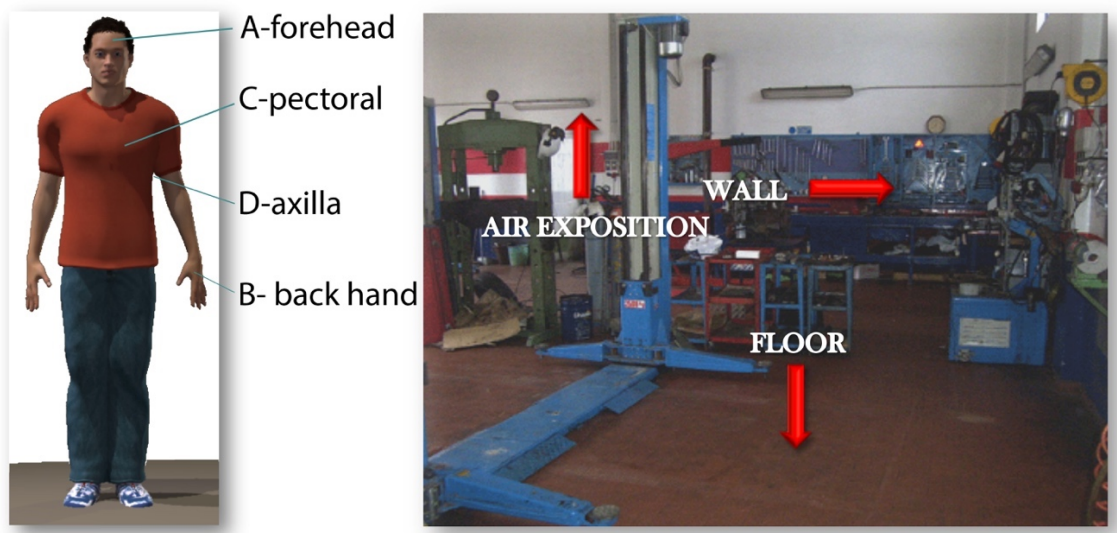


Figura 3.3.2 Rappresentazione schematica delle aree campionate sul corpo di ogni lavoratore (sinistra) e nell'ambiente di lavoro (destra).

Tre campioni sono stati utilizzati per campionare l'ambiente di lavoro: uno *stub* è stato esposto all'aria per circa 4 ore, uno è stato messo a contatto diretto con il pavimento per circa trenta secondi e l'ultimo è stato messo in contatto diretto con una delle pareti per circa trenta secondi (Figura 3.3.2). Il campionamento dell'ambiente è avvenuto il medesimo giorno del campionamento sul lavoratore.

Tutti gli *stub* sono stati posti su vetrini porta oggetto e conservati separatamente in contenitori sterili a -20°C fino al momento dell'analisi. Questi campioni sono stati analizzati tramite SEM-EDX (Cambridge Stereoscan 360) così da portare avanti contemporaneamente un'analisi morfologica di dettaglio e un'analisi chimica del particolato raccolto (Figura 3.3.3).

Elmt	Line	Spectrum	Intensity	Apparent c	Stat. Sigma	k Ratio	k Ratio	Sig	Fit Index	Inten. Corr.	Std. Corr.	Element %	Sigma %	Atomic %	Compound	Nos. of Ions
Na	K	ED	3.848188	0.350726	0.328905	3.00E-02	7.441176	0.600933		1	10.28642	0.851602	12.98618	Na2O	13.85553	3.839723
Mg	K	ED	9.09E-02	4.19E-02	1.51E-03	6.95E-04	2.5	0.430832		1	0.339115	0.155915	0.404839	MgO	0.562277	0.119702
Al	K	ED	2.841684	5.33E-02	5.37E-02	1.01E-03	0.105263	0.535613		1	8.524191	0.199577	9.169282	Al2O3	16.10583	2.711152
Si	K	ED	0.562027	4.10E-02	2.36E-02	1.72E-03	0	0.639905		1	1.411132	0.103955	1.458257	SiO2	3.018816	0.431174
P	K	ED	1.80E-02	5.25E-02	5.86E-04	1.71E-03	6.190476	0.959528		1	3.02E-02	8.79E-02	2.83E-02	P2O5	6.91E-02	8.36E-03
S	K	ED	0.928527	5.30E-02	0.017385	9.92E-04	14.22222	0.802963		1	1.857909	0.108229	1.681756	SO3	4.639036	0.497258
Cl	K	ED	2.927261	7.24E-02	6.16E-02	1.52E-03		0.731746	1.002187	6.427277	0.180664	5.261752			0	1.555782
K	K	ED	0.15091	7.88E-02	9.76E-03	5.10E-03	0.166667	1.128845		1	0.214787	0.11194	0.159428	K2O	0.258728	4.71E-02
Ca	K	ED	0.48426	5.41E-02	1.41E-02	1.58E-03	0.140351	0.99519		1	0.781801	8.76E-02	0.566141	CaO	1.093878	0.167395
Ti	K	ED	3.85E-02	0.050342	3.85E-04	5.03E-04	0.234375	0.879102		1	7.04E-02	9.19E-02	4.27E-02	TiO2	0.117484	1.26E-02
Cr	K	ED	9.37E-02	6.45E-02	9.38E-04	6.45E-04	0.305556	0.923563		1	0.163089	0.112066	0.091036	Cr2O3	0.238362	0.026917
Mn	K	ED	0.320127	0.080275	3.20E-03	8.03E-04	0.263158	0.926159		1	0.555342	0.138767	0.293389	MnO	0.717068	8.67E-02
Fe	K	ED	1.217362	0.10733	1.22E-02	1.07E-03	0.2125	0.974529		1	2.007004	0.176315	1.043049	FeO	2.581969	0.308406
Cu	K	ED	1.023445	0.168894	1.02E-02	1.59E-03	0.305263	0.87382		1	1.861771	0.288182	0.859559	CuO	2.35559	0.254152
Zn	K	ED	20.9585	0.479102	0.209587	4.79E-03	0.475248	0.87417		1	38.52107	0.747226	17.10315	ZnO	47.94891	5.057019
O	Ka	ED										26.92849	0.68917	48.85124		14.44422
Cation sum 0.00																

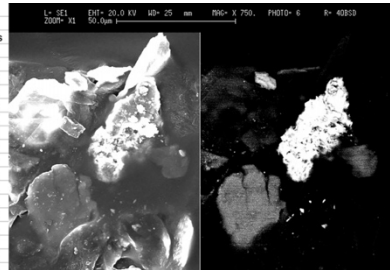


Figura 3.3.3 Esempio dei dati raccolti per ogni particella di interesse

Seconda fase della ricerca: il cadavere

La seconda fase della ricerca aveva lo scopo di identificare il cosiddetto "rumore di fondo" ovvero quella fetta di elementi chimici solitamente presenti su tutti gli individui indipendentemente dagli ambienti e dalle azioni compiute.

Corpo

Allo scopo, è stato selezionato un campione di 24 individui deceduti i cui campioni sono stati raccolti, con il medesimo modus operandi visto per i lavoratori della fase uno, durante l'esame esterno (Figura 3) dell'indagine autoptica.

Ambiente

Per ogni soggetto campionato sono stati raccolti dati relativi a: ambiente di provenienza, stagione, profilo biologico (sesso, età, statura e ascendenza), causa di morte e stato di conservazione (tutti i

soggetti erano in un buono stato di conservazione o nella fase cromatica iniziale con una sola eccezione, un soggetto in fase colliquativa (S.7)).

In base alla stagione di recupero, i 24 soggetti sono stati divisi in due gruppi: 16 autunno/inverno e 8 primavera/estate (Figura 3.3.4, 3.3.5).

FALL/WINTER SAMPLES																
N.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
place of recovery																
traumatic death			N									N				
SPRING/SUMMER SAMPLES																
N.	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII								
place of recovery																
traumatic death							N	N								

Figura 3.3.4 Elenco dei 24 soggetti selezionati per la fase 2 del progetto con indicazione del luogo di rinvenimento e della dinamica di morte

LUOGO DI RINVENIMENTO	SIMBOLO	DINAMICA DI MORTE	SYMBOL
casa		Incidente stradale / investimento	
ospedale		Investimento ferroviario	
strada		Colpo di arma da fuoco	
cantina		Precipitazione	
binari ferrovia/metropolitana		Impiccamento	
area verde		Incidente sul lavoro	
garage		Non traumatica	N

Figura 3.3.5 Legenda dei simboli

Elaborazione dei dati

Le analisi chimiche svolte sui campioni sono state valutate in termini di presenza degli elementi, trascurando il dato di abbondanza; tuttavia, gli elementi con abbondanza inferiore allo 0,1% all'interno dell'analisi sono stati esclusi. Nella fase di confronto tra il particolato raccolto dalla cute e quello dell'ambiente, pur non essendo stata considerata l'abbondanza dell'elemento all'interno dell'analisi il dato quantitativo è stato considerato in termini di frequenza di un dato elemento nelle analisi svolte.

3.3.1.2 Risultati

Fase 1: il vivente

Analizzando i campioni appartenenti ai diversi ambienti testati è possibile identificare alcuni elementi ubiquitari, termine con cui sono stati definiti quegli elementi che erano presenti in tutti e sei gli ambienti in più di un'analisi: sodio, magnesio, alluminio, silicio, fosforo zolfo, potassio, calcio e ferro. Gli stessi elementi sono stati generalmente trovati anche sulla cute con rare eccezioni.

Si può anche notare che alcuni di questi elementi onnipresenti mostrano alte frequenze (presenza in più del 50% delle analisi) in un ambiente specifico: silicio nel negozio di fiorista e nell'ospedale, il calcio nel fiorista e nella panetteria e il ferro nel garage (Figura 3.3.6).

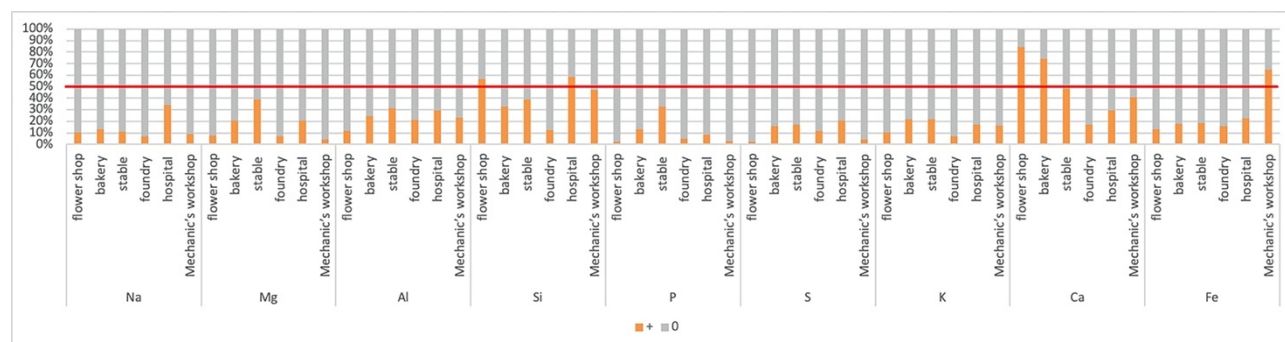


Figura 3.3.6 Istogramma che rappresenta i nove elementi presenti in tutti gli ambienti studiati con le relative frequenze

Nessun oggetto a morfologia propria come spore, pollini o materiali inorganici come le sfere di metallo, è stato identificato come ubiquitario.

Considerando ora i diversi ambienti va precisato che, per evitare che le considerazioni successive siano influenzate dalla presenza di *outlier*, sono stati esclusi gli elementi trovati in una singola analisi, così come gli elementi onnipresenti con una frequenza inferiore al 50% in quanto non qualitativamente e quantitativamente caratterizzanti.

I campioni del negozio di fiori erano caratterizzati da un'alta frequenza (oltre il 50%) di silicio e calcio. I campioni da cute presentavano una frequenza relativamente alta (oltre il 30%) dei suddetti elementi rispettivamente sulla pelle coperta e scoperta, ma anche cloro, titanio e zinco; quest'ultimo elemento è stato rilevato solo sulla pelle coperta da vestiti (Figura 3.3.7).

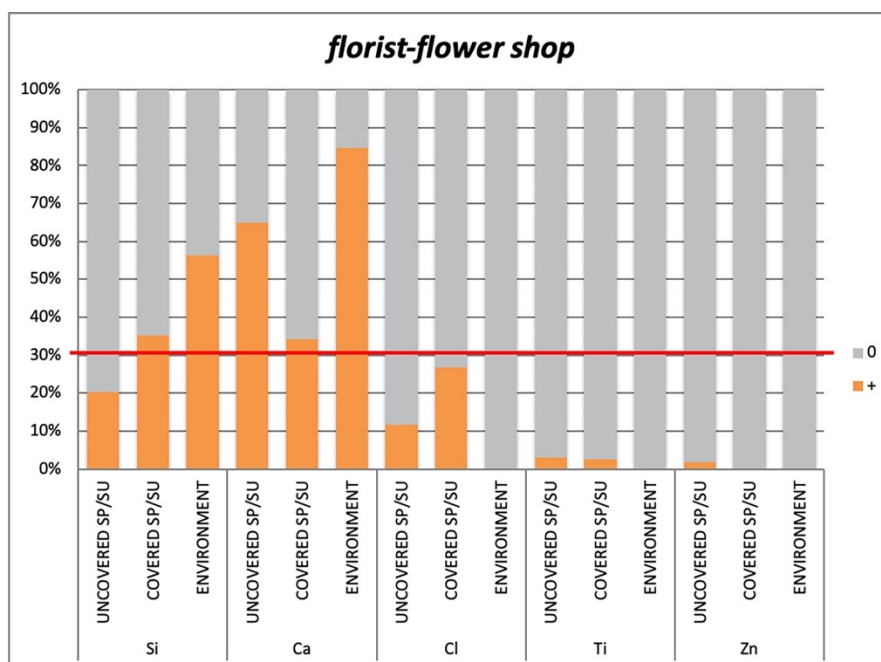


Figura 3.3.7 Istogramma che rappresenta la frequenza degli elementi sulla pelle coperta e scoperta del fiorista e nel relativo ambiente.

Per quanto riguarda l'analisi morfologica, polline, spore e aggregati di materiale organico non identificato sono stati osservati su cute e in ambiente (Figura 3.3.8, 3.3.9).

FIORISTA E NEGOZIO DI FIORI		
Cute scoperta	Cute coperta	Ambiente
/	/	3 fibre vegetali
3 spore	/	2 pollini e spore
/	/	1 fibra naturale probabilmente seta
1 aggregato di materiale organico	2 aggregati di materiale organico	3 aggregati di materiale organico

Figura 3.3.8 Tabella degli elementi rinvenuti con l'analisi morfologica sui campioni di cute del fiorista e su quelli del relativo ambiente

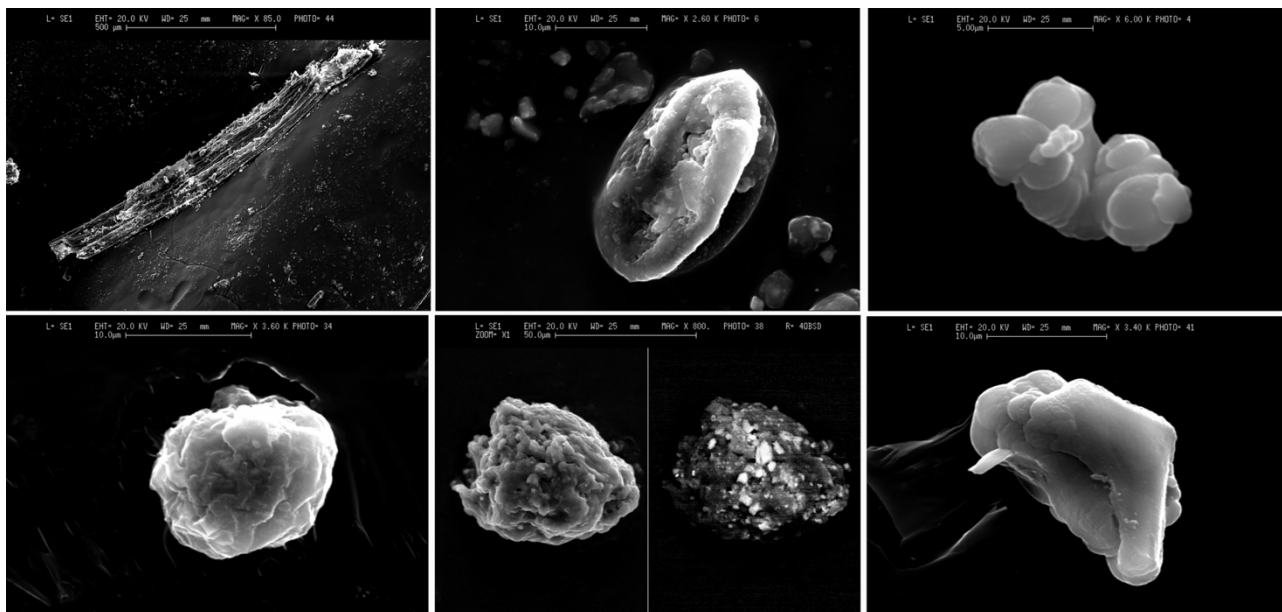


Figura 3.3.9 In alto, particolato proveniente dal negozio di fiori: una fibra vegetale, un polline collassato e una struttura organica composta da particelle sferiche aggregate. In basso materiale proveniente dei campioni di pelle del fiorista: una spora, una struttura organica coperta da materiale inorganico e un'altra struttura organica

I campioni della panetteria erano caratterizzati da alte frequenze di calcio (oltre il 50%) e presenza di cloro, titanio, cromo, rame e zinco. I campioni di cute coperta e scoperta presentavano una frequenza relativamente alta di calcio (oltre il 30%) oltre alla presenza di cloro, e occasionalmente di titanio, cromo e zinco (Figura 3.3.10).

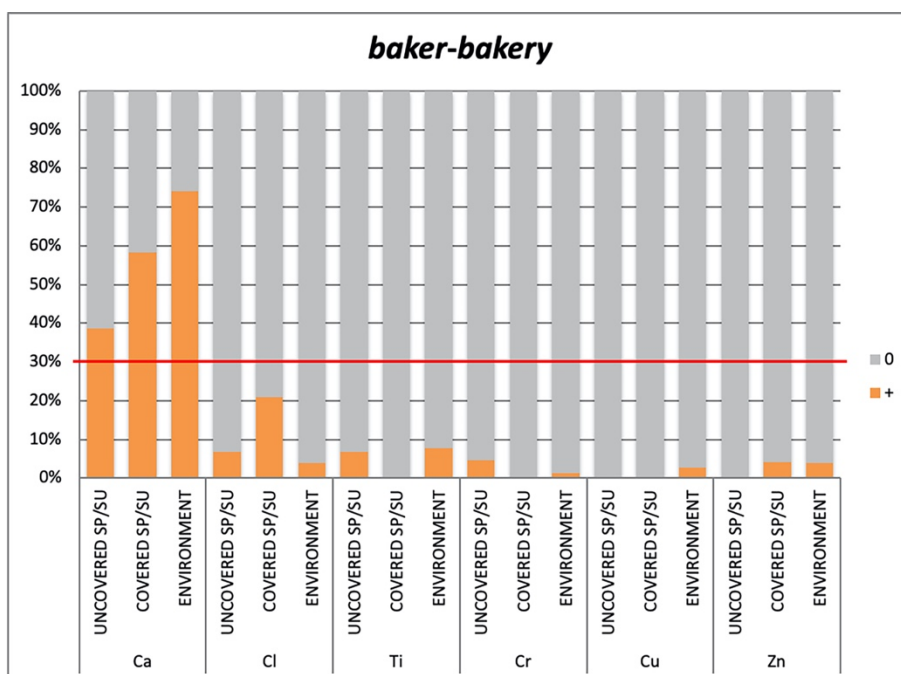


Figura 3.3.10 Istogramma che rappresenta la frequenza degli elementi sulla pelle coperta e scoperta del panettiere e nel relativo ambiente.

Per quanto riguarda l'analisi morfologica, sono stati osservati solo tre aggregati di diversa morfologia ma tutti di natura organica nei campioni di pelle scoperta (Figura 3.3.11, 3.3.12).

PANETTIERE E PANETTERIA		
<i>Cute scoperta</i>	<i>Cute coperta</i>	<i>Ambiente</i>
3 aggregati di materiale organico	/	/

Figura 3.3.11 Tabella degli elementi rinvenuti con l'analisi morfologica sui campioni di cute del panettiere e su quelli del relativo ambiente

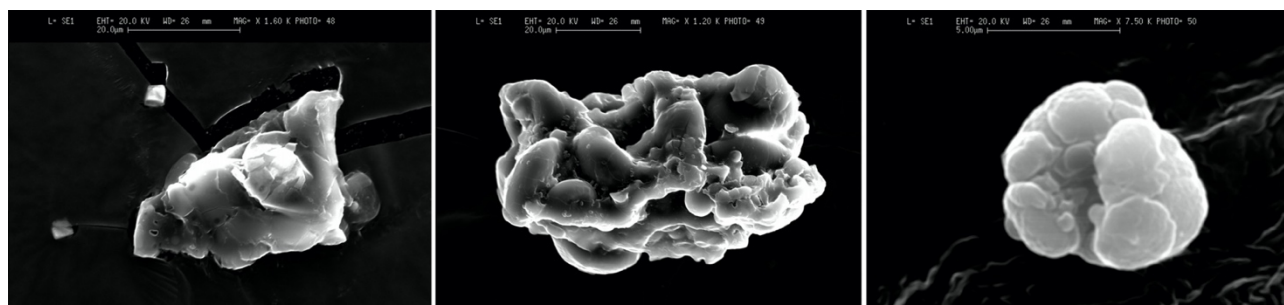


Figura 3.3.12 Immagine dei tre materiali organici trovati sulla cute del panettiere, a destra quello composto da oggetti sferici aggregati.

I campioni della stalla erano caratterizzati dalla presenza di cloro, titanio, manganese, cromo, rame, bario e zinco. I campioni di cute coperta presentavano una frequenza relativamente alta di cloro (oltre il 30%) e occasionalmente di titanio, cromo, rame, bario e zirconio e zinco (Figura 3.3.13).

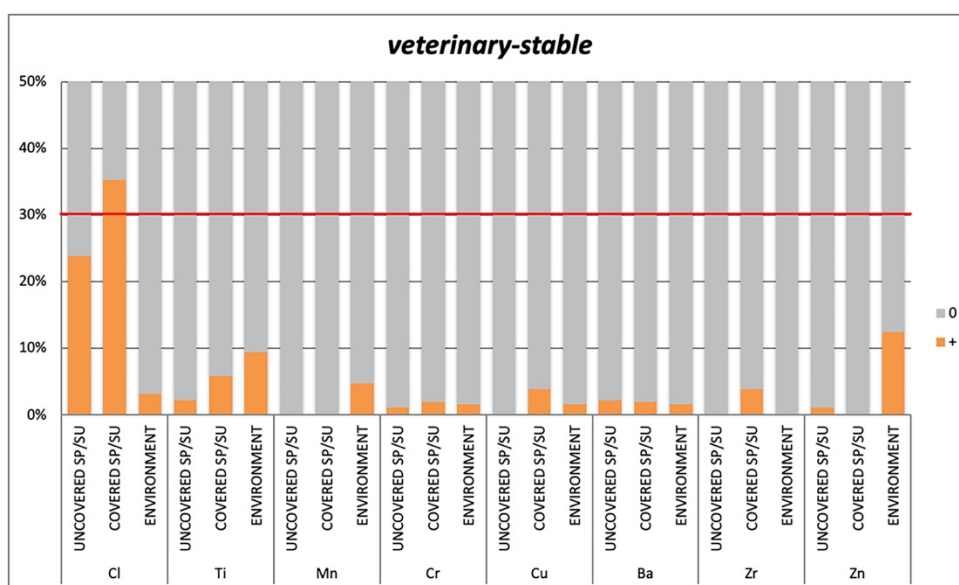


Figura 3.3.13 Istogramma che rappresenta la frequenza degli elementi sulla pelle coperta e scoperta del veterinario e nel relativo ambiente

Da un punto di vista morfologico, questo ambiente era ricco di materiale di varia natura; tuttavia, solo una fibra sintetica e aggregati organici non meglio definiti sono stati osservati sui campioni di cute (Figura 3.3.14, 3.3.15).

VETERINARIO E STALLA		
Cute scoperta	Cute coperta	Ambiente
/	/	1 frammento di legno
/	/	Numerose formazioni pilifere
/	/	1 campione di materiale entomologico
/	/	Numerosi funghi e batteri
1 fibra sintetica	/	/
Aggregato di materiale organico	aggregato di materiale organico	/

Figura 3.3.14 Tabella degli elementi rinvenuti con l'analisi morfologica sui campioni di cute del veterinario e su quelli del relativo ambiente

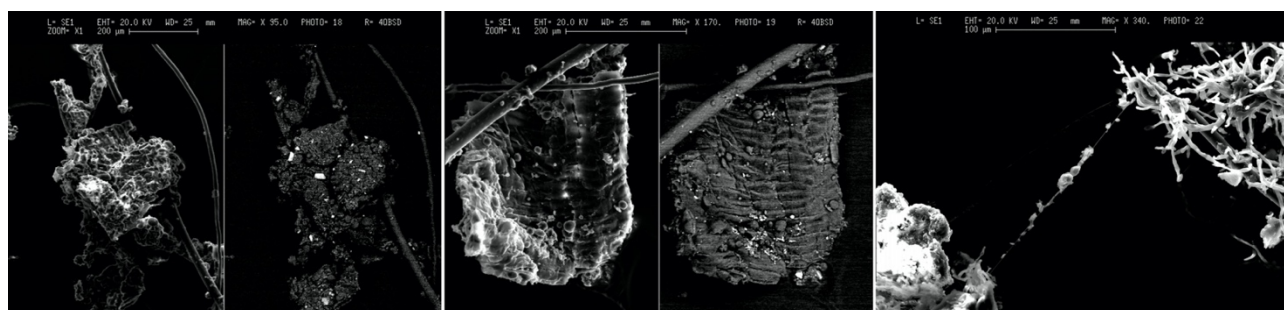


Figura 3.3.15 Materiale organico rinvenuto nella stalla: a sinistra un frammento di legno con capelli e altri componenti organici, al centro oggetti di natura entomologica, a destra funghi e batteri.

I campioni della fonderia erano caratterizzati dalla presenza di cloro, titanio, manganese, cromo, bario, antimonio e un'alta frequenza di rame e zinco (più del 50%). I medesimi elementi, con la sola eccezione dell'antimonio, erano presenti sulla cute. Lo zinco era presente con una frequenza relativamente alta (oltre il 30%) sulla cute scoperta. Il bario era presente solo sulla pelle coperta (Figura 3.3.16).

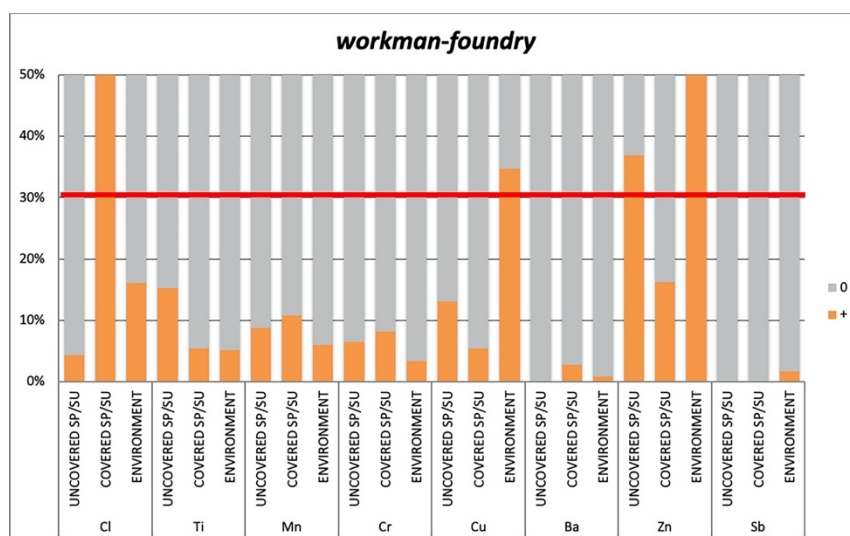


Figura 3.3.16 Istogramma che rappresenta la frequenza degli elementi sulla pelle coperta e scoperta dell'operaio e nel relativo ambiente

L'ambiente della fonderia non presentava particelle morfologicamente caratterizzanti tranne una sfera di antimonio (Figura 12). Nessuna particella di interesse è stata osservata sui relativi campioni di cute (Figura 3.3.17, 3.3.18).

OPERAIO E FONDERIA		
<i>Cute scoperta</i>	<i>Cute coperta</i>	<i>Ambiente</i>
/	/	Sfere di antimonio
/	/	Aggregate di zinco

Figura 3.3.17 Tabella degli elementi rinvenuti con l'analisi morfologica sui campioni di cute dell'operaio e su quelli del relativo ambiente

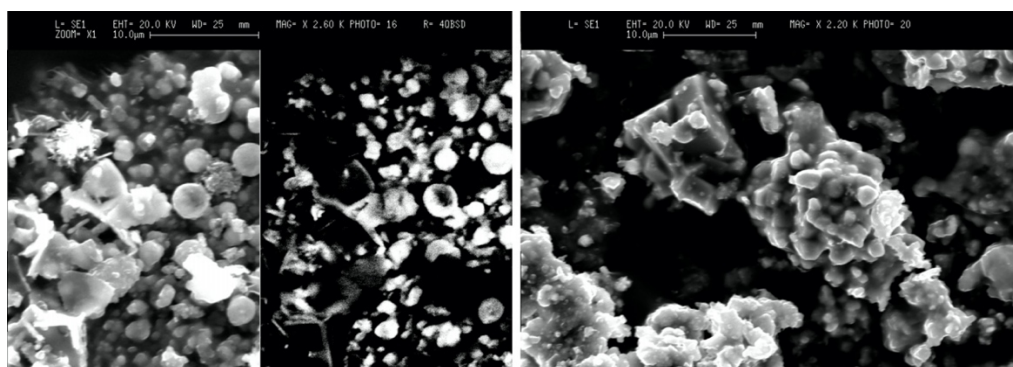


Figura 3.3.18 A sinistra le sfere di antimonio, a destra aggregato di zinco provenienti dall'ambiente fonderia.

I campioni dell'ospedale erano caratterizzati da alte frequenze di silicio e dalla presenza di cloro, titanio, manganese, cromo, rame, zirconio e argento; di questi, i primi tre erano presenti anche in campioni di pelle coperta e scoperta. In aggiunta a questi, la pelle coperta presentava manganese, rame, bario e argento mentre i campioni scoperti presentavano bismuto (Figura 3.3.19).

I campioni dell'ospedale presentavano diversi oggetti morfologicamente caratterizzati di natura organica e inorganica. Tuttavia, i relativi campioni di cute non presentavano materiale di interesse dal punto di vista morfologico (Figura 3.3.20, 3.3.21).

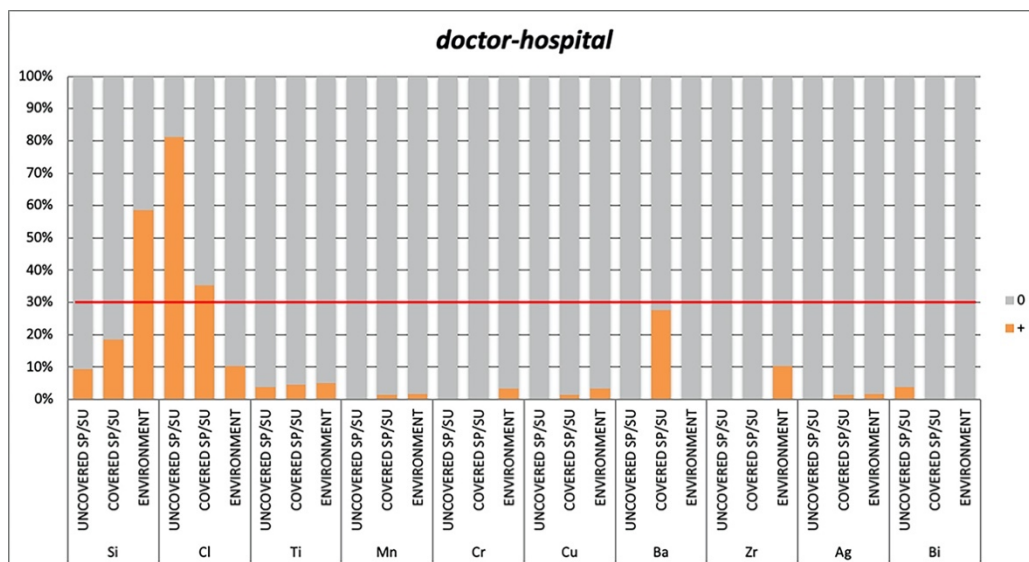


Figura 3.3.19 Istogramma che rappresenta la frequenza degli elementi sulla pelle coperta e scoperta del medico e nel relativo ambiente

MEDICO E OSPEDALE

Cute scoperta	Cute coperta	Ambiente
/	/	1 aggregati sferici composti da Na, Al, Si, S, K, Ca, F
/	/	1 fibra naturale
/	/	2 aggregati di materiale organico

Figura 3.3.20 Tabella degli elementi rinvenuti con l'analisi morfologica sui campioni di cute del medico e su quelli del relativo ambiente

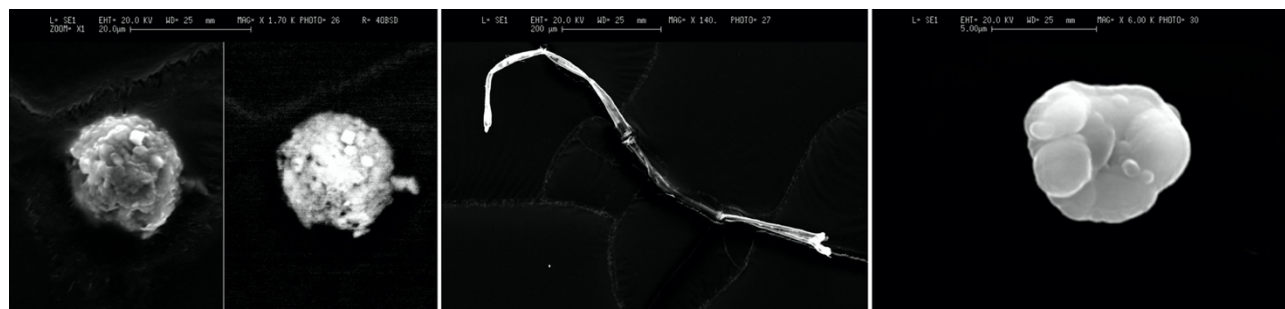


Figura 3.3.21 A sinistra aggregato sferico composto da Na, Al, Si, S, K, Ca, F, una singola fibra naturale al centro e una struttura organica fatta di oggetti sferici aggregati a destra, tutti provenienti dall'ospedale.

I campioni dell'officina meccanica erano caratterizzati da alte frequenze di ferro (oltre il 50%) e dalla presenza di cloro, titanio, manganese, rame e bario. La cute coperta e scoperta presentava anch'essa alte frequenze di ferro oltre a cloro, manganese, rame e zinco e occasionalmente titanio e bario (Figura 3.3.22). Nei campioni dell'ambiente inoltre era presente una sfera di ferro la cui morfologia era tipica dei residui di saldatura; tuttavia, niente di simile è stato osservato sui campioni di cute ma solo una fibra organica sui campioni di cute scoperta (Figura 3.3.23, 3.3.24).

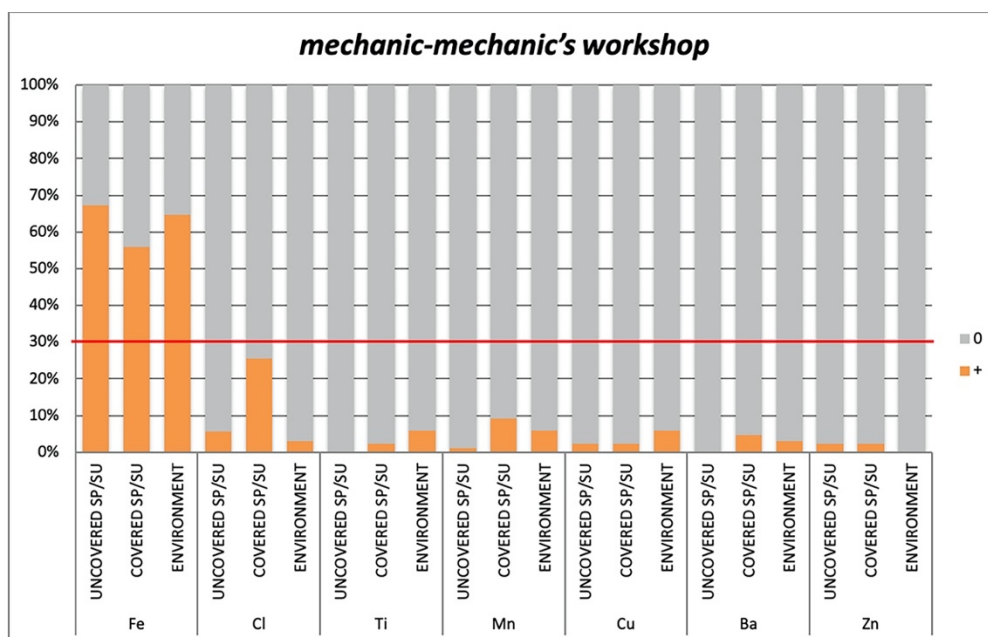


Figura 3.3.22 Istogramma che rappresenta la frequenza degli elementi sulla pelle coperta e scoperta del meccanico e nel relativo ambiente

MECHANIC AND MECHANIC'S WORKSHOP		
<i>Uncovered skin</i>	<i>Covered skin</i>	<i>Environment</i>
/	/	1 sfera di Fe
1 fibra organica	/	/

Figura 3.3.23 Tabella degli elementi rinvenuti con l'analisi morfologica sui campioni di cute del meccanico e su quelli del relativo ambiente



Figura 3.3.24 Sfera di ferro, a sinistra e fibra organica a destra.

Fase 2: il cadavere

Le analisi effettuate sui campioni di pelle coperta e scoperta provenienti dai 16 soggetti rinvenuti in autunno/inverno, hanno mostrato che sodio, magnesio, alluminio, silicio, zolfo, potassio, calcio e ferro sono gli elementi più comuni, presenti in oltre l'80% delle analisi. La variazione di frequenza tra campioni di pelle scoperta e coperta non è risultata significativa (Figura 3.3.25).

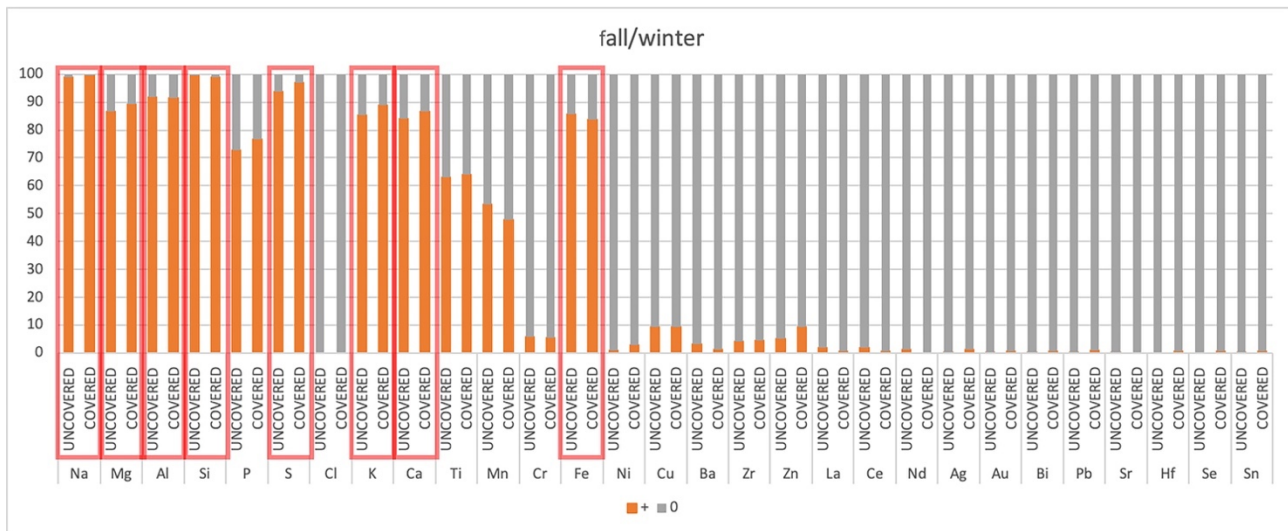


Figura 3.3.25 Istogramma delle frequenze degli elementi presenti sulla pelle scoperta e coperta dei 16 soggetti rinvenuti in autunno/inverno.

Per quanto riguarda la componente organica, sono stati identificati circa 10 tra formazioni pilifere e fibre distribuiti su tre soggetti, una particella metallica sferica e solo una possibile spora (N.14) trovata sulla cute di un individuo rinvenuto in un ambiente aperto naturale (il cortile di un ospedale).

I medesimi elementi comuni osservati sui soggetti della stagione autunno/inverno sono stati osservati in quelli rinvenuti in primavera/estate, con la sola aggiunta del fosforo. In questo caso, tuttavia, gli elementi ubiquitari hanno sempre mostrato una frequenza media maggiore sulla cute esposta rispetto a quella coperta (Figura 3.3.26).

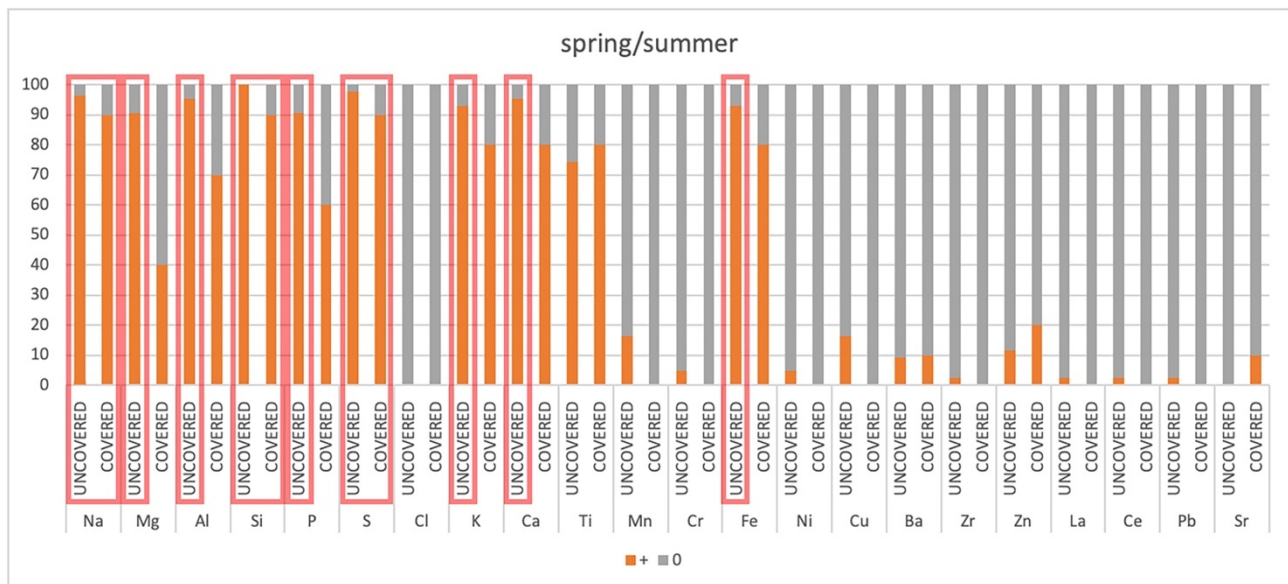


Figura 3.3.26 Istogramma delle frequenze degli elementi presenti sulla pelle scoperta e coperta degli 8 soggetti rinvenuti in primavera/estate.

Inoltre, per quanto riguarda la componente organica, 13 spore e un granulo di polline sono stati osservati sui campioni di quattro soggetti rinvenuti in primavera/estate; di questi, tre soggetti sono stati trovati in un ambiente aperto (N. 3, 5, 6) e uno in una cantina (N.II). Inoltre, fibre di diversa

morfologia, alcune delle quali di origine naturale, sono state trovate nei campioni di un singolo soggetto.

3.3.1.3 Discussione

I risultati di entrambe le fasi dello studio sembrano concordare nell'identificare un pool di elementi chimici ubiquitari, una sorta di "rumore di fondo", presenti sulla cute coperta e scoperta indipendentemente dal luogo del rinvenimento e dalle modalità della morte; elementi la cui presenza, avulsa da un dato di abbondanza e frequenza, non è in grado di fornire utili informazioni sull'ambiente d'origine.

L'ubiquità di questi elementi può trovare spiegazione nel fatto che una parte di essi appartiene alla schiera dei componenti principali della crosta terrestre (Na, Mg, Al, Si, K, Ca, Fe), mentre gli altri (P, S) appartengono al gruppo dei principali elementi che costituiscono gli organismi viventi (Carpinteri e Manuello, 2011; Hartl, 2011).

Da un punto di vista morfologico, invece, non sono stati identificati materiali ubiquitari.

La fase uno ha anche dimostrato che la cute coperta è spesso contaminata dagli stessi elementi chimici presenti nell'ambiente di provenienza e/o sulla cute scoperta, il che sembra suggerire che i vestiti non siano in grado di prevenire questa contaminazione. Questa spiegazione non si può applicare al cloro che si è dimostrato sempre presente e più abbondante sulla cute coperta, rispetto a quella scoperta e all'ambiente associato. Ciò può essere spiegato con la perdita di cloro attraverso la sudorazione (in forma di sale, come cloruro) e quindi con la sua principale origine endogena (Robinson e Robinson, 1954). Per quanto riguarda i contaminanti organici, non è stato possibile condurre analoghe osservazioni a causa del basso numero di elementi rinvenuti.

La fase sul vivente ha anche dimostrato come non vi sia sempre una corrispondenza tra i residui organici e inorganici nell'ambiente e i residui sulla cute. Tuttavia, è stato altresì possibile identificare alcuni elementi chimici caratteristici per via della loro alta frequenza in determinati ambienti e sulla cute dei relativi lavoratori. Infatti, considerando gli elementi presenti con una frequenza di almeno il 30% nelle analisi dei campioni ambientali e di cute scoperta, è possibile osservare che il calcio caratterizza il negozio di fiori e il fioraio, così come la panetteria e il fornaio; lo zinco caratterizza la fonderia e l'operaio, e il ferro l'officina e il meccanico. I nostri risultati suggeriscono quindi che gli ambienti con alte quantità di elementi particolari, soprattutto se metallici (ferro e zinco), lasciano tracce riconoscibili sulla cute. Qualcosa di simile sembra accadere anche per i materiali organici, è il caso della osservata compatibilità tra il particolato organico nel negozio di fiori e quello sulla cute del fiorista.

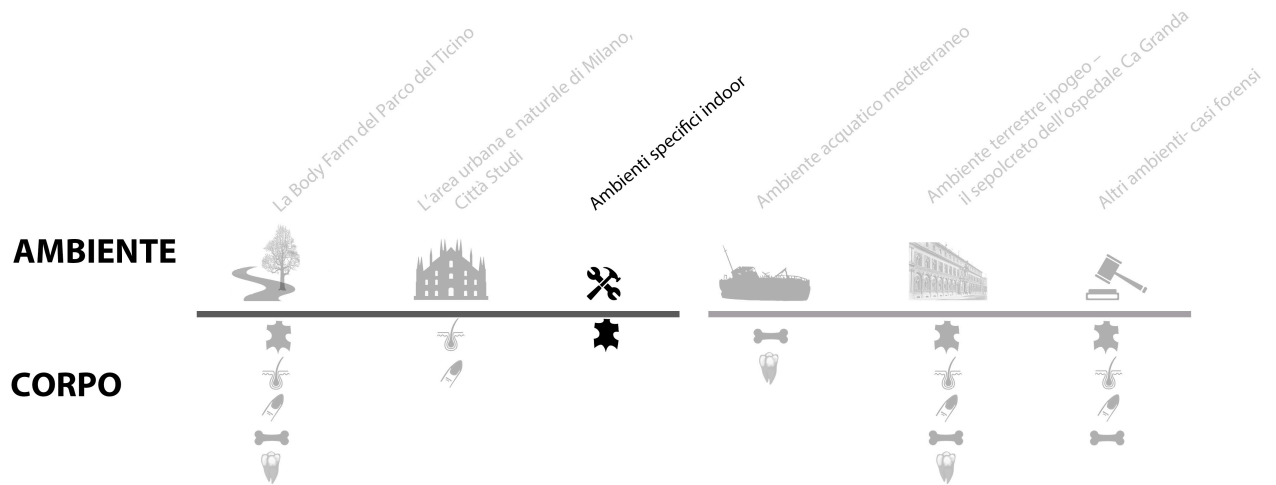
Dal punto di vista qualitativo, invece, solo l'ospedale e il corrispondente lavoratore condividono un elemento chimico, l'argento, assente in tutte le analisi effettuate in ambienti e su lavoratori diversi.

Infine, considerando i materiali organici della fase 2 che disponeva di due set di campioni con differenze sia in termini di ambienti di provenienza dei corpi che di stagione di rinvenimento, si osserva una maggiore presenza di polline e spore nei campioni della primavera/estate rispetto a quelli della serie autunno/inverno. Ciò risulta coerente con il fattore stagionale. Tornando a considerare i risultati della Fase 1, la scarsità di elementi come polline e spore anche in contesti in cui questo tipo di evidenze sarebbero attese, quali il fiorista, può essere giustificata da fattori stagionali ma anche dal fatto che si tratti in ogni caso di ambienti interni quindi meno soggetti alla propagazione di tali strutture mancando i loro vettori quali vento o insetti; tuttavia, non essendo stata fatta un'identificazione, non è opportuno azzardare ipotesi più specifiche.

Infine, sia la fase 1 che la fase 2 hanno dimostrato l'efficacia del campionamento tramite *stub* in grafite (come tipicamente utilizzato per il campionamento dei residui di sparo) per la raccolta di micro particolato organico e inorganico, senza che si evidenzi un effetto significativo dato dalle differenze tra cute vitale e non vitale. Quest'ultima, infatti, va incontro a fenomeni trasformativi fin dai primi intervalli post mortali quali: perdita di elasticità, variazioni di colore fino alla separazione dello strato epidermico dal derma (Shedge et al., 2020; AMBOSS, 2020); tuttavia, nessuno di questi fenomeni sembra inficiare il campionamento tramite *stub*.

3.3 Ambienti specifici indoor

3.3.2 Micro tracce inorganiche e organiche su cute di maiale



L'indagine si poneva i seguenti obiettivi:

- valutare la presenza e le caratteristiche di micro particolato organico o inorganico presente su cute proveniente da ambienti specifici indoor
- Valutare l'effetto di variabili quali: contatto vs esposizione, presenza e assenza di peli sul particolato raccolto dalla cute
- valutare il potenziale effetto distruttivo, che sulla traccia e sulla cute può avere il fattore tempo.
- Previa applicazione di diverse tecniche di indagine, delineare un possibile protocollo per questo tipo di tracce su cute

3.3.2.1 Materiali e metodi

Il corpo

Come sostituto della cute umana è stato selezionato un lembo di cute di maiale di 90 x 70 cm, tale scelta, anche in questo caso è stata giustificata dalla già citata somiglianza con la cute umana (Summerfield et al., 2015). La cute è stata ottenuta da un animale morto per cause non correlate a questo studio e, subito dopo il recupero, conservata in un congelatore a -20 °C. Metà della sua superficie è stata rasata. L'intero campione è stato accuratamente sciacquato con acqua e poi tagliato così da ottenere quadrati di 3 x 3 cm. Un quadrato di cute con pelo e uno senza peli sono stati utilizzati come campioni di controllo negativo e sono stati sottoposti alle stesse analisi previste per lo studio degli altri campioni senza però essere esposti in ambiente. In ogni ambiente sperimentale, sono stati eseguiti due *stub* di controllo in grafite, uno esposto e uno a contatto diretto, poi analizzati in microscopia elettronica e spettroscopia (SEM-EDX).

L'ambiente

Per questo lavoro sono stati selezionati sei ambienti specifici: un fiorista, una panetteria, una falegnameria, una torneria, un baule di un'auto e un cantiere.

Per ogni ambiente, due quadrati di cute sono stati messi a contatto con una superficie per 30 secondi mentre gli altri due sono stati esposti all'aria per 4 ore: in ogni coppia, uno quadrato di cute non rasato (H+), mentre l'altro rasato (H-). I quattro campioni di cute, dopo l'esposizione sono stati conservati in scatole di plastica sigillate, nel tentativo di minimizzare la contaminazione esogena prima dell'analisi e refrigerati a -20°C. I campioni sono stati studiati immediatamente dopo la rimozione dall'ambiente (Tempo 0), dopo 1 giorno (Tempo 1), dopo 1 settimana (Tempo 2), dopo 2 settimane (Tempo 3), e dopo 1 mese (Tempo 4). Il numero di campioni per ambiente era quindi di quattro per ciascuno dei cinque tempi per un totale di venti campioni, per un totale di 122 campioni complessivi, 120 esposti e due di controllo. Ogni campione, compresi i due controlli negativi, è stato sottoposto a quattro processi analitici successivi:

- osservazione a occhio nudo
- osservazione al microscopio episcopico (Leica Wild Heerbrugg Op Mikroskop M650)
- analisi spettroscopica XRF diretta sulla cute (Lithos System)
- analisi morfologica e spettroscopica SEM-EDX mediante campionamento sulla cute del particolato con nastro in grafite (Cambridge Stereoscan 360)

Tecniche analitiche

Tutti gli elementi trovati, con le diverse tecniche, nei campioni di controllo dei sei ambienti testati, sono stati valutati assegnando a ciascuno un valore da 0 a 5. Questo valore rappresenta il loro "peso" in base alla specificità ed è stato calcolato sottraendo da 6, numero totale di ambienti, un punto per ogni ambiente che condivide un determinato elemento (ad esempio per l'elemento Fe, ferro, se 3 dei 6 ambienti presentano ferro tra gli elementi presenti, il punteggio del ferro sarà di 3 indicante un "peso" medio mentre se solo un ambiente su 6 presenterà questo elemento il suo peso punteggio sarà di 5 indicante un "peso" maggiore). In questo modo, il punteggio di ogni ambiente è stato calcolato sia per gli elementi morfologici che per quelli chimici, un punteggio più alto sarà quindi dato agli ambienti e ai campioni con un numero maggiore di elementi e/o con un numero elevato di elementi esclusivi.

I punteggi totali vogliono quindi rappresentare l'ambiente nell'insieme del particolato che lo caratterizza, in questo modo in base a quali elementi sono stati identificati con le diverse tecniche nei

diversi ambienti è stato possibile attribuire un punteggio ad ogni campione. Il grado di coerenza tra il campione e il suo ambiente di provenienza sarà dato dalla loro somiglianza sia in termini di valori totali che di valori parziali. Con lo stesso criterio sono stati attribuiti dei punteggi agli elementi non presenti nell'ambiente di origine, considerati quindi come contaminanti. In questo caso, la rarità dell'elemento è stata considerata un fattore negativo perché più il contaminante è ubiquitario, meno sarà fuorviante per l'interpretazione futura.

3.3.2.2 Risultati

L'analisi eseguita nei diversi ambienti direttamente sui due *stub* di grafite di controllo negativo, senza includere il fattore cute, è stata utilizzata per delineare gli ambienti testati da un punto di vista morfologico e chimico. Sulla base di questi risultati, sono stati identificati gli elementi caratteristici di ogni ambiente.

La tabella sottostante (Figura 3.3.27) mostra i punteggi attribuiti, in base al criterio sopra esposto, a tutti gli elementi trovati durante la ricerca sia in qualità di elementi propri che di contaminanti.

ELEMENTI PROPRI				CONTAMINANTI			
Elementi morfologici	valore	Elementi chimici	valore	Elementi morfologici	valore	Elementi chimici	valore
		Fe	4	capelli	3	Fe	2
Fibre sintetiche	4	Ca	2	fibre	0	Ca	4
				Frammenti scuri	0	P	5
Particelle sferiche single o aggregate	5	Mg	4	Frammenti rosa/frammenti azzurri	4	Mg	2
trucioli	5	Si	2	Frammenti metallici	4	Si	4
Trucioli metallici	5			Trucioli metallici	5	Ti	5
Materiale organico	3	Cu	5	Materiale organico	2	Cu	4
Trucioli in legno	5			Frammenti di foglie	4	Zn	3
Fusti vegetali	4			Fusti vegetali	4	Pb	5
Elementi botanici	4	K	4	Elementi botanici	4	K	3
Pollini/spore	5			spore	5	Ni	5
diatomee	5	Al	3	Funghi-ife fungine	5	Al	4
alghe	5			batteri	5	Ba	4
suolo	4	S	4	suolo	3	S	5
Materiale sintetico	5			Resine o colle	5	Sn	5
Particelle singole e aggregate	1	Na	3	Particelle singole e aggregate	2	Na	4
		Cr	4			Cr	5
		Au	4				
		Cl	3				

Figura 3.3.27 Tabella dei punteggi attribuiti in base all'esclusività di ciascun particolato in qualità di contaminante o elemento proprio

Gli elementi che caratterizzano i diversi ambienti sono indicati nella tabella sottostante (Figura 3.3.28).

AMBIENTE	Elementi morfologici	tot	Elementi chimici	tot
fiorista	Fibre sintetiche, polline, spore, diatomee, aggregate di particelle, trucioli, alghe, altri elementi botanici	34	Fe, Si, S, Al, Ca, Mg, Na, Au, K, Cu, Cr	39
panetteria	Particelle sferiche bianche singole o aggregate, materiale organico	8	Na, Cl	6
falegnameria	Trucioli in legno, fusti di piante singoli o aggregati, suolo, aggregati di particelle	14	Ca, Si, Al, Na, Cl	13
torneria	Trucioli metallici, particelle singole o aggregate	6	Fe, Cr, Au	12
bagagliaio	Fibre sintetiche, aggregate di particelle, materiale organici, materiali sintetici	13	Cl, Ca, K, Si, Al	14
cantiere	particelle singole o aggregate, materiale organico, suolo	8	Ca, S, Mg, Si	12

Figura 3.3.28 Tabella dei punteggi totali attribuiti a ciascun ambiente in base all'esclusività di ciascun oggetto in esso presente

I risultati delle analisi effettuate con le varie tecniche sui campioni di cute sono illustrati nei paragrafi seguenti:

Osservazione macroscopica ad occhio nudo

I campioni di controllo non presentavano alcun contaminante sulla loro superficie.

Più del 90% dei campioni posti a contatto presentano elementi macroscopicamente visibili a T0, più dell'80% a T1, T2, T3, e il 75% a T4. Al contrario, i campioni esposti mostravano una contaminazione macroscopica in circa il 30% dei casi (T0, T1, T2, T3). Questa percentuale è salita a oltre il 40 a T4. Il falegname e il cantiere sono stati gli unici due ambienti i cui campioni non hanno mostrato differenze tra quelli a contatto e quelli esposti.

L'ambiente del fiorista, uno dei più ricchi di elementi e di conseguenza uno di quelli con il punteggio totale più alto, ha ottenuto solo 4 punti su 34. Sui campioni sono state trovate esclusivamente fibre, un elemento proprio di quell'ambiente ma non esclusivo. Il panettiere ha ottenuto 5 punti su 8 totali, infatti è stata osservata abbondante polvere bianca esclusiva di tale ambiente, non sono stati osservati invece elementi organici. Simile il caso del falegname, dove i campioni hanno mostrato abbondanti trucioli di legno, esclusivi di tale ambiente mentre non sono stati trovati elementi presenti nell'ambiente pur se meno caratteristici come fusti vegetali e particolato aspecifico. I campioni dal bagagliaio mostrano solo fibre al tempo 0, elemento proprio ma non esclusivo di questo ambiente. Ad eccezione di quest'ultimo set di campioni, gli altri hanno mostrato una situazione stabile durante tutta la sperimentazione.

In tutti i casi, fatta eccezione per alcuni capelli/peli rinvenuti nel campione di cute del fiorista, tutti gli altri elementi trovati erano coerenti con quelli presenti nei campioni di controllo dei relativi ambienti.

La presenza e l'assenza di peli sulla cute non ha comportato grandi differenze in termini di contaminanti visibili (Figura 3.3.29, 3.3.30).

	T0				T1				T2				T3				T4			
	H+C	H-C	H+E	H-E	H+C	H-C	H+E	H-E	H+C	H-C	H+E	H-E	H+C	H-C	H+E	H-E	H+C	H-C	H+E	H-E
florist value	4	0	0	0	4	0	0	0	4	0	0	0	4	0	0	0	0	4	4	0
florist contaminants	0	-5	0	0	0	-5	0	0	0	-5	0	0	0	-5	0	0	0	0	0	0
florist tot	34	34	34	34	34	34	34	34	34	34	34	34	34	34	34	34	34	34	34	34
bakery value	5	5	0	0	5	5	0	0	5	5	0	0	5	5	0	0	5	5	0	0
bakery tot	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8
carpentry value	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
carpentry tot	14	14	14	14	14	14	14	14	14	14	14	14	14	14	14	14	14	14	14	14
turning factory value	5	5	0	0	5	5	0	0	5	5	0	0	5	5	0	0	5	5	0	0
turning factory tot	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
trunk value	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
trunk tot	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13
construction site value	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
construction site tot	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8

Figura 3.3.29 Tabella dei punteggi ottenuti dall'osservazione macroscopica del particolato osservato sui campioni di cute distinti in propri (es florist value) e contaminanti (es florist contaminants), rapportati al punteggio ottenuto dal campione di controllo dell'ambiente (es florist tot)

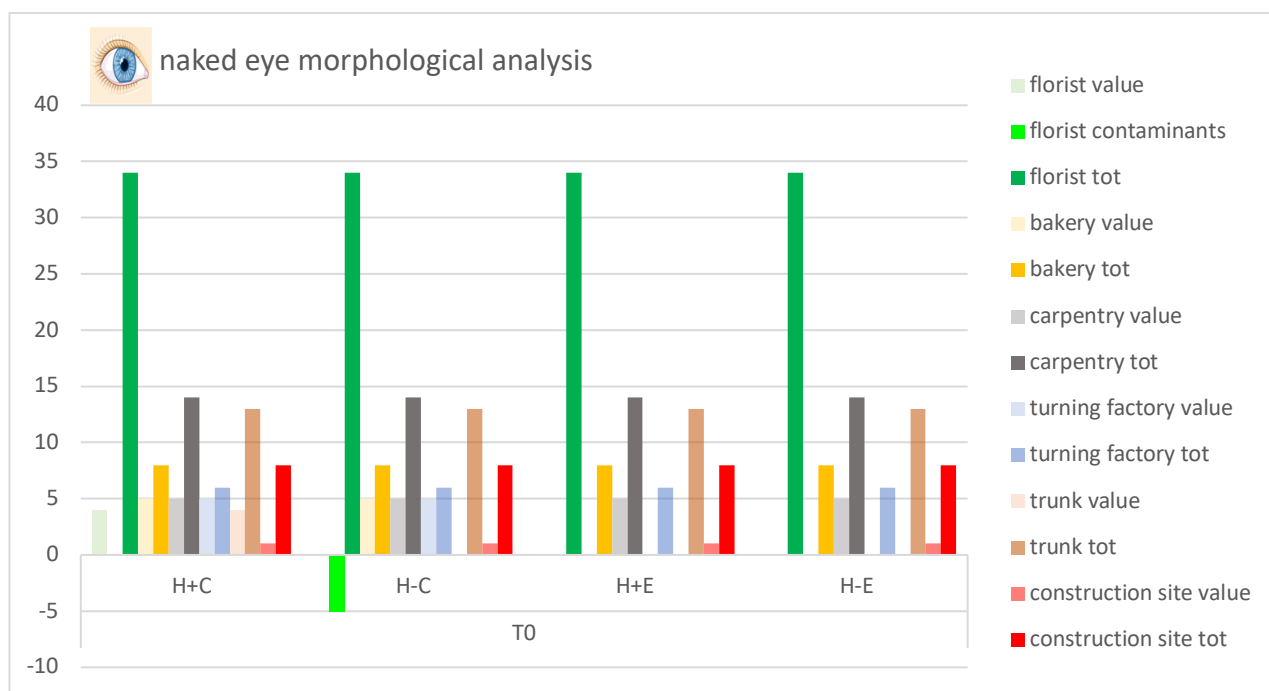


Figura 3.3.30 Istogramma dei punteggi ottenuti dall'osservazione macroscopica dei campioni di cute rapportato a quello ottenuto dal campione di controllo dell'ambiente al tempo 0

Le tracce osservate sui campioni di cute non sembrano aver subito alcuna alterazione qualitativa nel corso dei trenta giorni di sperimentazione. Si è osservato invece che i campioni di cute hanno subito due modifiche macroscopiche: l'essiccazione centripeta e la comparsa di un film di materiale untuoso superficiale.

Osservazione mediante microscopio episcopico

I campioni di controllo negativi non presentavano alcun contaminante sulla loro superficie. Tutti i campioni a contatto presentavano elementi visibili a partire da T0 con la sola eccezione del campione con peli proveniente dal bagagliaio. I campioni esposti hanno mostrato elementi propri in

oltre il 90% dei casi al T0, in oltre l'80% al T1, in oltre il 60% al T2, in oltre il 40% al T3, e in circa il 60% al T4. Il falegname e il cantiere sono gli unici due ambienti i cui campioni non hanno mostrato differenze tra i campioni a contatto e quelli esposti. I punteggi relativi agli elementi propri attribuiti ai campioni erano simili a quelli ottenuti dall'osservazione a occhio nudo, tuttavia, con l'ausilio del microscopio episcopico nell'osservazione, un numero maggiore di campioni ha mostrato elementi visibili. Con la presente tecnica, molti elementi aspecifici (incoerenti con il controllo) sono stati osservati nei campioni di fiorista, falegnameria e bagagliaio, a partire da T0 (capelli, frammento scuro e fibre). In tutti i casi, tuttavia questi elementi impropri non sono mai risultati come contaminanti esclusivi di un solo ambiente. La presenza e l'assenza di pali non ha comportato grandi differenze in termini di contaminanti visibili (Figura 3.3.31, 3.3.32).


	T0				T1				T2				T3				T4			
	H+C	H-C	H+E	H-E	H+C	H-C	H+E	H-E	H+C	H-C	H+E	H-E	H+C	H-C	H+E	H-E	H+C	H-C	H+E	H-E
florist value	4	4	4	4	8	4	4	0	0	4	0	0	4	4	0	4	4	4	4	4
florist contaminants	0	-3	0	0	0	0	0	0	0	-3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
florist tot	34	34	34	34	34	34	34	34	34	34	34	34	34	34	34	34	34	34	34	34
bakery value	5	5	0	0	5	5	0	0	5	5	0	0	5	5	0	0	5	5	0	0
bakery contaminants	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
bakery tot	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8
carpentry value	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
carpentry contaminants	-4	0	0	0	-4	0	-3	0	0	0	-4	0	-5	0	0	0	0	0	0	0
carpentry tot	14	14	14	14	14	14	14	14	14	14	14	14	14	14	14	14	14	14	14	14
turning factory value	5	5	0	0	5	5	0	0	5	5	0	0	5	5	0	0	5	5	0	0
turning factory contaminants	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
turning factory tot	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
trunk value	0	4	0	0	4	4	0	4	4	4	4	4	4	4	0	0	4	4	4	0
trunk contaminants	-4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-4	0	0	0	-4	0	0
trunk tot	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13
construction site value	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
construction site contaminants	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
construction site tot	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8

Figura 3.3.31 Tabella dei punteggi ottenuti dall'osservazione in microscopia episcopica del particolato osservato sui campioni di cute distinti in propri (es florist value) e contaminanti (es florist contaminants), rapportati al punteggio ottenuto dal campione di controllo dell'ambiente (es florist tot)

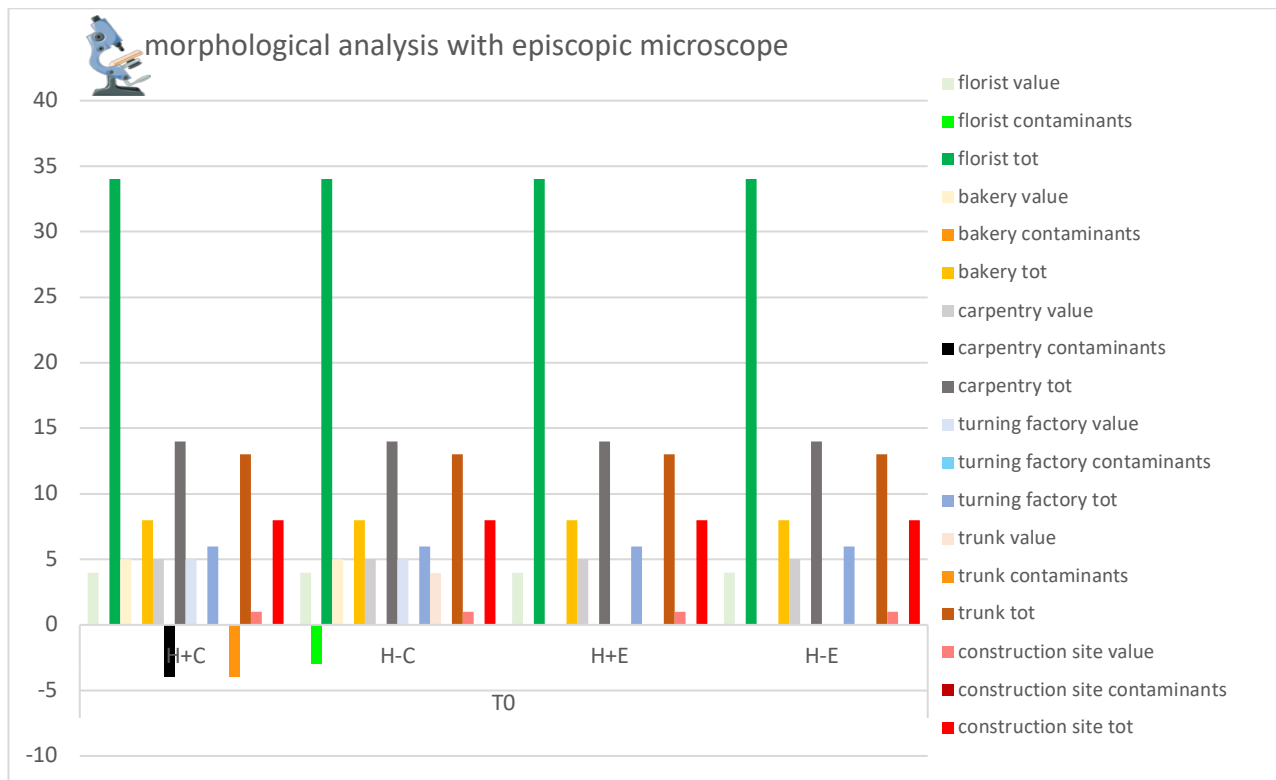


Figura 3.3.32 Istogramma dei punteggi ottenuti dall'osservazione in microscopia episcopica dei campioni di cute rapportato a quello ottenuto dal campione di controllo dell'ambiente al tempo 0

La conservazione delle caratteristiche qualitative dei contaminanti, l'essiccazione centripeta dei quadrati di cute e la comparsa di una pellicola untuosa superficiale sono state confermate anche con questa tecnica di analisi.

Analisi spettroscopica XRF

I controlli sono risultati privi di elementi chimici.

Molti campioni, soprattutto ma non esclusivamente tra quelli posti a contatto, non hanno mostrato alcun tipo di elementi; questo è particolarmente evidente sui campioni provenienti da fioristi e panetteria. Gli elementi, quando presenti, erano scarsi e spesso poco specifici, come evidenziato dai bassi punteggi della tabella. L'unica eccezione era rappresentata dai campioni provenienti dalla torneria, in questi campioni il ferro era quasi sempre presente. Al contrario, gli elementi impropri erano abbondanti e il loro punteggio superava spesso quello degli elementi propri, in particolare in falegnameria, cantiere e torneria.

La presenza e l'assenza di peli non ha comportato grandi differenze in termini di elementi chimici identificabili (Figura 3.3.33, 3.3.34).

XRF	T0				T1				T2				T3				T4			
	H+C	H-C	H+E	H-E	H+C	H-C	H+E	H-E	H+C	H-C	H+E	H-E	H+C	H-C	H+E	H-E	H+C	H-C	H+E	H-E
florist value	0	0	0	0	0	4	0	0	0	0	0	0	6	0	0	6	10	10	8	8
florist contaminants	0	0	0	0	-3	0	0	0	0	0	0	0	-3	0	0	-3	-3	-3	-3	-3
florist tot	39	39	39	39	39	39	39	39	39	39	39	39	39	39	39	39	39	39	39	39
bakery value	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
bakery contaminants	0	-4	0	-6	0	-4	0	-6	0	-4	0	-6	-9	-9	-9	0	-12	-8	-7	-10
bakery tot	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
carpentry value	2	2	0	2	2	2	0	2	2	0	0	2	0	2	2	2	2	2	0	2
carpentry contaminants	-14	-14	-3	0	-10	-5	-3	0	-5	-5	-3	0	-5	-17	-9	-5	-5	-13	0	-5
carpentry tot	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13
turning factory value	4	4	0	0	4	4	0	0	8	8	0	0	4	4	0	4	4	4	0	0
turning factory contaminants	-12	-12	0	0	-12	-12	0	0	-8	-8	0	0	-7	-4	0	-7	-3	-13	-7	0
turning factory tot	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
trunk value	2	0	0	0	2	0	0	0	2	0	0	0	0	2	2	0	4	0	0	2
trunk contaminants	-5	0	0	0	-5	0	0	0	-5	0	0	0	0	0	-3	0	-5	0	0	-5
trunk tot	14	14	14	14	14	14	14	14	14	14	14	14	14	14	14	14	14	14	14	14
construction site value	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	0	0	0	0	0	0
construction site contaminants	-2	-5	-5	-5	-2	-5	-5	-5	-2	-5	-5	-5	-2	-2	-9	-9	-9	-9	-9	-9
construction site tot	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12

Figura 3.3.33 Tabella dei punteggi ottenuti dall'analisi spettroscopica XRF del particolato osservato sui campioni di cute distinti in propri (es florist value) e contaminanti (es florist contaminants), rapportati al punteggio ottenuto dal campione di controllo dell'ambiente (es florist tot)

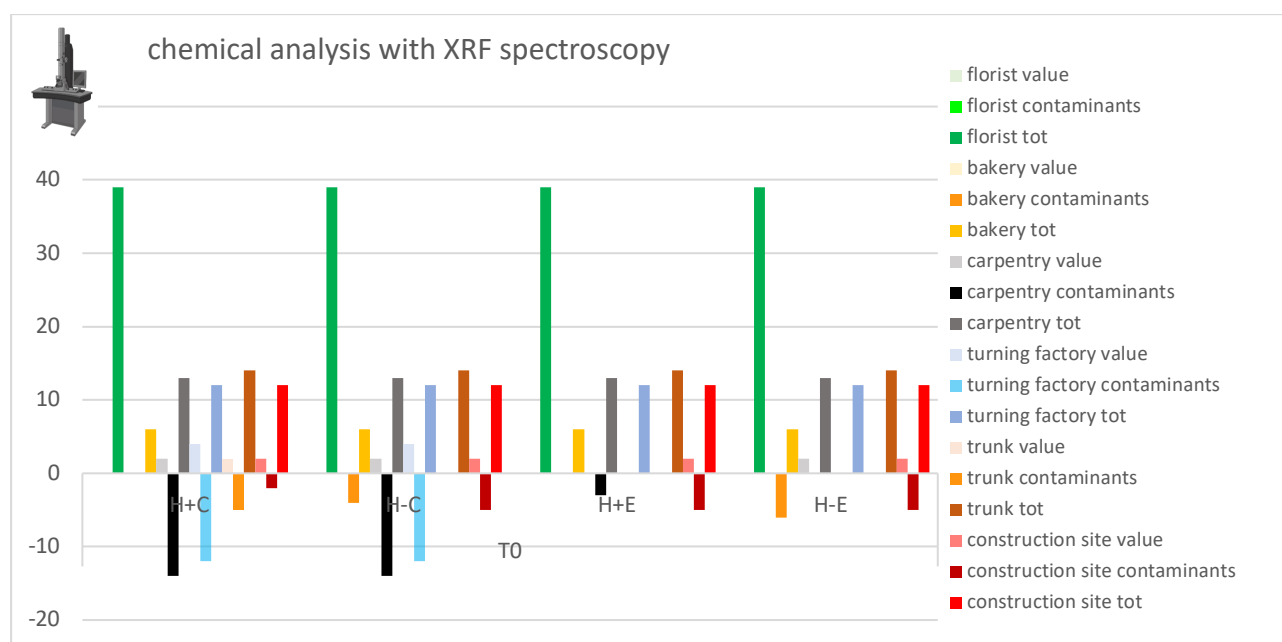


Figura 3.3.34 Istogramma dei punteggi ottenuti dall'analisi spettroscopica XRF dei campioni di cute rapportato a quello ottenuto dal campione di controllo dell'ambiente al tempo 0

L'analisi spettroscopica XRF non ha identificato alcun cambiamento significativo nei contaminanti a diversi intervalli di tempo.

Analisi morfologica e spettroscopica SEM-EDX

L'esame morfologico eseguito sui controlli negativi ha rivelato la presenza di materiale organico e botanico, sia sui campioni con peli che su quelli senza peli. L'analisi chimica (EDX), invece, non ha rilevato alcun contaminante.

Tutti i campioni a contatto, così come i campioni esposti in falegnameria, bagagliaio e cantiere, hanno mostrato elementi a tutti i tempi, da T0 a T4. Nei restanti ambienti, i campioni con particolato erano ancora oltre il 75%. Gli elementi propri erano abbondanti e specifici in quasi tutti i campioni, solo nel 17% dei campioni, il punteggio degli elementi contaminanti superava quello degli elementi propri. La presenza e l'assenza di peli non ha determinato differenze in termini di contaminanti identificabili (Figura 3.3.35, 3.3.36).

SEM-EDX	T0				T1				T2				T3				T4			
	H+C	H-C	H+E	H-E	H+C	H-C	H+E	H-E	H+C	H-C	H+E	H-E	H+C	H-C	H+E	H-E	H+C	H-C	H+E	H-E
florist value	19	4	21	8	9	0	0	8	4	15	4	2	4	8	8	4	0	4	0	4
florist contaminants	-2	-2	-2	-2	-2	-5	-2	-2	0	-2	-5	-2	-2	-2	-2	-2	-2	-2	-2	0
florist tot	73	73	73	73	73	73	73	73	73	73	73	73	73	73	73	73	73	73	73	73
bakery value	5	5	8	5	5	5	5	5	5	5	0	0	5	5	5	5	5	5	5	5
bakery contaminants	-3	-2	-2	-4	-4	-2	-11	-4	0	0	-6	-14	0	0	0	-4	0	0	0	0
bakery tot	14	14	14	14	14	14	14	14	14	14	14	14	14	14	14	14	14	14	14	14
carpentry value	5	5	14	7	7	9	5	7	5	5	8	12	5	9	11	7	5	5	5	5
carpentry contaminants	-19	-14	-3	0	-15	-2	-5	-2	-2	-2	-3	0	-2	-2	-2	-6	0	0	0	0
carpentry tot	27	27	27	27	27	27	27	27	27	27	27	27	27	27	27	27	27	27	27	27
turning factory value	10	10	9	9	9	10	10	5	0	9	0	0	13	13	9	1	9	10	0	0
turning factory contaminants	0	-4	0	-9	0	-4	-8	-8	-11	0	0	-2	-14	-12	0	-13	-4	0	-2	-6
turning factory tot	18	18	18	18	18	18	18	18	18	18	18	18	18	18	18	18	18	18	18	18
trunk value	4	11	16	12	11	9	7	7	4	4	5	7	4	10	3	4	0	7	3	4
trunk contaminants	-4	-12	-9	-3	0	0	0	0	-5	0	-4	0	-2	-6	0	0	-4	0	0	0
trunk tot	27	27	27	27	27	27	27	27	27	27	27	27	27	27	27	27	27	27	27	27
construction site value	7	5	13	1	5	5	9	7	9	8	5	7	6	7	5	9	11	9	9	13
construction site contaminants	-4	0	0	0	0	0	-7	0	0	0	-4	-4	0	0	-4	-4	0	-6	-6	-6
construction site tot	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20

Figura 3.3.35 Tabella dei punteggi ottenuti dall'analisi morfologica e spettroscopica (SEM-EDX) del particolato osservato sui campioni di cute distinti in propri (es florist value) e contaminanti (es florist contaminants), rapportati al punteggio ottenuto dal campione di controllo dell'ambiente (es florist tot)

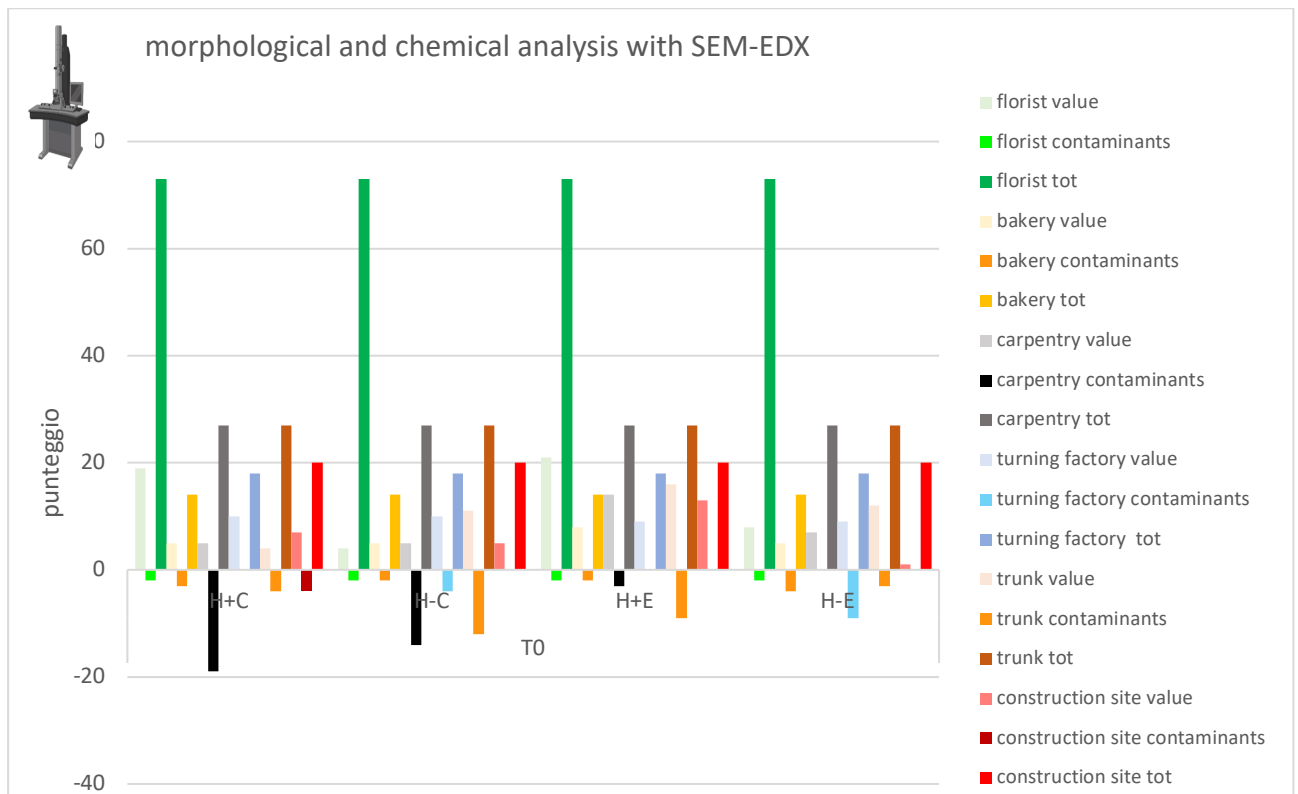


Figura 3.3.36 Istogramma dei punteggi ottenuti dall'analisi morfologica e spettroscopica (SEM-EDX) dei campioni di cute rapportato a quello ottenuto dal campione di controllo dell'ambiente al tempo 0

Come per le tecniche precedenti descritte, così anche l'analisi SEM-EDX non ha identificato alcun cambiamento significativo nella morfologia dei contaminanti a diversi intervalli di tempo.

L'istogramma sottostante (Figura 3.3.37) riassume i valori medi ottenuti dai 4 campioni (con peli, senza peli, a contatto ed esposti) di elementi propri e contaminanti per ogni tempo osservato con ciascuna delle quattro tecniche di indagine, confrontato con il valore totale ottenuto da ogni ambiente come somma dei punteggi di tutti gli elementi presenti sui relativi campioni di controllo.

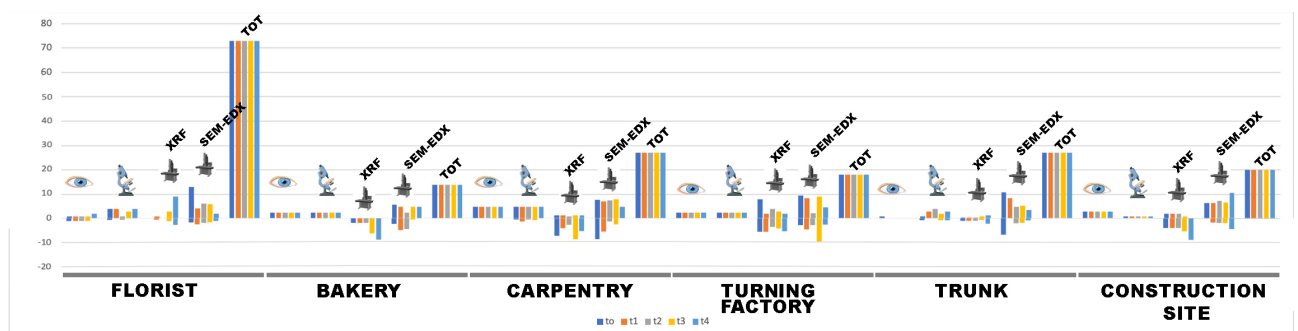


Figura 3.3.37 Istogramma riassuntivo dei punteggi ottenuti dall'analisi dei diversi campioni di cute e dell'ambiente con le diverse tecniche selezionate

Per quanto riguarda gli elementi propri, l'analisi a occhio nudo e quella con il microscopio episcopico hanno avuto lo stesso punteggio in quattro dei sei ambienti analizzati, nei restanti due, invece, il punteggio aumenta con l'osservazione a maggiore ingrandimento. L'analisi XRF, non paragonabile

alle tecniche precedenti in quanto fornisce solo un'analisi chimica, ha dato punteggi estremamente bassi in cinque dei sei ambienti mentre ha dato valori più alti nella torneria. Infine, l'analisi SEM-EDX ha dato i punteggi più alti per tutti gli ambienti.

Considerando invece i contaminanti, l'analisi ad occhio nudo e quella in microscopia episcopica hanno fornito risultati simili, addirittura il maggiore ingrandimento fornito dalla microscopia ha permesso in alcuni casi di osservare contaminanti diffusi o addirittura ubiquitari come le fibre particellari di colore scuro (valore 0 in quanto presenti in 6 ambienti su 6), non osservate in microscopia ottica. L'analisi XRF ha mostrato alti valori di contaminanti, se confrontati con i valori di elementi propri identificati, in tre dei sei ambienti: falegnameria, torneria e cantiere. Infine, l'analisi SEM-EDX ha mostrato valori di contaminanti simili o inferiori a quelli ottenuti dall'analisi degli elementi propri in tutti gli ambienti. Una chiara predominanza di elementi propri rispetto ai contaminanti era visibile nel fiorista, nel bagagliaio e nel cantiere.

3.3.2.3 Discussione

Con il presente studio, abbiamo ricreato sperimentalmente l'interazione tra pelle e ambiente per testare e confrontare quattro metodi conservativi di analisi delle tracce ambientali. L'obiettivo era quello di studiare la possibilità e il modo migliore per ottenere informazioni sull'ambiente di provenienza di una vittima di un crimine violento dai residui microscopici sulla sua pelle. La necessità è nata da alcuni casi di omicidio che sono stati seguiti negli ultimi anni presso il nostro Istituto: in quell'occasione è emerso quanto poca sia la letteratura sull'argomento. Nelle pagine che seguono verranno discussi tre aspetti principali dell'esperimento:

- efficacia delle tecniche di analisi;
- effetto del tipo di ambiente di permanenza, effetto della messa a contatto rispetto alla sola esposizione, effetto della presenza di peli sul campione;
- effetto del tempo sui campioni e sui contaminanti.

Efficacia delle tecniche di analisi

Considerando il numero di campioni che presentano particolato macroscopicamente visibile, appare chiaro come la semplice ma attenta osservazione ad occhio nudo possa guidare l'esaminatore nell'identificazione dei contaminanti ambientali, la cui natura, se non direttamente riconoscibile, può poi essere approfondita con altri metodi di indagine (Cocks et al., 2015). Tuttavia, è stato possibile osservare che la maggior parte del particolato macroscopicamente visibile si trovava sui campioni che erano venuti a contatto diretto con l'ambiente e molto più raramente su quelli che erano stati esposti, è, quindi, possibile dedurre che la semplice esposizione non sempre è sufficiente a lasciare tracce rilevabili ad occhio nudo.

Inoltre, non tutti i contaminanti sono macroscopicamente evidenti, quindi, l'esaminatore deve utilizzare anche altri metodi di indagine, che gli permettano di apprezzare anche gli elementi non visibili o distinguibili ad occhio nudo.

A questo proposito, l'uso del microscopio episcopico ha permesso, non solo di aumentare il numero di campioni su cui la contaminazione estrinseca è apprezzabile, ma anche di ottenere una caratterizzazione morfologica più dettagliata dei contaminanti. Questo, a sua volta, ha permesso di definire in termini più specifici alcuni elementi presenti nei campioni e quindi di assegnare loro un punteggio di specificità maggiore (ad esempio passando da materiale botanico ad alghe). Pertanto, il coinvolgimento di specialisti forensi, già in questa fase dell'indagine, potrebbe permettere di massimizzare le informazioni ottenibili.

A questo punto entrano in gioco altri metodi, che permettono anche l'analisi chimica delle aree di interesse, fornendo così ulteriori informazioni sui contaminanti, che combinate con la morfologia, danno un quadro più dettagliato al perito, per la successiva identificazione specifica degli elementi che costituiscono il particolato. L'utilizzo dell'XRF permette di analizzare tutti i componenti chimici presenti su una superficie di 0,5 cm², senza però poter risalire ai composti chimici a cui appartengono i singoli elementi rilevati. L'importanza di questa indagine è tuttavia legata alla possibilità di ripetere all'infinito le singole analisi (ciascuna della durata di pochi secondi), senza alterare il campione.

Confrontando le indagini chimiche effettuate con SEM-EDX con quelle ottenute con XRF, i due metodi sono quasi sovrapponibili nell'identificazione degli elementi chimici, tenendo presente tuttavia che l'XRF, a differenza di SEM-EDX, non è in grado di rilevare elementi con numero atomico inferiore a 19. Questa limitazione giustifica la scarsa efficacia di questa tecnica su campioni come quelli di panetteria, falegnameria e cantiere, ambienti che, privati degli elementi leggeri più caratteristici, presentano solo elementi comuni come il calcio.

Da qui l'importanza, per ulteriori indagini, dell'uso del SEM-EDX che permette di indagare tanto la composizione chimica inclusi gli elementi leggeri quanto la morfologia in modo estremamente accurato. Questa indagine, tuttavia, richiede che il campione sia trattato in modo particolare (metallizzato), implicando un'operazione non reversibile sui campioni; per questa ragione la sua applicazione dovrebbe essere la fase finale dell'indagine. Esistono però nuovi tipi di SEM che permettono di analizzare allo stato naturale anche campioni "umidi" e soprattutto campioni non conduttivi, in modo da poterli osservare allo stato naturale in basso vuoto, senza la necessità di un rivestimento conduttivo (metallizzazione). Entrambe le tecniche non permettono un'analisi chimica dei composti organici e il riconoscimento dei composti chimici organici e inorganici, per questa ragione, sarebbe auspicabile che gli studi futuri possano beneficiare dell'uso di uno strumento quali la spettroscopia Raman, che potrebbe aiutare nella determinazione di elementi e composti più specifici o addirittura esclusivi di un certo ambiente e l'E-SEM (Environmental-SEM) così da consentire una caratterizzazione ancor più completa delle tracce anche per mezzo dell'analisi chimica di quelle organiche (Doty et al., 2016; Thompson e Inglis, 2009).

Effetto delle variabili ambiente di permanenza, contatto vs esposizione, presenza o assenza di peli

Il particolato è risultato generalmente più abbondante sui campioni posti a contatto rispetto a quelli esposti, questa differenza è particolarmente evidente sui campioni osservati ad occhio nudo mentre appare meno marcata quando si utilizzano tecniche di indagine più approfondite. Quindi, il contatto diretto tra il corpo e l'ambiente sembra essere un elemento importante per il ritrovamento di particolato macroscopicamente visibile, anche se non è sempre necessario, soprattutto nel momento in cui sono coinvolti ambienti in cui vengono eseguite lavorazioni che implicano la dispersione di particolato, come una panetteria o un cantiere edile.

Per quanto riguarda la presenza di peli, essa non sembra influenzare significativamente la ritenzione del particolato.

Passando a considerare i diversi ambienti selezionati, è stato possibile individuare elementi tipici di ogni ambiente, anche se con diversi gradi di specificità. Ad esempio, è stata osservata la presenza di trucioli di legno nella falegnameria, di trucioli di metallo nella torneria, di polvere bianca, probabilmente farina, nella panetteria, di elementi botanici e alghe nel fioraio, di fibre nel fioraio e nel bagagliaio dell'auto.

Interessante è la presenza ubiquitaria di fibre, dato concorde con quanto già riportato in letteratura (Grieve, 1994; Spencer, 1994; Taupin, 1996; Siegel, 1997; Hauck, 2005), anche se, un particolare

tipo di fibre, quelle sintetiche, sono risultate caratteristiche di due ambienti, fiorista e bagagliaio dell'auto.

Inoltre, si è osservato che alcune sostanze chimiche sono maggiormente rappresentate in determinati ambienti (es. Fe e Cr nella torneria, Ca, Mg, Si nel cantiere), mentre altre sono pressoché ubiquitarie e quindi poco caratterizzanti (Caccia et al., 2021). Le analisi chimiche effettuate hanno evidenziato la presenza diffusa negli ambienti di calcio e silicio (4 ambienti su 6), elementi la cui sola presenza non può, quindi, essere considerata utile per la caratterizzazione ambientale. In questo contesto, l'impossibilità per un'analisi come la spettroscopia XRF, di determinare elementi come Si o Mg, può essere estremamente limitante.

Tuttavia, a livello semi-quantitativo, è stata registrata una maggiore presenza di calcio sotto forma di calcite/gesso nel cantiere, che può essere spiegato con l'uso di prodotti di rasatura e intonacatura in quell'ambiente.

Si è anche notato che gli ambienti in cui prevale la componente organica dei contaminanti (ad esempio, il fiorista e il panificio), così come un ambiente chiuso come l'automobile, in cui non si svolgono attività particolari, risultano meno identificabili come ambienti di permanenza.

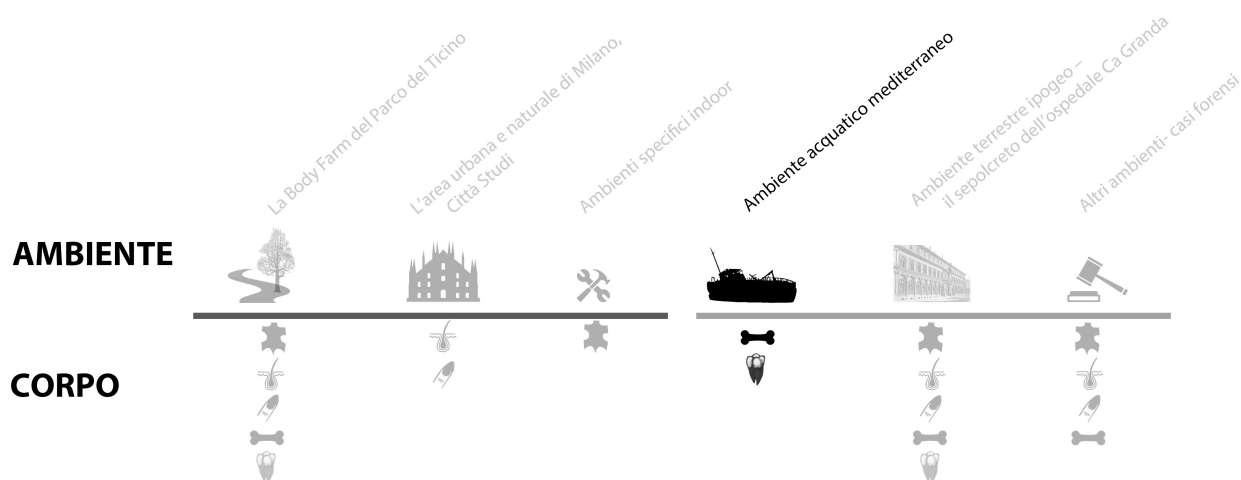
Effetto del tempo sui campioni e sui contaminanti

Infine, considerando l'effetto del tempo sui campioni di cute e sui contaminanti, si è osservato questi ultimi hanno mantenuto le loro caratteristiche morfologiche e chimiche nel tempo (da 0 a 30 giorni dopo la contaminazione). Tuttavia, bisogna considerare che i campioni, dopo la contaminazione, sono stati conservati in un ambiente protetto, ulteriori studi potrebbero invece valutare la conservazione dei contaminanti ponendo i campioni in un ambiente aperto, quindi più esposto ai vari fattori esterni. Il substrato, la cute, sembra anch'essa in grado di mantenere le sue caratteristiche morfologiche per tutta la durata della sperimentazione, conservando quasi inalterate le sue proprietà di trattenitore di tracce, anche in questo caso tuttavia va considerato che l'ambiente di permanenza dei campioni era un ambiente protetto che sicuramente ha favorito la conservazione del substrato inoltre il campione composto solo da cute e non dal corpo nella sua integrità ha sicuramente favorito la conservazione del substrato che non ha risentito del sopraggiungere dei processi decompositivi degli altri tessuti ed ha beneficiato di una scarsa ridotta di batteri, batteri la cui fioritura infatti ha inizio del tratto intestinale per poi diffondersi, luogo dal quale la cute in esame era stata allontanata prematuramente (Puccini, 2003).

Infine, è necessaria una precisazione in merito alle indagini condotte, il progetto in esame si è limitato essenzialmente ad un'indagine qualitativa in ragione del fatto che solo quando tutte le analisi sono condotte sullo stesso campione è possibile e ragionevole fare un'analisi quantitativa del particolato presente. In questo caso la natura distruttiva di alcune tecniche e l'esiguo numero di campioni non hanno dato questa possibilità ma studi successivi su un numero maggiore di campioni o effettuati con tecniche non distruttive potrebbero permettere di associare al dato qualitativo anche uno quantitativo.

Ambienti non noti

3.4 Ambiente acquatico mediterraneo - il naufragio del 18 aprile 2015



Un piccolo peschereccio partito dalla Libia con a bordo circa 800 persone fa naufragio a 70 miglia dalle coste libiche, è il 18 aprile 2015. I sopravvissuti saranno 28, molti i dispersi, molti i corpi che verranno trascinati sul fondo del mare insieme all'imbarcazione. Dopo essersi rovesciata la barca, infatti, va a stazionarsi sul fondo del canale di Sicilia ad una profondità di circa 370 metri. Questo rientra a pieno titolo tra quelli che si definiscono disastri aperti nei quali quindi non è presente una lista passeggeri e non vi è un numero e un'identità nota delle vittime (Sweet, 2010). La barca proveniva dalla Libia, tuttavia non si avevano informazioni precise relative all'origine geografica delle vittime se non quelle ottenute da alcuni documenti di identità rinvenuti insieme ai corpi, da questi e dalle informazioni raccolte in seguito dai parenti è stato possibile determinare che una buona parte delle persone a bordo proveniva dall'Africa Sub Sahariana ed in particolare da Mali, Mauritania, Senegal, Gambia, Guinea Bissau, Costa D'avorio, Chad, Sudan, Eritrea, Somalia ed Etiopia.

Viene immediatamente creata una task force da parte del governo italiano finalizzata al recupero e all'identificazione delle vittime. Essa vedeva la partecipazione del Commissario Straordinario per le persone scomparse, della Marina Militare, dei Vigili del Fuoco, della Croce Rossa e un team di patologi, antropologi e odontologi afferenti a 12 diverse università. In concomitanza con le missioni di recupero, per tutte le vittime vengono effettuati esami preliminari medico-legali e antropologici.

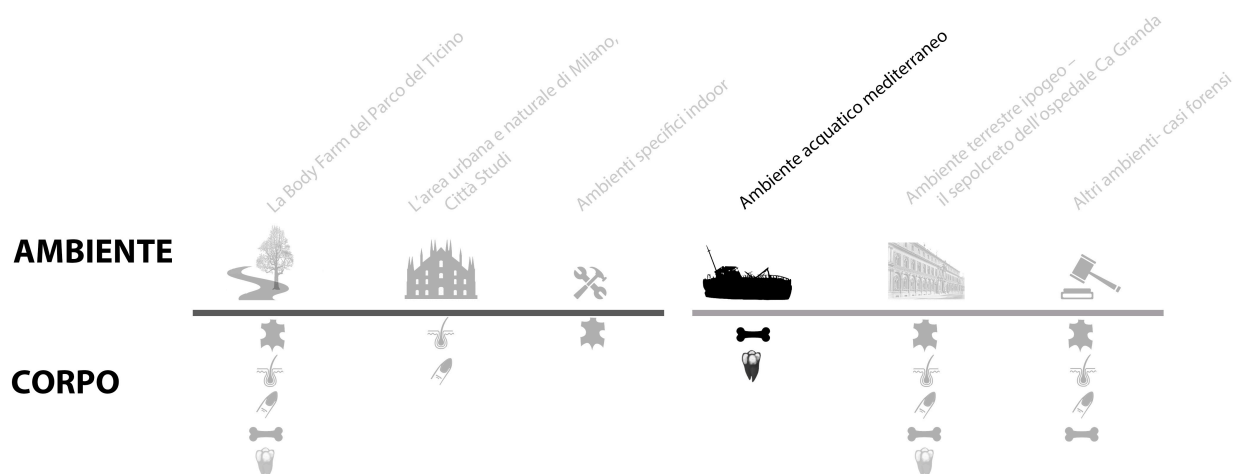
Tra luglio 2015 e gennaio 2016 vengono esaminati 169 cadaveri recuperati intorno allo scafo, prima del suo affondamento; saranno queste le salme meglio conservate, pur presentando diversi stadi di decomposizione (putrefazione, saponificazione, parziale scheletrizzazione) a seconda del tempo di permanenza in acqua. A luglio 2016 viene invece portata avanti l'operazione di recupero del relitto e contestualmente dei resti in esso contenuti. I resti umani verranno posti in 506 *body bag*, ciascuna contenente una o più vittime; 458 contenenti resti provenienti dall'interno del relitto e 48 dal fondale circostante. Ciascuna *body bag*, così come già fatto per i 169 corpi verrà sottoposta ad esame autoptico per la raccolta preliminare dei dati *post mortem*, tra luglio e ottobre 2016.

Al termine delle operazioni di recupero e dello studio preliminare lo scenario è costituito da 528 PM, dicitura con cui si indica corpi interi o anche elementi ossei articolati e riconducibili quindi ad un singolo individuo ma solo qualora includano almeno il distretto del bacino, e oltre 28.000 resti scheletrici commisti. I 528 corpi, durante l'esame autoptico e prima della sepoltura sono stati trattati con il classico iter destinato ai corpi non identificati, mediante quindi l'esecuzione di prelievi per

indagini antropologiche, genetiche e dattiloscopiche. Per quanto riguarda i resti commisti invece, essi saranno prelevati interamente e portati al laboratorio Labanof di Milano per ulteriori analisi.

3.4 Ambiente acquatico mediterraneo - il naufragio del 18 aprile 2015

3.4.1 Analisi tafonomica di resti ossei in ambiente marino



Lo studio ha avuto come oggetto una parte dei resti delle vittime nel naufragio del 18 aprile 2015. In questo caso è stato considerato un solo substrato, l'osso, che è stato oggetto di indagini al fine di:

- Raccogliere, classificare e interpretare le diverse tracce ambientali biotiche e abiotiche su di esso presenti
- Valutare l'effetto della posizione all'interno della barca sulla quantità e tipologia di tracce tafonomiche presenti
- Valutare l'effetto dell'intervallo post mortale su quantità e tipologia di tracce tafonomiche presenti

3.4.1.1 Materiali e metodi

Ambiente

Ambiente fisico

L'area di mare in cui sono permasti i resti ossei oggetto di questo capitolo è il mare di Sicilia, quella porzione di Mar Mediterraneo sottesa tra l'isola e le coste dell'Africa; uno stretto lembo di mare che divide il Mediterraneo orientale (EMED) dal Mediterraneo occidentale (WMED).

Il Mare di Sicilia, come il Mar Mediterraneo tutto, è un bacino semi chiuso. La circolazione è caratterizzata da strutture di tipo ciclonico (ruotano in senso antiorario) nelle regioni settentrionali e anticicloniche (ruotano in senso orario) in quelle meridionali ad eccezione del Mar Tirreno e del Mar Ionio settentrionale.

Facendo riferimento alla condizione attuale dello Stretto, i lavori di Ismael e colleghi (2014) e Bonanno et al. (2014), evidenziano la presenza di masse d'acqua ben definite all'interno dello Stretto di Sicilia. Vi è una massa di acqua superficiale (caratterizza lo strato superiore di circa 150 m), fresca, proveniente dall'Atlantico denominata dell'Atlantic Water (AW) che scorre verso est per dividersi in due flussi d'acqua maggiori a livello dello Stretto: l'AIS (Atlantic Ionian Stream), che scorre lungo le coste di Sicilia; e l'ATC (Atlantic Tunisian Current), che fluisce lungo le coste tunisine. Questa massa di acqua sovrasta la Levantine Intermediate Water (LIW) formata nel bacino levantino (Lascaratos, 1993) che costituisce lo strato di acqua intermedio e che fluisce in direzione opposta (verso ovest). Le masse d'acque profonde, costituite ancora in parte dalla LIW, vedono però la partecipazione anche della tEMDW (Transitional Eastern Mediterranean Deep Water) che fluisce in direzione opposta (Ben Ismael et al., 2014 e Bonanno et al., 2014) (Figura 3.4.1).

Occasionalmente, è inoltre riportata la presenza di ulteriori due masse d'acqua: La WIW (Western Intermediate Water), che fluisce al di sotto della AW verso la porzione Est del bacino. E la IW (Ionian Water), che fluisce all'interno dello strato subsuperficiale verso ovest, dal carattere altamente intermittente.

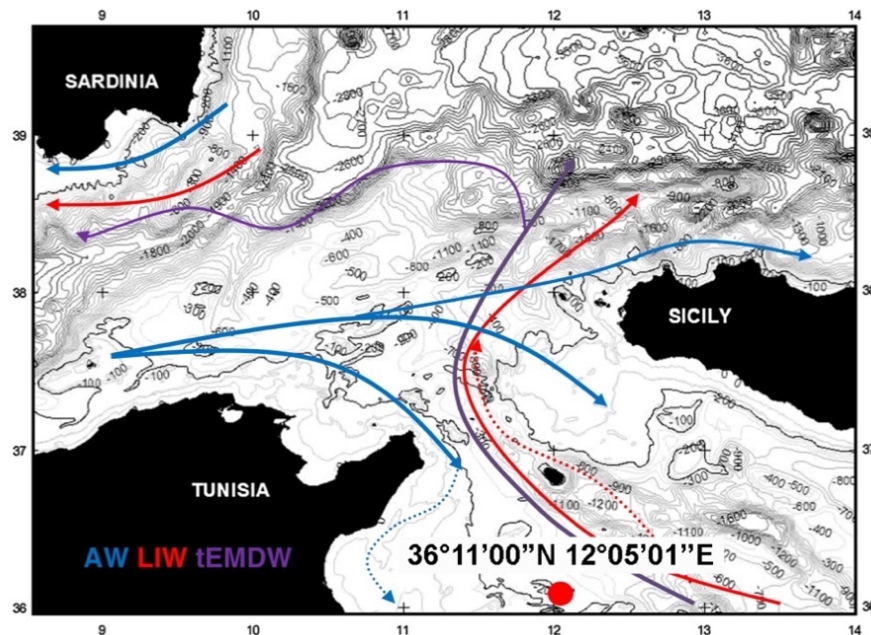


Figura 3.4.1 Illustrazione schematica dei percorsi delle principali masse d'acqua che scorrono nel Canale di Sicilia: AW (linea blu), LIW (linea rossa) e tEMDW (linea viola). Da Ben Ismael et al., 2014.

Scorrendo in direzione nord-ovest sud-est, la massa di acqua che interessa il canale di Sicilia aumenta il suo contenuto salino, come conseguenza della forte evaporazione passando da 38,2 ‰ nella porzione occidentale a 38,9 ‰ nel bacino orientale. Di pari passo si ha un aumento della temperatura specialmente in estate quando il termoclino arriva a circa 50 m.

In dettaglio, Morel (1971) ha stimato che l'Atlantic Water (AW) in uscita vede un aumentare della salinità dal 37,0 al 37,3‰, mentre l'acqua sotto superficiale in entrata passa dal 38,8 al 38,7‰. L'AW arriva ad avere il 39‰ di salinità nel Bacino Levantino dove, in inverno, la sua temperatura scende a 15-16°C così che essa sprofonda a formare l'Acqua Levantina (LW) (Gorgy e Shaheen, 1963). Il LW, infatti, è più salino (38,5-38,8‰) di AW (38,0‰) e le due masse, come visto in precedenza si sovrappongono nell'area di interesse dove seguono lo stesso percorso ma in direzioni opposte, divergendo solo alle due estremità (Hopkins, 1985; De Maio et al., 1972).

Nel Canale di Sicilia, l'AW estende la sua influenza fino a 150-200 m dove incontra e si mescola parzialmente con il LW. La sua temperatura superficiale varia secondo le stagioni (circa 15°C e più di 22°C in inverno e in estate, rispettivamente), scorrendo verso il bacino orientale le acque diventano più fresche e saline. Il LW ha una temperatura di circa 14,2°C e una salinità di circa 38,7‰ quando raggiunge il Canale di Sicilia, dove la sua influenza si estende fino a 600-800 m.

Il Canale di Sicilia è un'area relativamente poco profonda con una complessa orografia di fondo (Cavallaro et al., 2017). Le aree di massima profondità si collocano in tre punti diversi: Bacino di Pantelleria (1317 m), Bacino di Malta (1721 m) e il bacino di Linosa (1529 m). Il canale e comunica con il Mar Mediterraneo occidentale e orientale tramite uno stretto passaggio, a nord ovest dell'isola di Pantelleria (400-500 m di profondità), e mediante un più ampio canale, a sud est di Malta (500-600 m di profondità).

Morfologicamente, il Canale di Sicilia appartiene alla piattaforma continentale e alla scarpata, ma al suo interno si identificano altre sub unità morfologiche: bacini, "guyot" (Rilievo sottomarino isolato di forma conica, con cima tronca, che si eleva dalla piana abissale, in genere rappresentano dei vulcani, un tempo emersi, la cui sommità è stata spianata dall'azione erosiva del moto ondoso, man mano che essi sprofondavano per subsidenza del fondo oceanico) e "banks" (Morel, 1971). Queste strutture nel loro complesso contribuiscono a dare alla scarpata una morfologia estremamente irregolare. Il vulcanismo infine è stato ed è tuttora attivo nella zona (Morel, 1971) (Figura 3.4.2).

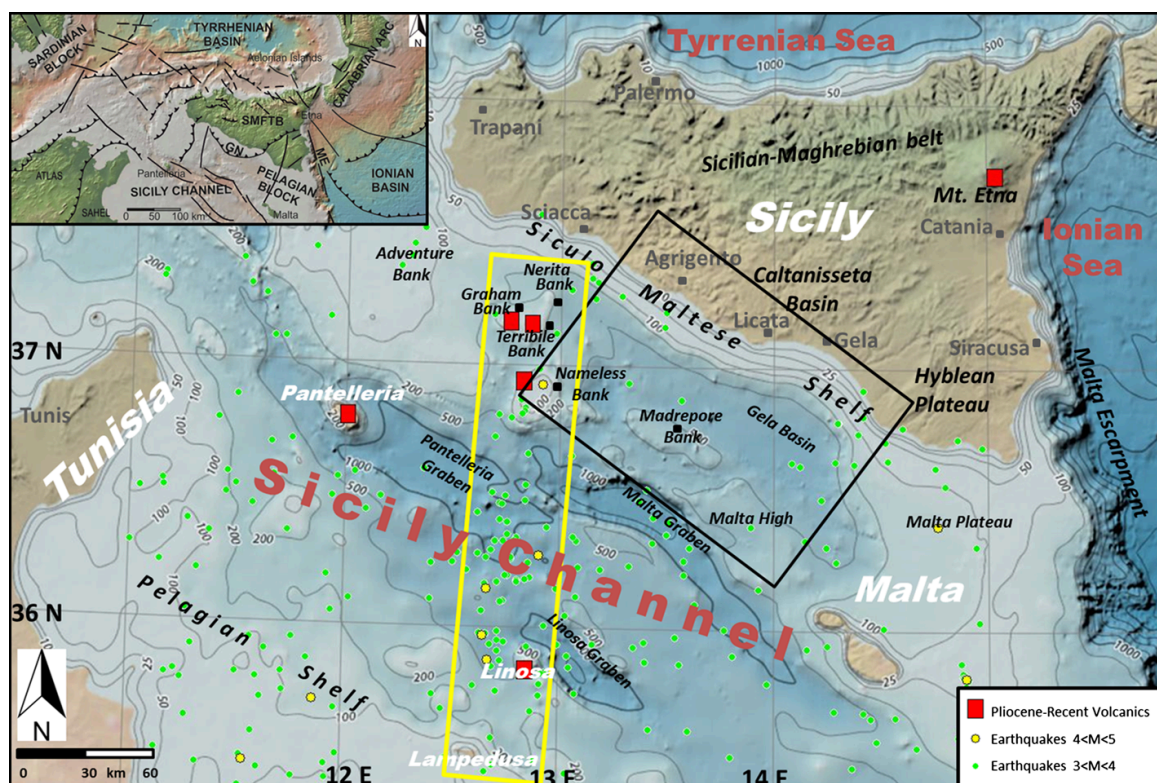


Figura 3.4.2 Rappresentazione schematica dell'orografia dello stretto di Sicilia

Caratterizzazione faunistica e floristica

La composizione faunistica del Mar Mediterraneo è molto complessa, si stima infatti che la popolazione sia composta da un 20% di specie endemiche, un 62% di specie con affinità atlantico-boreale, un 13% specie con affinità Mediterraneo-Atlantico-Pacifico e un 5% di specie con affinità indo-pacifiche.

Diversi studi hanno dimostrato che le comunità bentoniche presenti nel Canale di Sicilia (Giaccone, 1972; Cinelli et al., 1979) sono dominate da specie reofiliche, in grado quindi di vivere in ambienti con forti correnti e con un'affinità atlantica. Tipiche sono quindi grandi praterie di fanerogame dominate da *Posidonia oceanica*, che rappresenta l'ecosistema più diffuso (Pères e Picard, 1964) e caratterizza un'ampia estensione dei fondali infralitorali fino a 40-50 m (Cinelli et al., 1979; Cinelli, 1980). I substrati duri dell'infralitorale e i fondali più profondi del circalitorale (fondali tra 30-50 e 150-200 m, utilizzando la classificazione di Pères e Picard (Pères e Picard, 1964) sono colonizzati da popolazioni di grandi alghe brune come *Cystoseira*, *Sargassum*, e soprattutto *Laminaria rodriguezi* (Suriano et al., 1992). I fondali sabbiosi spazzati dalle correnti unidirezionali e oscillanti a profondità tra i 40-120 m, ospitano popolazioni di alghe rosse calcaree, le cosiddette *Maerl* (Pères e Picard, 1964). Nei substrati duri dello strato circalitorale, invece è presente una peculiare serie biocenotica chiamata *coralligenous bottoms* (fondali coralligeni), per la presenza di corallo rosso (*Corallium rubrum*). Questi ambienti sono caratterizzati da: alghe rosse calcaree, spugne, cnidari (*Eunicella cavolini*, *Astroides calycularis*), policheti (*Serpula vermicularis*), brachiopodi (*Argyrotheca cuneata*), briozoi, crostacei (*Lissa chiragra*), echinodermi (*Ophidia sterophidianus*), calamari (*Rhodosoma callense*) e bivalvi (*Manupecten pesfelis*, *Lima vulgaris*).

Pères e Picard (1964) hanno descritto un'altra biocenosi circalitorale dei fondi duri, la *off-shore rocks*; essa è caratterizzata da molte specie di spugne, oltre agli cnidari già menzionati. Alcune specie, per esempio il riccio di mare *Cidaris cidaris*, sono considerate come outsider provenienti dalla zona

batiale (Il livello più profondo, generalmente associato alla scarpata continentale e ai profondi pendii intorno alle rive).

Nell'area dello Stretto di Sicilia i fondi circalitorali tra 65 e 105 m sono spesso sabbiosi, con grani da grossolani a molto fini, quasi fangosi, intervallati da abbondanti detriti più grandi di origine organica, come frammenti di conchiglie, piante calcaree e, meno frequentemente, resti di briozoi. Anche le alghe "morbide" sono abbondanti: ad esempio *Cladophora fracta* che domina a bassa profondità, ma si può trovare anche *Dictyota dichotoma* o *Laminaria rodriguezii*.

Ancora, abbondante è la presenza di spugne, ad esempio *Crambe crambe*. Una distribuzione peculiare è quella della *Cnidaria pennatula phosphorea*. Questa specie è tipica di un particolare tipo di assemblaggio di fango terrigeno viscoso, ed è spesso associata a *Veretillum cynomorium* (Pères, 1985); i bivalvi sono presenti principalmente con le specie, *Acanthocardia echinata*, *Hiatella arctica*, *Pecten jacobaeus* (assunta come caratteristica di tutto il Mediterraneo occidentale) (Pères, 1985). I cefalopodi invece mostrano distribuzione frammentaria, con *Eledone moschata*, *E. cirrhosa*, *Octopus vulgaris*, *Sepia officinalis* e *Loligo vulgaris*. Intorno a Lampedusa, il crostaceo *Munida curvimanna* è osservato su terreni sabbioso-fangosi, mentre *Galathea strigosa* vive sui fondi 'Maerl' (GFCM, 1970).

Lo strato meso litorale è abitato da molti pesci di interesse commerciale, tra cui i cefali (*Mullus surmuletus*, *M. barbatus*), e l'orata (*Pagellus erythrinus*); comuni sono anche altre specie demersali (organismi marini che nuotano attivamente ma si trattengono nei pressi del fondale, sul quale o nei pressi del quale trovano il nutrimento) come il pettirosso *Lepidotrigla cavillone*, i pesci piatti *Solea kleini*, lo scorfano *Scorpaena scrofa*. Il Canale di Sicilia presenta alcune specie di attitudine subtropicale, come la sogliola portoghese *Synaptura lusitanica*, il corbo, *Umbrina ronchus*, *Cynoponticus ferox*, *Facciolella oxyrhyncha*, *Epigonus constanciae* (Fredj e Maurin, 1987).

I fondi rocciosi delle zone batimetriche più profonde (tra i 300 e i 450 m), quelli dello strato batiale, sono caratterizzati (Arena, 1985) da enormi "edifici" prodotti da madrepora (*Madrepora oculata*, *Lophelia prolifera*), che formano generalmente ciuffi sparsi, che danno origine alla biocenosi degli "assemblaggi di corallo bianco" (Pères, 1964).

Un altro corallo bianco, *Dendrophyllia cornigera*, vive a profondità maggiori; infatti, colonizza substrati rocciosi esposti all'idrodinamica, mentre i primi coralli preferiscono sedimenti più fini. L'indicatore biologico più tipico è la penna di mare, *Funiculina quadrangularis*, anche se ormai è piuttosto rara. In alcune zone, il brachiopode *Terebratula vitrea* è dominante, ma sempre associato a *F. quadrangularis*. Tra i crostacei di questo strato, il gamberetto rosa, *Parapenaeus longirostris* è il più interessante; vi è poi lo scampo, *Nephrops norvegicus*. I pesci cartilaginei sono ben e costantemente rappresentati nello strato, vi sono ad esempio i pesci cane (*Etmopterus spinax*, *Scyliorhinus canicula*) e le razze (*Raja oxyrinchus*, *R. miraletus*). La parte settentrionale del canale, non mostra differenze significative rispetto alle altre aree (Arena e Greci, 1973) mentre nella parte più meridionale sono presenti il pesce relitto, *Polyprion americanus*, la cernia, *Epinephelus guaza* e vari pettirossi *Trigla* spp. (Scaccini e Piccinetti 1970). La facies caratteristica di questo strato è composta da *Isidella elongata* in associazione con il gambero *Aristaeomorpha foliacea* e, secondo le zone, *Aristeus antennatus*. Componenti della stessa facies sono il brachiopode *Tenebratula vitrea* e l'echinoderma *Brisingella coronata* (GFCM, 1970). Nella Sicilia occidentale, lo strato mesobatiale mostra alcune specie tipiche ed esclusive, come le spugne *Pheronema grayi* e *Poecillastra compressa*, gli cnidari *Lophogorgia sarmentosa*, *Madrepora oculata*, *Lophelia prolifera*, *Dendrophyllia cornigera*, *Calliactis parasitica* e *Amphianthus dohrni*, il granchio *Anamanthia rissoana*, i gasteropodi *Natica millepunctata*, *Lunatia fusca*, *Buccinum humphreysianum* e *Fusinus rostratus*, i

cefalopodi *Bathypolypus sponsalis*, *Heteroteuthis dispar*, *Alloteuthis media*, *Abralia veranyi*, *Histioteuthis reversa*, *Chiroteuthis veranyi* e *Octopoteuthis sicula* (Arena e Greci, 1973); nella zona sono presenti anche i pesci *Chlorophthalmus agassizi* e *Aulopus filamentosus* (Scaccini e Piccinetti 1970).

Corpo

Un totale di 88 crani più circa 490 elementi ossei (tra ossa mascellari, clavicole, diafisi di ossa lunghe (femori e tibie) e coste ai quali si aggiungevano in alcuni casi elementi diversi quali calotte craniche o elementi ossei degli arti superiori) provenienti da 164 individui, scelti tra i 169 primi corpi recuperati sono stati studiati dal punto di vista tafonomico. Due variabili sono state considerate per la scelta degli elementi ossei facenti parte del campione in esame:

- la loro provenienza dai diversi comparti della barca, al fine di valutare l'eventuale effetto di questa su tipologia e frequenza di tracce rinvenute. A questo tipo di indagine sono stati destinati gli 88 crani (Figura 3.4.3).

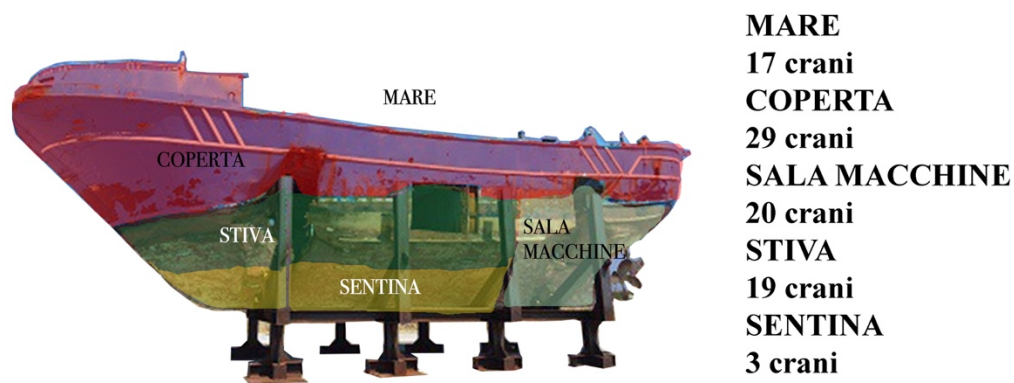


Figura 3.4.3 Rappresentazione schematica della barca con indicazione dei diversi settori presenti e del numero di crani provenienti da ciascun settore

- il loro diverso intervallo post mortale sulla base della data di autopsia. I campioni così selezionati, gli 88 crani e i 490 elementi ossei, coprivano l'intero intervallo temporale a disposizione comprendendo elementi con PMI di 3 mesi a elementi con PMI di circa 18 mesi (Figura 3.4.4).

Il fattore PMI, tuttavia, è stato valutato solo in relazione alle tracce biologiche.

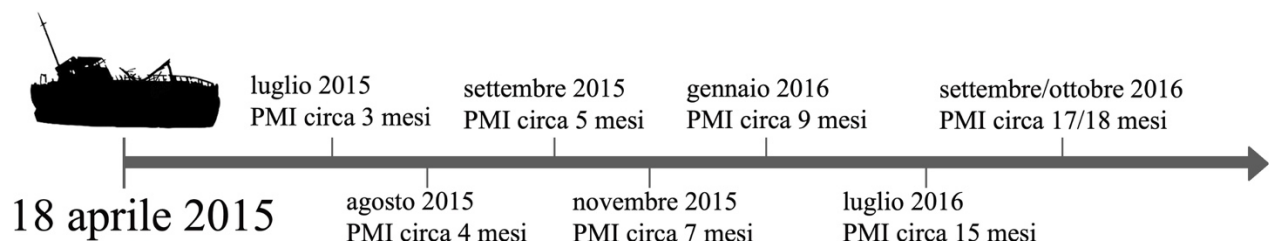


Figura 3.4.4 Time line illustrante la successione temporale delle missioni di recupero dei resti e i relativi intervalli post mortali degli stessi

Tecniche di analisi

Ciascun elemento è stato osservato macroscopicamente ad occhio nudo e con l'ausilio di microscopio episcopico (WILD HEERBRUGG M650) e tutti i segni attribuibili all'iter post mortale sono stati fotografati e descritti in apposite schede.

In particolare, per ciascuno degli 88 crani, sono state descritte e repertate le seguenti tipologie di categorie e sottocategorie di tracce tafonomiche:

- **Colore generale**
 - Nero
 - Nero/marrone scuro
 - Grigio
 - Naturale
 - Bruno/marrone
 - Giallo/bruno
- **Macchie**
 - Nero
 - Blu
 - Marrone
 - Verde
 - Grigio/argento
 - Arancione
 - Rosa
 - Porpora
 - Rosso
 - Ruggine
 - Bianco
 - Giallo
- **Materiale aderente**
 - Adipocera
 - Tessuti essiccati
 - Residui oleosi
 - Capelli/peli
 - Alluminio
 - Rame
 - Argento
 - Oro
 - Ferro
 - Altro metallo
 - Cristalli
 - Alghe/funghi/licheni
 - Radici
 - Cirripedi
 - Residui di insetti
- Suolo
- Tessuto/impronta di tessuto
- Altri materiali
- **Tracce imputabili ad azione di elementi biologici**
 - Necrofagi acquatici
 - Grandi
 - piccoli
 - Uccelli
 - Carnivori
 - Insetti
 - Piante
 - Roditori
- **Tracce imputabili ad elementi abiotici fisici**
 - Esfoliazione corticale sfaldamento
 - Deformazione plastica
 - Abrasione
 - Sbiancamento (*bleaching*)
 - Invecchiamento (*weathering*)
- **Tracce da calore**
 - Calcinato
 - Carbonizzato
 - Fratture da calore
 - Affumicato
- **Tracce imputabili ad azione umana**
 - Sbiancamento da candeggina o altri elementi per la pulizia
 - Rimozione di sezioni e frammenti
 - Segni di taglio
 - Fori di trapano
 - Danno da scavo
 - Attacchi di dispositivi
 - Fratture intenzionali
 - Altro
 - Materiali da ricostruzione
 - Azioni conservative

Per quanto riguarda i 490 campioni afferenti alle 164 prime salme recuperate invece, l'analisi si è focalizzata esclusivamente sulle tracce imputabili all'azione di agenti biologici. Solo su questa categoria, ad oggi, è stata una valutazione del fattore tempo.

Ogni traccia è stata localizzata sul cranio facendo riferimento alla suddivisione in zone in uso nel software CoRa, un software di recente creazione finalizzato allo studio e alla riassociazione di resti ossei commisti (Figura 3.4.5).

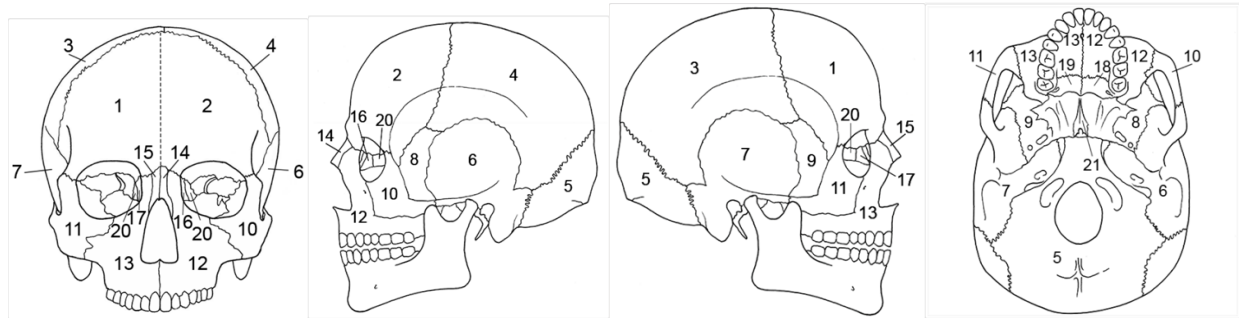


Figura 3.4.5 *Illustrazione delle zone del cranio identificate dal software Cora e utilizzate per la localizzazione delle tracce*

- | | | |
|--|--|------------------------|
| 1.Frontale destro | 7.Temporale destro, inclusa la radice dell'arco zigomatico | 12.Mascellare sinistra |
| 2.Frontale sinistro | 8.Porzione sinistra dello sfenoide | 13.Mascellare destra |
| 3.Parietale destro | 9.Porzione destra dello sfenoide | 14.Nasale sinistro |
| 4.Parietale sinistro | 10.Osso zigomatico sinistro | 15.Nasale destro |
| 5.Occipitale | 11.Osso zigomatico destro | 16.Lacrimale sinistro |
| 6.Temporale sinistro, inclusa la radice dell'arco zigomatico | | 17.Lacrimale destro |
| | | 18.Palatino sinistro |
| | | 19.Palatino destro |
| | | 20.Etmoide |
| | | 21.Vomere |

3.4.1.2 Risultati

Si riporta l'elaborazione dei risultati ottenuti dall'analisi degli 88 crani, suddivisi per le diverse categorie di tracce osservate.

Colore generale

Per ciascun elemento valutato è stata identificato il colore dominante, quello che, a parte eventuali macchie, caratterizzava la maggior parte del campione. In alcuni casi il colore era associato anche a caratteri di consistenza e morfologia. Di seguito, per ciascun settore della barca, sono riportati i valori percentuali dei diversi colori generali presenti (Figura 3.4.6).

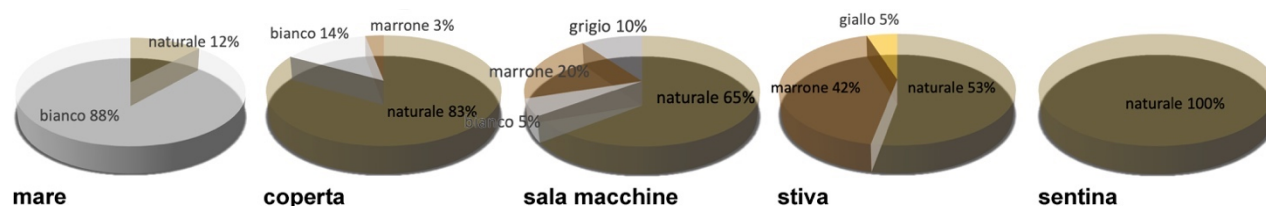


Figura 3.4.6 distribuzione percentuale dei diversi colori generali nei crani in funzione del settore della barca di provenienza

Mare

Presenta una percentuale dominante di crani di colore bianco pallido, consistenza secca e irregolare al tatto. Una percentuale nettamente minore di elementi invece conserva la colorazione originale beige/giallo chiaro.

Coperta

Crani provenienti dalla coperta presentano una percentuale dominante di elementi il cui colore naturale risultava conservato così come la consistenza, una percentuale inferiore è costituita invece da campioni di colore bianco pallido e consistenza secca al tatto, analoghi a quelli dominanti nel settore mare. Infine, una percentuale ancora minore di elementi presentava colore marrone e consistenza conservata.

Sala macchine

Crani provenienti dalla sala macchine presentano una percentuale dominante di elementi di colore naturale, una percentuale minore di elementi di colore marrone, un numero ancora inferiore di elementi di colore grigio e infine un 5% di elementi di colore bianco pallido analoghi a quelli visti nei settori precedenti.

Stiva

Nella stiva vi è ancora una percentuale dominante di crani che conservano il colore naturale, tuttavia, crani di colore marrone risultano drasticamente aumentati in numero rispetto ai settori precedenti, infine vi è una percentuale minore, pari al 5%, di elementi di colore giallo.

Sentina

Tutti gli elementi studiati provenienti dal settore sentina presentavano colore originale conservato.

Macchie

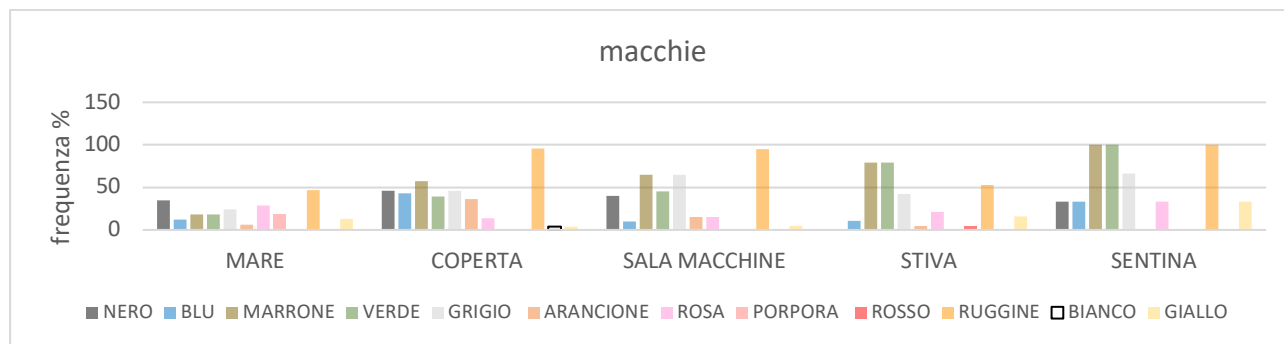


Figura 3.4.7 Distribuzione percentuale delle macchie presenti sui crani, distinte per colore, in ciascun settore della barca

Per quanto riguarda la distribuzione delle macchie in funzione della provenienza dei campioni, l'analisi (Figura 3.4.7) ha evidenziato la presenza di quasi tutti i tipi cromatici di macchie, che tuttavia presentano una distribuzione leggermente differente, dal punto di vista quantitativo, nei diversi settori della barca.

I campioni provenienti dal mare presentano in generale una percentuale minore di macchie, tra le quali, quelle con frequenza maggiore risultano le macchie ruggine (47%), seguite da quelle di colore nero.

I campioni di coperta e sala macchine risultano piuttosto simili come tipologia e frequenza di macchie presenti, entrambi i gruppi di campioni presentano macchie color ruggine nella quasi totalità dei campioni (96 e 95% rispettivamente) e macchie marroni in oltre la metà degli elementi studiati, seguono, in ordine di frequenza le macchie grigie, più abbondanti nella sala macchine, quelle nere e quelle verdi, tutte con frequenza intorno al 50%.

I campioni della stiva mostrano invece un quantitativo di macchie ruggine simile a quelli del mare, 53%, frequenza più elevate sono registrate invece per le macchie verdi e marroni (intorno all'80%). Assenti risultano, in questo settore, le macchie nere. Infine, i campioni provenienti dalla sentina presentano frequenze parimenti elevate di macchie marroni, verdi e ruggine, che interessano la totalità dei campioni. Oltre il 50% di frequenza è registrata per le macchie grigie mentre frequenze inferiori al 30% vengono registrate per le altre categorie.

Considerando ora la distribuzione dei diversi tipi cromatici di macchie nelle diverse aree del cranio si è osservato quanto segue:

Macchie nere

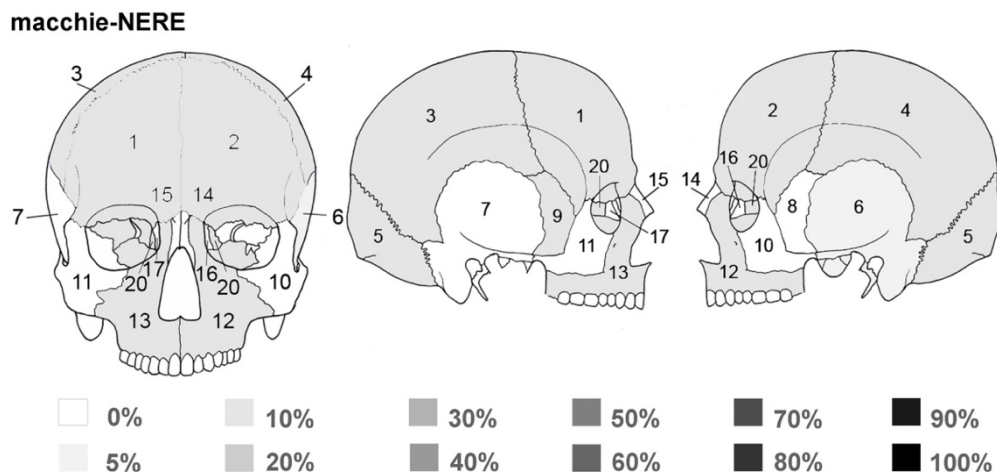


Figura 3.4.8 Frequenza di macchie nere nelle diverse zone del cranio

Le macchie nere sono state riscontrate con frequenza piuttosto bassa, non oltre il 10%, sulla volta cranica e sui mascellari e intorno al 5% sul temporale sinistro, assenti altrove (Figura 3.4.8).

Macchie blu

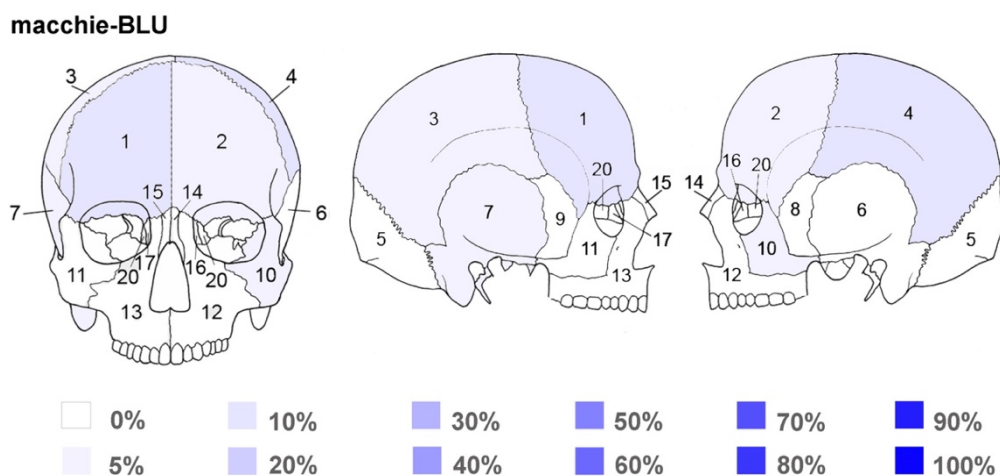


Figura 3.4.9 Frequenza di macchie blu nelle diverse zone del cranio

Le macchie blu sono state riscontrate con frequenza non superiore al 10% nei crani analizzati. Frequenza del 10% è stata riscontrata sul frontale destro, del 5% su quello sinistro, invertita appare invece la situazione a livello dei parietali. Macchie blu sono apparse con frequenza del 5% anche sull'osso zigomatico sinistro e temporale destro (Figura 3.4.9).

Macchie marroni

macchie-MARRONI

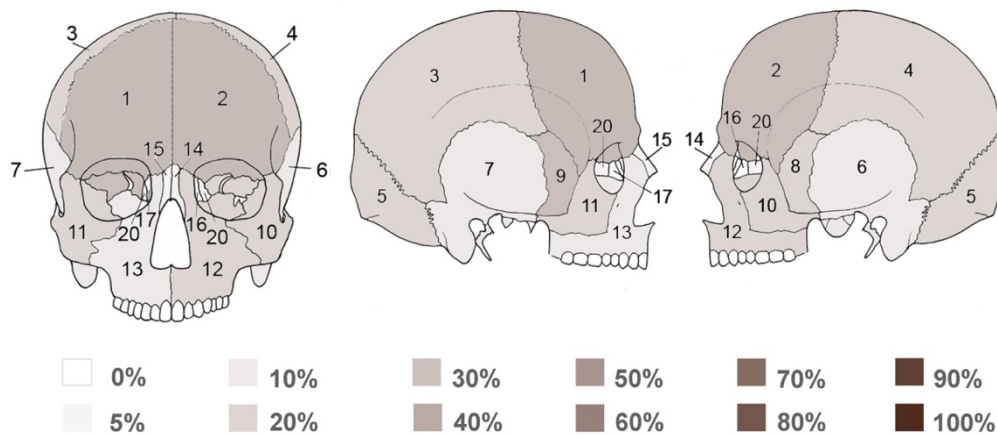


Figura 3.4.10 Frequenza di macchie marroni nelle diverse zone del cranio

Macchie marroni sono state osservate sui campioni con frequenza fino al 30%, in particolare sull'osso frontale e sullo sfenoide destro (per la sua porzione visibile in norma laterale). Frequenza del 20% è stata registrata invece su parietali, zigomatici, occipitale e mascellare sinistro. Frequenza del 10% infine, nella quasi totalità delle restanti aree del cranio (Figura 3.4.10).

Macchie verdi

macchie-VERDI

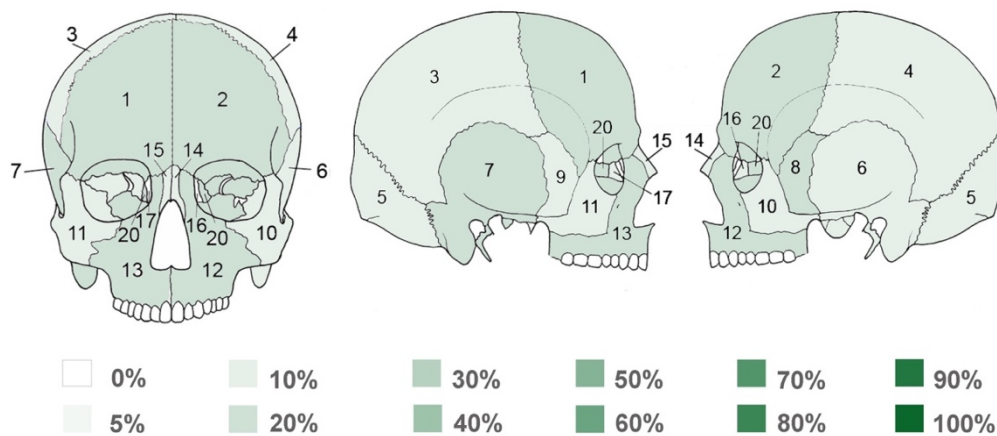


Figura 3.4.11 Frequenza di macchie verdi nelle diverse zone del cranio

Le macchie verdi sono state osservate con una frequenza del 20% in regione frontale, sui mascellari e sul temporale destro, frequenza del 10% invece è stata riscontrata nelle altre aree del cranio (Figura 3.4.11).

Macchie grigie

macchie-GRIGIE

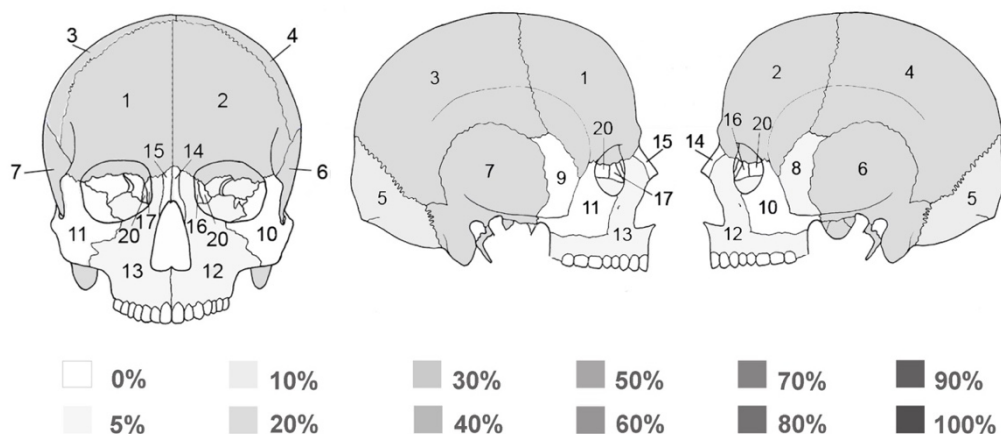


Figura 3.4.12 Frequenza di macchie grigie nelle diverse zone del cranio

Macchie grigie sono state osservate con frequenza non superiore al 20% sui campioni analizzati, tale frequenza è stata registrata in particolare in area frontale, parietale e temporale, frequenza inferiore invece per la regione occipitale (10%), massiccio facciale e sfenoide (5%) (Figura 3.4.12).

Macchie arancioni

macchie-ARANCIONI

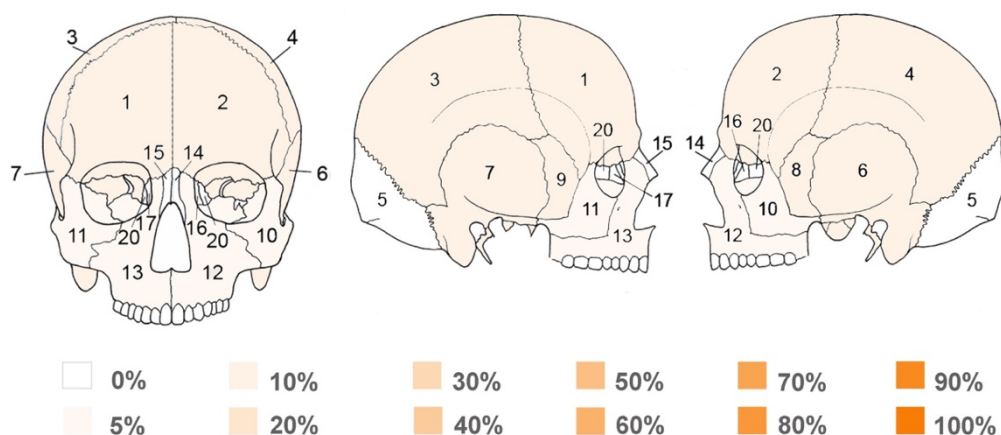


Figura 3.4.13 Frequenza di macchie arancioni nelle diverse zone del cranio

Le macchie arancioni sono state osservate con frequenza non superiore al 10% nei campioni analizzati in zona frontale, sui parietali, sui temporali e sullo sfenoide. Frequenza inferiore invece per mascellari e zigomatici (5%) (Figura 3.4.13).

Macchie ruggine

macchie-RUGGINE

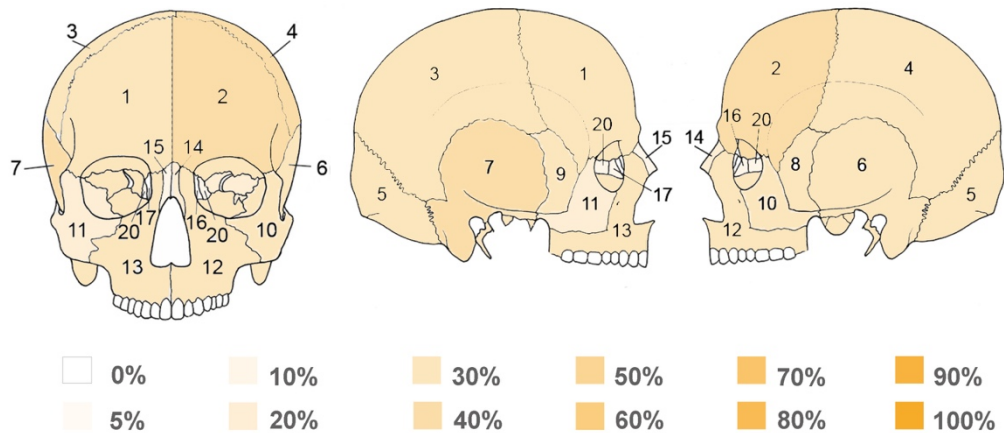


Figura 3.4.14 Frequenza di macchie ruggine nelle diverse zone del cranio

Le macchie ruggine sono state osservate su tutte le regioni del cranio, con frequenza anche del 30, 40% nella maggior parte della volta e del massiccio facciale e frequenze inferiori, 20 e 10% e porzione mediale delle cavità oculari (3.4.14).

Macchie rosa

Frequenza del 10% in zona frontale, parietale e temporale sinistra, frequenza del 5% in regione temporale destra, assenti o rarissime altrove.

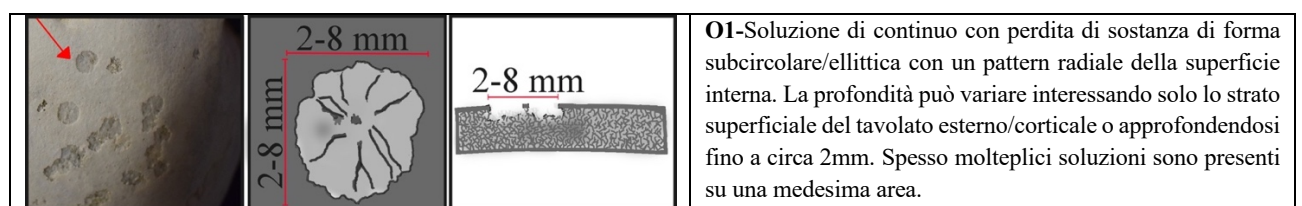
Estremamente rare o totalmente assenti le altre tipologie cromatiche.

Materiale aderente


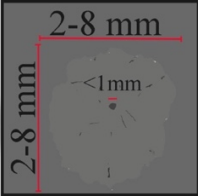
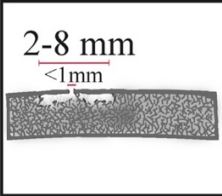
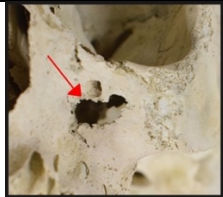

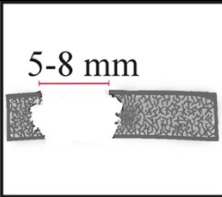

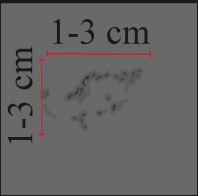
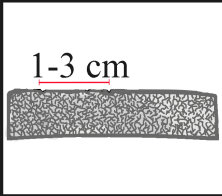

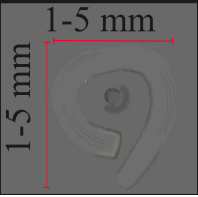
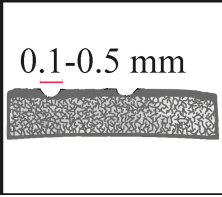
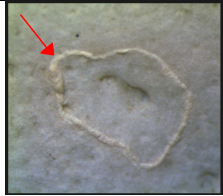
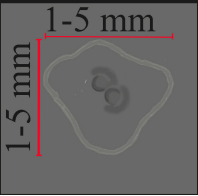
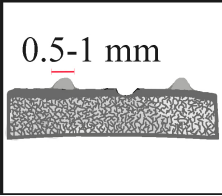

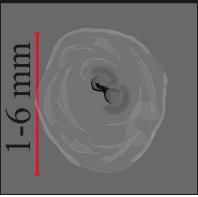
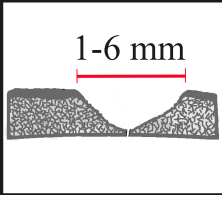

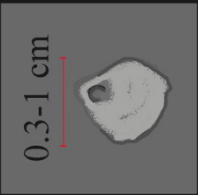
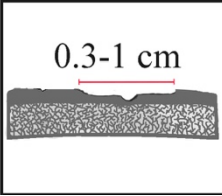
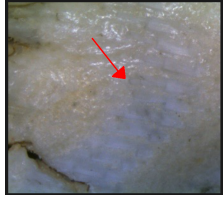
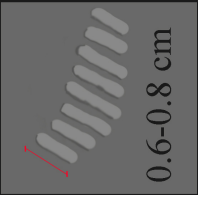
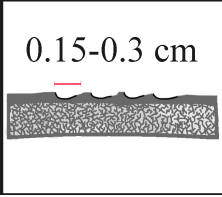
Materiale aderente sotto forma di piccole aree incrostate di tessuto essiccato di colore bianco (adipocera), nero o marrone sono presenti in pressoché tutti i campioni indagati (oltre il 90%). Tale materiale si colloca prevalentemente nel cranio interno, in particolare sulla superficie interna di parietali, frontale, occipitale e temporali e nelle aree più protette del massiccio facciale e della base cranica, quali cavità orbitarie, cavità piriforme, meati acustici esterni, canale ipoglosso etc.

Tracce imputabili ad azione di elementi biologici

Per quanto riguarda le tracce imputabili ad azione biologica esse risultavano riconducibili essenzialmente tutte all'azione di organismi necrofagi acquatici. Per agevolare la successiva interpretazione di dettaglio, completata la descrizione di ciascuna, si è scelto di classificare tale classe di tracce in morfotipi. Sono quindi stati individuati 9 morfotipi veri e propri con i quali sono state classificate quelle tracce riconducibili a necrofagi acquatici di piccole dimensioni, più una (S), associata invece a predatori o necrofagi acquatici di grandi dimensioni (Figura 3.4.15).



O1-Soluzione di continuo con perdita di sostanza di forma subcircolare/ellittica con un pattern radiale della superficie interna. La profondità può variare interessando solo lo strato superficiale del tavolato esterno/corticale o approfondendosi fino a circa 2mm. Spesso molteplici soluzioni sono presenti su una medesima area.

			O2 -Soluzioni di continuo con perdita di sostanza, puntiformi, dimensioni inferiori a 0,1cm di diametro a margine netto. Generalmente circondate da un'area di forma subcircolare/ellittica di colore grigiastro di dimensioni variabili.
			O3 -Soluzione di continuo con perdita di sostanza, di forma subcircolare/ellittica, dai margini frastagliati, che interessa l'osso a tutto spessore.
			A -Alone marrone/grigio di forma subcircolare o ellittica dai margini irregolari su cui a tratti insistono piccole soluzioni di continuo con perdita di sostanza puntiformi, con colorazione più marcata rispetto al resto della traccia. Le soluzioni di continuo appaiono sempre superficiali ed interessanti, interessando solo parzialmente l'osso corticale.
			C -Soluzione di continuo con perdita di sostanza superficiale di forma allungata a margini netti che tende a circondare un'area depressa
			M -Traccia caratterizzata dalla presenza di un margine rilevato di colore biancastro/panna/marroncino a circondare porosità fisiologica dell'osso.
			D2 -Soluzione di continuo con perdita di sostanza che si approfonda con regolarità nell'osso, lasciando nella zona scavata una superficie irregolare di colore bianco pallido. La traccia ha margine netto e forma perlopiù circolare. Generalmente posta in prossimità o intorno ad un forame, oppure in corrispondenza delle suture del cranio.
			D3 -Soluzione di continuo con perdita di sostanza di forma sub circolare che interessa lo strato esterno dell'osso corticale, con margine regolare, l'area interna delimitata mostra superficie irregolare di colore bianco pallido. Solitamente posta in prossimità o intorno ad un forame, circondata (non sempre in maniera completa) da un anello di materiale aderente di colore variabile.
			I -Serie di soluzioni di continuo con perdita di sostanza superficiali disposte parallelamente l'una all'altra, a margine netto e regolare, che espongono osso di colore più chiaro rispetto all'intorno. Il numero di soluzioni di continuo all'interno della singola traccia varia da 6 a 14. Le dimensioni delle singole soluzioni di continuo tendono a rimanere costanti. Nel complesso, la traccia tende ad assumere una forma curva / a semiluna.

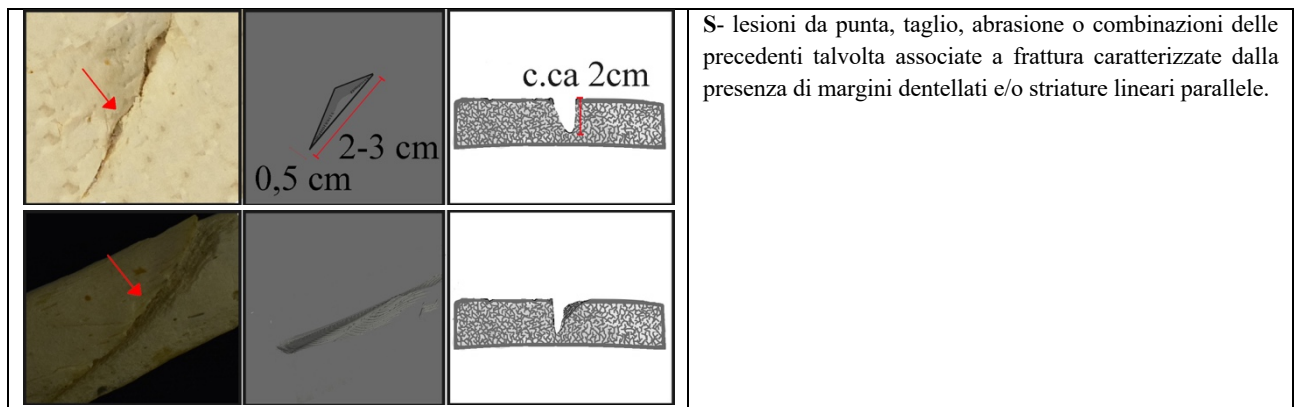


Figura 3.4.15 Tabella riassuntiva dei morfotipi identificati come esito di agenti biologici

Di seguito verranno riportati i risultati relativi alle tracce biologiche presenti nei campioni, classificate sulla base dei morfotipi sopra descritti.

Nell'istogramma che segue è mostrata la frequenza degli 10 morfotipi di tracce biologiche individuati nello studio e della loro frequenza nei crani in funzione del diverso settore di provenienza (Figura 3.4.16).

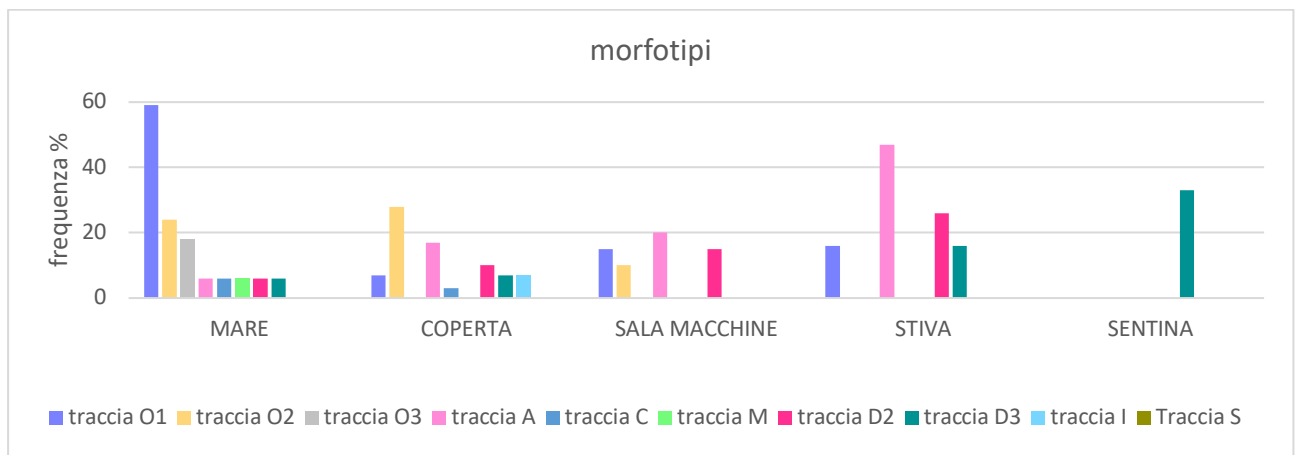


Figura 3.4.16 Istogramma della frequenza dei diversi morfotipi sui crani dei diversi settori della barca

Le due zone mare e coperta sono quelle che presentano i crani più ricchi di tracce biologiche. I crani del mare presentano infatti 8 morfotipi su 10 totali individuati, il morfotipo O1 presenta la frequenza maggiore, comparando quasi nel 60% dei campioni, con frequenza decrescente compaiono poi la traccia O2 (24%) e O3 (18%). Le altre categorie presenti mostrano uguale frequenza, pari al 6%.

I crani provenienti dal settore mare mostrano 8 morfotipi, tuttavia la frequenza di questi appare molto diversa da quella osservata nei campioni del settore precedentemente analizzato. La traccia O1 mostra frequenza pari al 7% mentre molto più frequentemente appare la traccia O2, 28%. Più frequenti appaiono anche la traccia A (17%), D2 (10%), D3(7%). Le altre tracce presenti (C, I) mostrano invece frequenza diminuita rispetto al settore mare con un'ultima eccezione rappresentata dalla traccia N che si presenta qui per la prima ed unica volta. Sala macchine e stiva presentano entrambe, sui crani in esse presenti, solo quattro morfotipi di tracce biologiche che, per quanto riguarda la sala macchine non superano mai la frequenza del 20%. La stiva presenta invece le tracce A e D2 con frequenza piuttosto elevata, rispettivamente del 47% e 26%. La traccia O1 si presenta con frequenza

grossomodo costante, pari al 15% in sala macchine e stiva. La sentina infine presenta un solo morfotipo di tracce biologiche, il morfotipo D3, con frequenza del 33%.

Segue l'analisi della distribuzione di ciascun morfotipo nelle diverse aree del cranio.

Morfotipo O1

traccia bio-O1

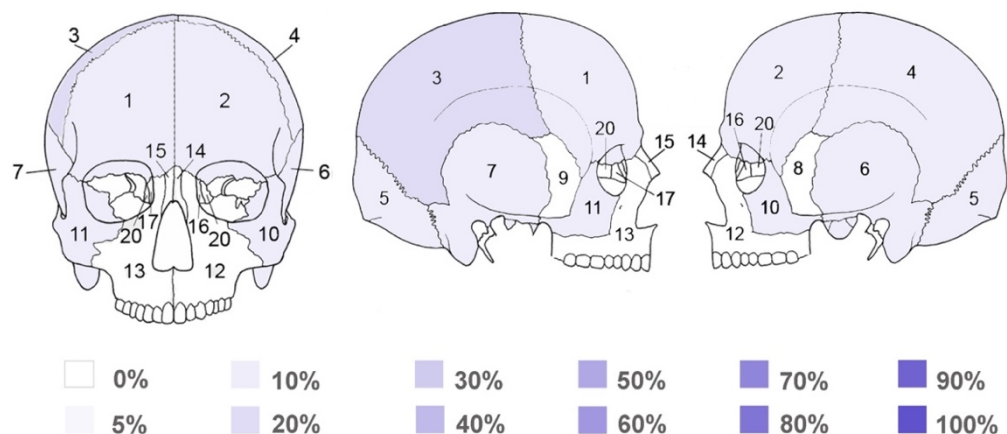


Figura 3.4.17 Frequenza del morfotipo O1 nelle diverse zone del cranio

La traccia O1 risulta presente generalmente su: volta cranica, ossa temporali, in particolare in regione squamosa, e sugli zigomatici, con frequenza media del 10%, tuttavia in area parietale destra la frequenza raggiunge il 15% (Figura 3.4.17).

Morfotipo O2

traccia bio-O2

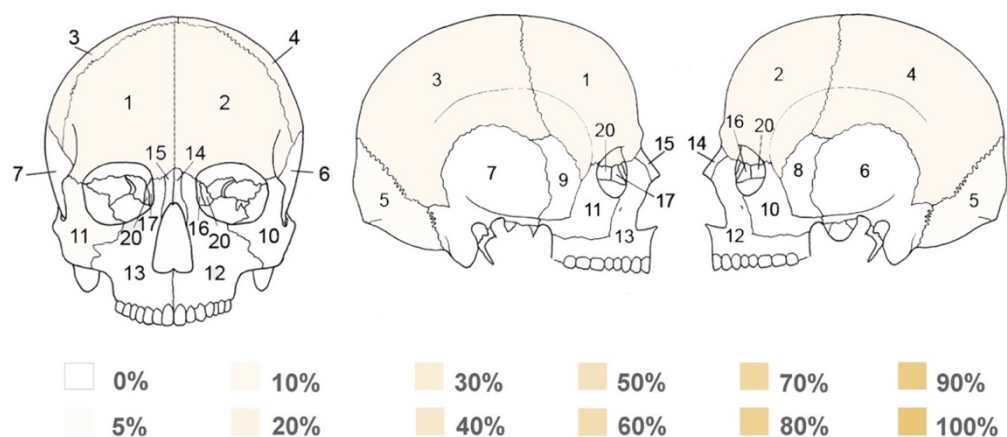


Figura 3.4.18 Frequenza del morfotipo O2 nelle diverse zone del cranio

La traccia O2 si presenta esclusivamente su volta cranica, occipitale e zigomatico destro sempre con frequenza pari o inferiore al 10% (Figura 3.4.18).

Morfotipo O3

Il morfotipo O3 appare estremamente infrequente nei campioni, esso si presenta con frequenza dell'1% sulle ossa zigomatiche e sul nasale destro.

Morfotipo A

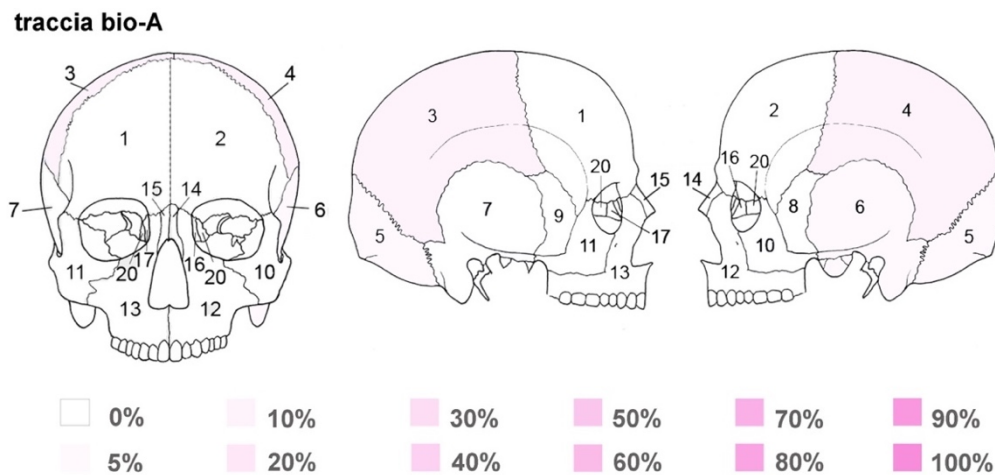


Figura 3.4.19 Frequenza del morfotipo A nelle diverse zone del cranio

La traccia A si presenta esclusivamente su ossa parietali, occipitale e temporale sinistro, sempre con frequenza pari o inferiore al 10% (Figura 3.4.19).

Morfotipo C e M

I morfotipi C e M si presentano con frequenza dell'1% in area occipitale e parietale destro, in aggiunta, il morfotipo M si presenta con analoga frequenza anche in zona frontale destra.

Morfo tipo D2

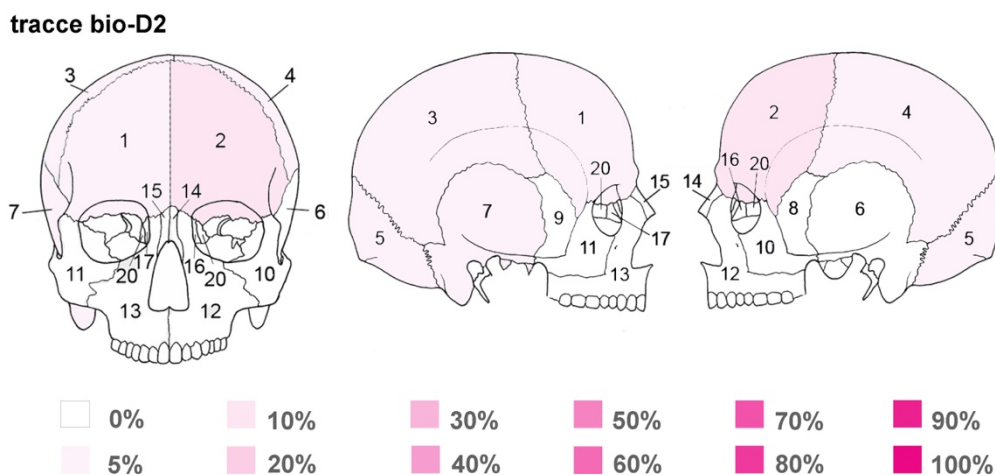


Figura 3.4.20 Frequenza del morfotipo D2 nelle diverse zone del cranio

La traccia D2 si presenta esclusivamente su volta cranica, squama dell'occipitale e ossa temporali, sempre con frequenza pari o inferiori al 10% (Figura 3.4.20).

Morfo tipo D3

Il morfo tipo D3 si presenta con frequenze del 1, 2 % in area frontale, parietale destra, occipitale, temporale sinistro e zigomatica destra.

Morfotipo I

Il morfotipo I si presnetta con frequenza del 2% in zona frontale, paritale e temporale sinistro e occipitale.

Di seguito vengono riportate frequenze e distribuzioni dei diversi morfotipi nel campione in funzione del diverso intervallo post mortale. Come precedentemente descritto i corpi sono stati recuperati in un intervallo temporale di oltre un anno, essendo noto il periodo di recupero di ciascun elemento è stato possibile attribuire ai campioni analizzati, gli 88 crani e i prelievi dei 164 individui, un preciso PMI. I dati sono stati quindi rappresentati in funzione degli otto diversi intervalli post mortali noti. Di seguito viene riportata la frequenza totale di tracce biologiche riscontrata nei campioni in funzione del diverso PMI (Figura 3.4.21).

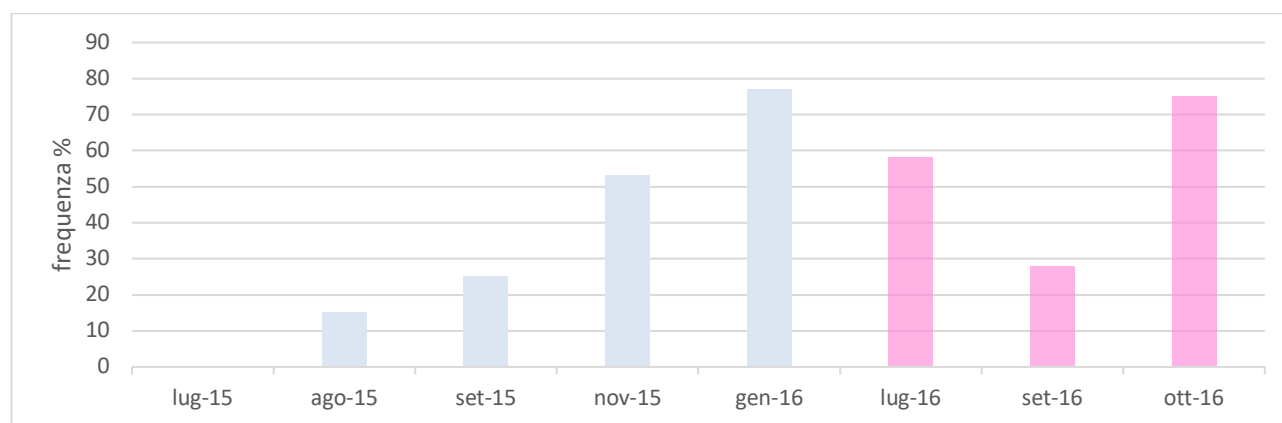


Figura 3.4.21 Frequenza totale di tracce biologiche riscontrata in tutti i campioni (in azzurro i campioni provenienti dalle prime 164 vittime costituite da elementi del cranio e del post cranio, in rosa i crani recuperati nelle ultime missioni) campioni in funzione del diverso PMI

Come mostrato dall'istogramma vi è un incremento nella frequenza delle tracce osservate a partire dal primo intervallo, luglio 2015, fino a gennaio 2016. In tale tratto la frequenza passa da 0 a quasi l'80% di presenza nei campioni. Il trend risulta costante quindi per i campioni derivanti dai 164 individui. Meno chiaro invece il trend successivo, quello relativo ai crani commisti, che appare altalenante con un valore di circa 60% a luglio 2016, seguito da un netto calo nei campioni di settembre dello stesso anno, circa 30%, ed infine da un brusco aumento per tornare a valori prossimi a quelli di gennaio.

Di seguito vengono riportati i dati relativi a distribuzione e frequenza dei singoli morfotipi nell'intervallo temporale (Figura 3.4.22).

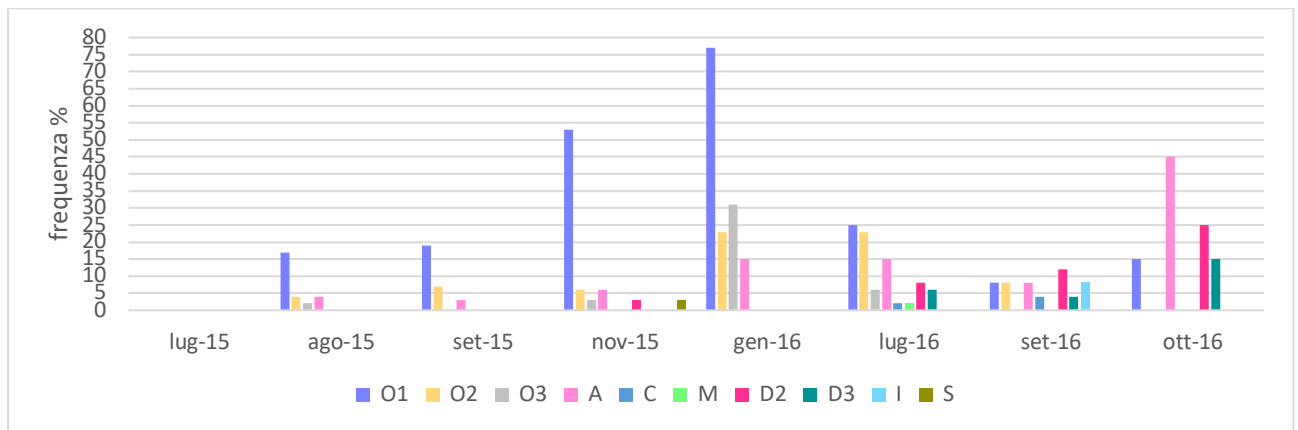


Figura 3.4.22 Istogramma riassuntivo della distribuzione dei morfotipi all'interno dei campioni in funzione dell'intervallo post mortale degli stessi

Il morfo tipo O1 presenta un trend piuttosto lineare nei primi cinque tempi considerati, con un incremento costante della frequenza nei campioni che passa dallo 0 a quasi l'80%. Nel tratto successivo, presenta frequenze nettamente più basse con un 30% a luglio 2016, poco più del 5% a settembre dello stesso anno e circa il 15% a ottobre. La traccia O2 mostra nel complesso un trend a parabola con una crescita tra luglio e novembre 2015, un plateau tra gennaio e luglio 2016 ed una successiva decrescita. Tale morfotipo, tuttavia, presenta sempre frequenze nettamente inferiori al precedente con un massimo del 23%.

O3 presenta frequenze estremamente basse (intorno al 5%) o risulta del tutto assente in tutto l'intervallo con la sola eccezione dei campioni di gennaio 2016 in cui supera il 30%. Il morfotipo A mostra un trend di crescita pur se non costante, che lo porta a raggiungere il 45% a ottobre 2016. Il morfo tipo ci risulta presente sempre con frequenze inferiori al 5% esclusivamente a luglio e settembre 2016. Anche il morfotipo M appare esclusivamente nei campioni di luglio 2016 con una frequenza del 2%. Un trend sembra invece osservabile per la traccia D2 che compare per la prima volta nei campioni di novembre 2015 e da quel momento si presenta con frequenza via via crescente fino a ottobre 2016 passando dal 2 al 25%, unica eccezione il campione di gennaio 2016 dove la traccia risulta assente. La traccia D3 compare invece per la prima volta a luglio 2016 dove presenta una frequenza di poco superiore al 5%, presente anche nei campioni di settembre 2016 con una frequenza di poco inferiore ed infine in quelli di ottobre 2016 dove mostra la frequenza maggiore pari al 15%. Il morfotipo I si presenta esclusivamente nei campioni di settembre 2016 con una frequenza inferiore del 8%. Infine, il morfotipo S si presenta esclusivamente nei campioni di novembre 2015 anch'esso con frequenza inferiore al 5%.

Tracce imputabili ad elementi abiotici fisici

Le sole tipologie di tracce, ascrivibili a questa categoria, riscontrate nei campioni esaminati sono: abrasione e sbiancamento che verranno considerate come un'unica traccia per la loro sincrona ricorrenza e esfoliazione/sfaldamento. Tali tracce ricorrono, nei diversi settori, come descritto:

Settore mare

settore MARE- Tracce imputabili ad elementi abiotici fisici

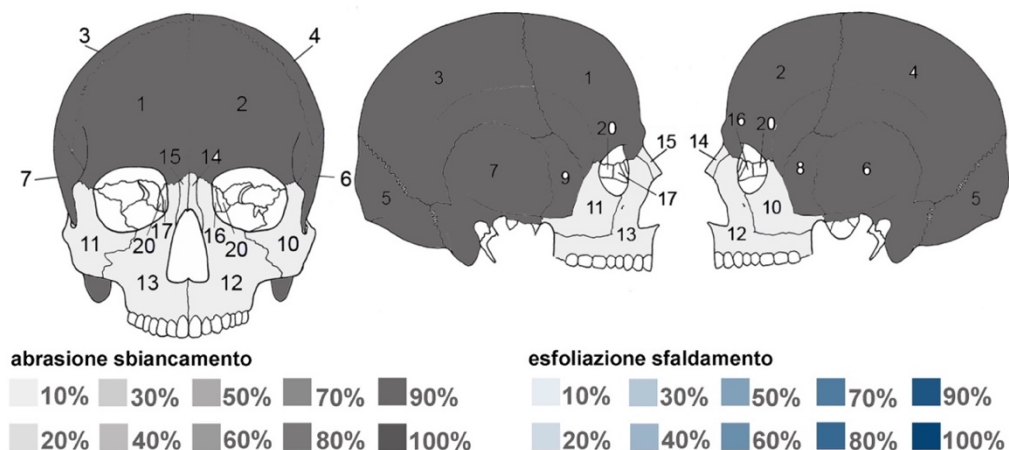


Figura 3.4.23 Frequenza delle tracce imputabili ad agenti abiotici fisici nelle diverse zone del cranio dei campioni del settore mare

Le uniche tipologie di tracce imputabili all'azione da elementi abiotici fisici riscontrate nei campioni provenienti dal settore mare sono abrasione e sbiancamento che si presentano in tutti i campioni studiati. La quasi totalità dei campioni mostra la combinazione di queste due azioni localizzata sulla volta cranica (90%), mentre una percentuale minore mostra abrasione e sbiancamento in regione facciale (10%) (Figura 3.4.23).

Settore coperta

settore COPERTA Tracce imputabili ad elementi abiotici fisici

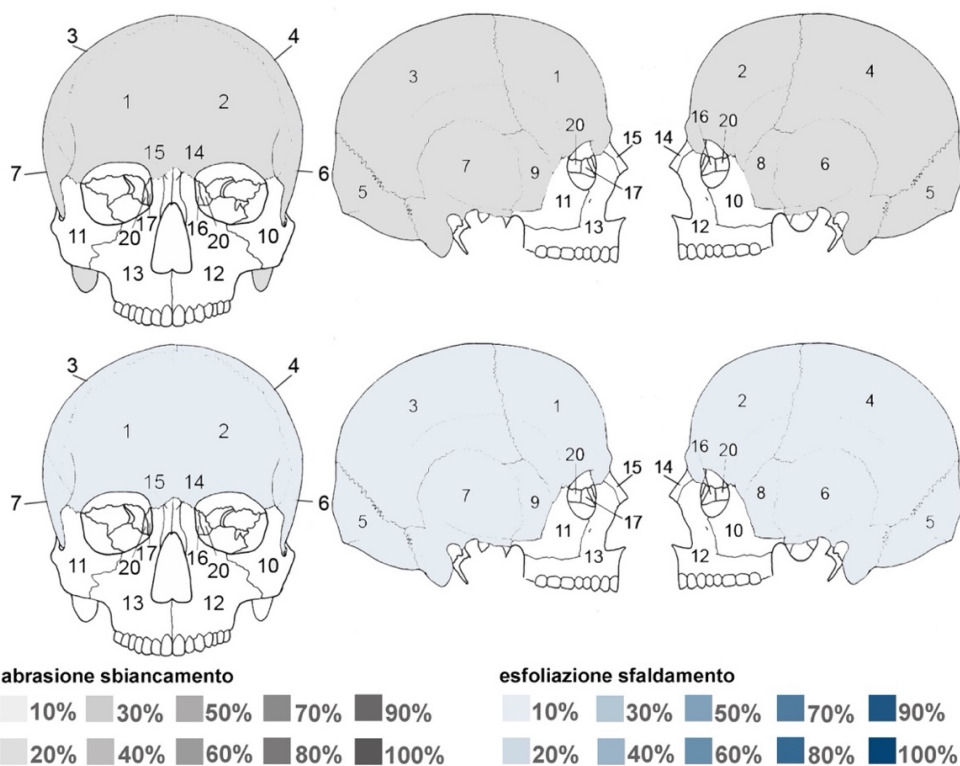


Figura 3.4.24 Frequenza delle tracce imputabili ad agenti abiotici fisici nelle diverse zone del cranio dei campioni del settore coperta

I campioni provenienti dalla coperta presentano entrambe le tipologie di tracce osservate: come nei campioni del mare è presente evidenza dell'azione combinata di abrasione e sbiancamento sulla volta cranica, pur se in percentuale minore (circa 30%). Compare invece evidenza, in un singolo caso, di esfoliazione e sfaldamento interessante la volta cranica (Figura 3.4.24).

Settore sala macchine

settore SALA MACCHINE Tracce imputabili ad elementi abiotici fisici

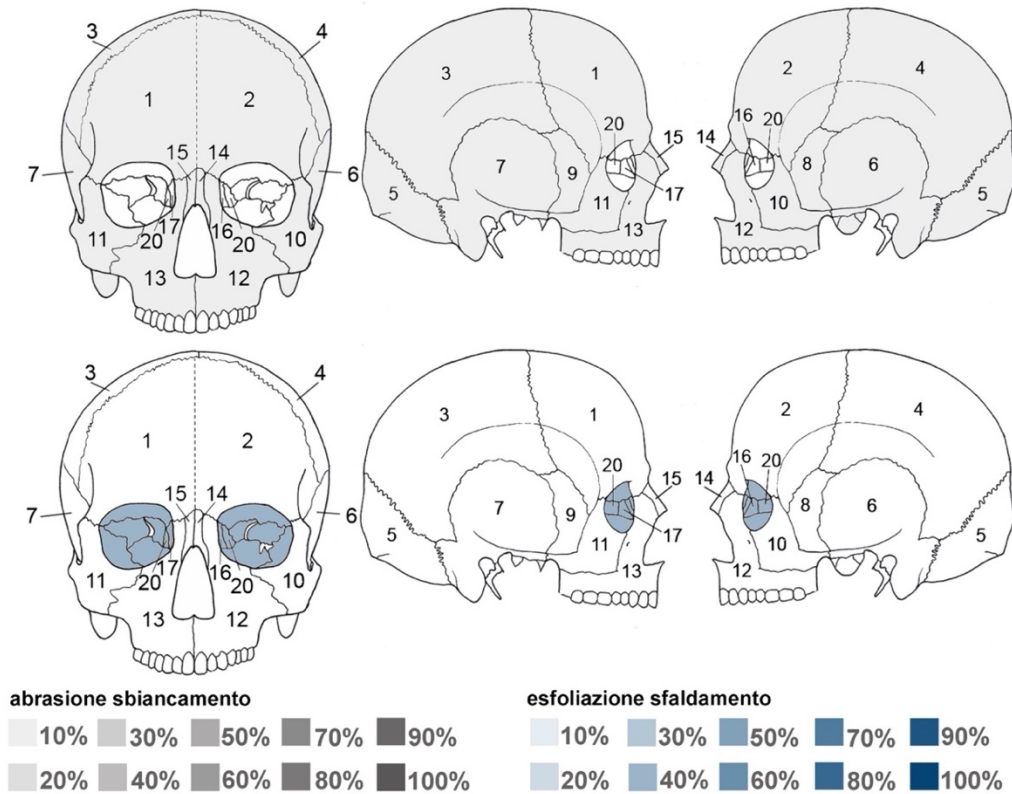


Figura 3.4.25 Frequenza delle tracce imputabili ad agenti abiotici fisici nelle diverse zone del cranio dei campioni del settore sala macchine

I campioni provenienti dalla sala macchine presentano segni di abrasione e sbiancamento interessanti, nel complesso, l'intero cranio, pur se con percentuali molto basse (circa 20%), più frequente è invece l'esfoliazione e sfaldamento che interessa le superfici orbitarie con una frequenza del 40% (3.4.25).

Settore stiva

settore STIVA Tracce imputabili ad elementi abiotici fisici

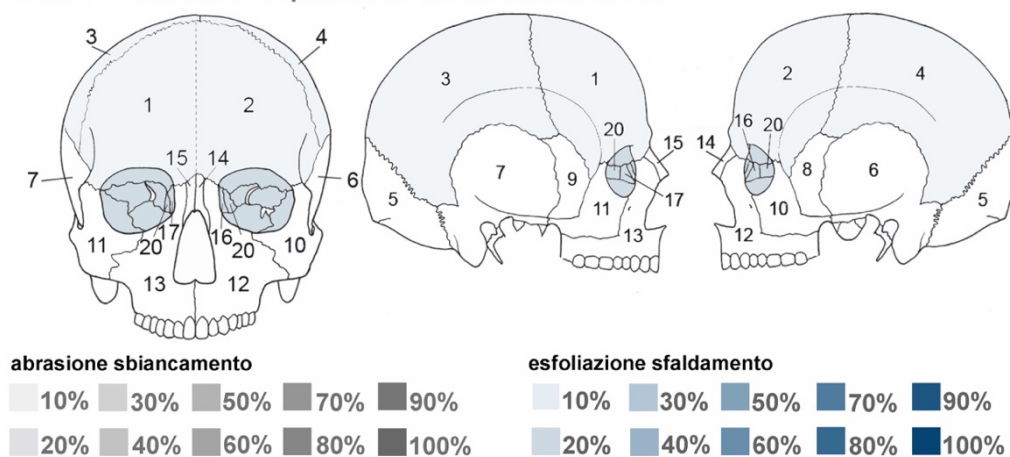


Figura 3.4.26 Frequenza delle tracce imputabili ad agenti abiotici fisici nelle diverse zone del cranio dei campioni del settore stiva

I campioni provenienti dalla stiva presentano tracce di esfoliazione e sfaldamento che interessano prevalentemente le cavità orbitarie (20%) e in misura minore la volta cranica (5%) (Figura 3.4.26).

Settore sentina

settore SENTINA Tracce imputabili ad elementi abiotici fisici

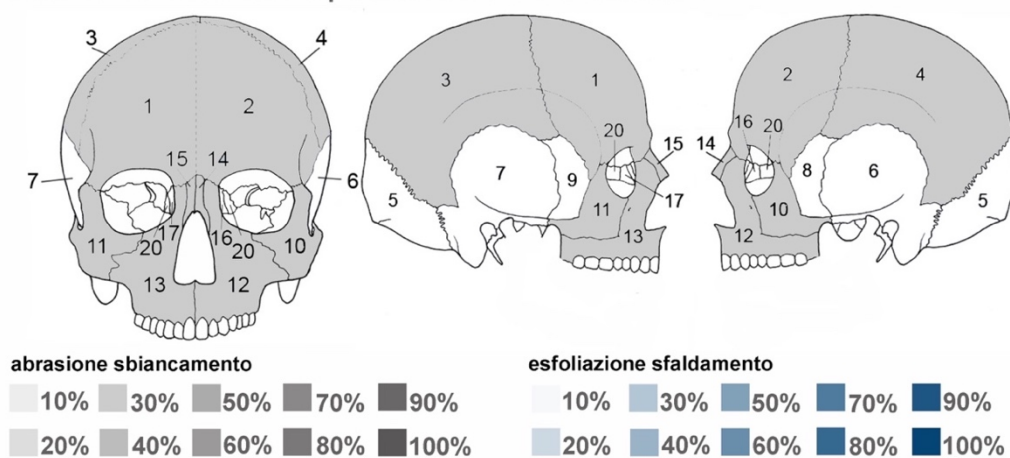


Figura 3.4.27 Frequenza delle tracce imputabili ad agenti abiotici fisici nelle diverse zone del cranio dei campioni del settore sentina

Infine, i campioni provenienti dalla sentina presentano esiti di abrasione e sbiancamento localizzati su volta cranica e in zona facciale con una frequenza del 30% (Figura 3.4.27).

Tracce da calore

Nessuno degli elementi ossei analizzati a mostrato tracce riconducibili ad azione da calore.

Tracce imputabili ad azione umana

Una percentuale ridotta di campioni, distribuiti in tutti i settori ad eccezione della sentina, presentano segni di azione umana. Segni che si concretizzano in tutti ad eccezione di un caso in tracce di spazzolamento, soluzioni di continuo con perdita di sostanza superficiali a margini arrotondati, disposte in cluster di più tracce parallele tra loro. Unica eccezione è una singola soluzione di continuo lineare superficiale con margini netti che decorre grossomodo parallela al piano sagittale del corpo per quasi la totalità del cranio attribuibile ad azione di strumento tagliente. I segni da spazzolamento risultano avere frequenza maggiore nei campioni provenienti dal settore mare (18%), seguito da coperta (7%), sala macchine e stiva (5%); tali tracce inoltre sembrano collocarsi preferenzialmente nei campioni il cui colore generale è stato valutato come bianco pallido.

3.4.1.3 Discussioni

L'analisi tafonomica su resti ossei riveste una grande importanza in contesto forense sotto diversi aspetti, la comprensione dei fenomeni post mortali che hanno agito su un elemento può essere determinante per comprendere il luogo nel quale questo ha trascorso in toto o in parte l'intervallo post mortale, ma può essere di aiuto anche per comprendere la durata dell'intervallo stesso. Ancora l'indagine tafonomica può essere fondamentale per interpretare correttamente tracce di altra natura discriminando ad esempio un segno di lesione da arma bianca da quello di un animale necrofago (Pokines e Symes, 2014). Gli agenti tafonomici di ambiente marino sono ad oggi piuttosto noti almeno nelle loro macrocategorie: agenti fisico-chimici come l'azione di sbiancamento dovuta ad acqua e sali, o l'azione erosiva dovuta al sedimento ma anche l'alterazione cromatica estesa o localizzata dovuta al contatto con metalli o minerali (Parsons e Brett, 1991; Higgs e Pokines, 2013). Vi è poi l'azione dovuta ad elementi biologici, in questo ambito, pur essendo ben note le macrocategorie di organismi che utilizzano l'osso quale substrato, piuttosto scarse sono le conoscenze in merito alle tracce che essi lasciano conoscenze che in genere si limitano a generiche informazioni sul meccanismo di azione, come la radula dei gasteropodi o la lanterna degli echinodermi (Jangoux 1982; Bromley 1994). Questo determina la grande difficoltà nell'attribuire una precisa traccia ad un organismo quando non vi siano più i resti dello stesso. Inoltre, anche le conoscenze esistenti non coprono in modo omogeneo tutti i bacini del mondo, molta della letteratura sul tema localizza le sue ricerche su oceano Atlantico e pacifico (ad esempio Hoyoux et al. 2012; Braby et al. 2007).

Tuttavia, nel caso in esame si era in possesso di un campione molto ampio del quale diverse variabili importanti erano note, quali; il tempo di permanenza in acqua, noto e vario, il luogo esatto e le condizioni micro-ambientali, costituite dal settore di provenienza della barca. Per questo è stato possibile condurre una prima analisi e raccolta delle tracce tafonomiche considerando quelle citate come le due variabili fondamentali.

Come precedentemente spiegato il campione era costituito da due tipologie diverse di elementi; crani facenti parte del materiale commisto, che rappresentavano il campione con intervallo post mortale maggiore ma che costituivano anche un campione omogeneo per elemento osseo ma rappresentativo di tutti i settori della barca. Per queste ragioni, tali campioni sono stati destinati in primo luogo ad un'analisi volta a valutare l'effetto del settore di provenienza del campione su quantità e qualità delle tracce osservate al netto della costanza dell'elemento anatomico rappresentato. La seconda tipologia di materiale era costituita da elementi ossei vari, prelevati dalle prime 164 salme recuperate, quindi con il minore intervallo post mortale. Questi elementi, insieme ai precedenti, sono stati analizzati al fine di valutare l'effetto dell'intervallo post mortale, che nel complesso copriva l'intero intervallo temporale a disposizione, su qualità e qualità e quantità delle tracce.

Effetto del settore dell'imbarcazione di provenienza

Per quanto riguarda il colore generale, si è osservato come i campioni provenienti dal mare presentavano diffusamente tracce di sbiancamento, effetto noto ed attribuito alla reazione chimica dei costituenti dell'osso con l'acqua salata (Higgs and Pokines, 2013), tali tracce erano ancora presenti in parte nei campioni provenienti dalla coperta settore attiguo e con il quale quindi era ragionevole aspettarsi una commistione del campione. Evidenze di sbiancamento erano ancora presenti nei campioni provenienti dalla sala macchine associate a percentuali considerevoli di campioni color marrone. Crani di questo colore costituivano quasi il 50% del totale nel settore stiva. Il progressivo aumento dei crani con questa colorazione spostandosi da settori aperti come il mare e la coperta a settori chiusi come stiva e sala macchine, può trovare spiegazione nelle ben noti effetti del contatto con ferro, legno o altri affini che possono scurire il campione (Cronyn 1990; Guthrie 1990; Schultz et al. 2003). Nessuna alterazione del colore generale si riscontra invece nei campioni della sentina, questo, in apparente contrasto con quanto sopra riportato, deve tuttavia essere letto alla luce della scarsità di campioni provenienti da questo settore, e quindi dalla possibilità di un campione non rappresentativo dell'area.

Strettamente correlato al colore generale sono le tracce imputabili a elementi a biotico fisici, è infatti ad una combinazione di fattori chimico fisici che si deve ad esempio lo sbiancamento sopracitato; si è già accennato alla reazione chimica dovuta all'acqua salata; tuttavia, lo sbiancamento è imputabile anche a un'azione di erosione che ambienti acquatici possono applicare su resti scheletrici. Tutti i campioni definiti bianco pallidi per quanto riguarda il colore generale infatti associavano a questo dato cromatico una consistenza secca e ruvida al tatto segno per l'appunto dell'azione erosiva. Tale azione risulta nettamente dominante sui campioni provenienti dall'ambiente mare, quelli quindi più esposti all'ambiente stesso ed in particolare sulle loro porzioni più esposte. I campioni provenienti dal settore coperta mostrano ancora segni di azione erosiva e sbiancamento pur se con minore frequenza, tracce alle quali si associa lo sfaldamento e l'esfoliazione con frequenza molto bassa ed anche esso localizzato alla volta cranica. Questa seconda traccia, per la bassa frequenza e la localizzazione pressoché unica nell'intero campione, non trova al momento una genesi specifica. Per quanto riguarda i settori sala macchine e stiva, di interesse risulta la presenza, con frequenza relativamente alta, di esfoliazione e sfaldamento all'interno delle cavità orbitarie. Tale evidenza potrebbe essere attribuita alla ripetuta variazione di condizioni tra sommersione ed emersione (e conseguente scioglimento e cristallizzazione dei sali), dei campioni su porzioni di osso estremamente delicate (Schultz, 2013); effetto infatti è stato riscontrato esclusivamente in settori noti, dalle ricognizioni eseguite dal personale dei vigili del fuoco, per essere scarsamente comunicante con i settori circostanti e all'interno dei quali è quindi possibile ipotizzare la presenza di bolle d'aria. I campioni della sentina mostrano nuovamente effetto esclusivo di erosione e sbiancamento, va tuttavia considerato ancora una volta il ridotto valore del dato tratto da un numero molto basso di campioni. Per quanto riguarda la presenza di macchie non si è riscontrata una variazione importante da un punto di vista qualitativo tra i campioni provenienti dai diversi settori della barca; quasi tutti i settori, infatti, mostravano sei categorie principali di macchie con frequenze minime del 20%, alle quali si associavano categorie con frequenze basse ed estremamente incostanti. Delle sei categorie principali, tre mostrano un andamento crescente passando dal mare alla sentina attraverso coperta sala macchine e stiva, si tratta delle macchie color ruggine, marroni e verdi.

Per quanto riguarda le macchie color ruggine, la cui distribuzione nel cranio appare uniformemente abbondante, la genesi è imputabile al contatto con ferro o suoi composti. Tali macchie trovano quindi ragione di abbondanza in campioni provenienti da settori ricchi di tale materiale e nei quali ristagnava

acqua ricca, di conseguenza, in tale elemento, condizione che sembrerebbe aver influito anche sul colore genarle, come sopra riportato. Le macchie marroni allo stesso modo possono trovare spiegazione nel contatto con materiale legnoso costituente l'interno dell'imbarcazione ma anche con lo stesso materiale ferroso, anche in questo caso la distribuzione nel cranio sembra avvalorare l'origine esogena delle stesse non risultando connessa a strutture anatomiche particolari ma solo alla maggiore o minore esposizione delle aree. Le macchie verdi invece, per la localizzazione e il loro aspetto sembrano avere un'origine più probabilmente endogena che esogena, la loro quindi maggiore frequenza in ambienti chiusi, quali stiva e sentina, potrebbe trovare ragione nella maggiore persistenza dei tessuti molli e dei liquami in questi campioni rispetto a quelli più esposti all'ambiente esterno come quelli di mare e coperta.

Le macchie nere risultano abbastanza abbondanti (tra il 30 e il 50%) e presenti in tutti i settori eccetto la stiva, esse si collocano prevalentemente sulla volta cranica in modo abbastanza omogeneo. Morfologia e collocazione suggeriscono una origine endogena di questo tipo di macchie che tuttavia al momento non trova una spiegazione precisa; se infatti, in ambiente terrestre, le macchie nere sono note per derivare dal contatto con suoli ricchi di sostanza organica o di minerali del medesimo colore, nel contesto in esame risulta difficile ipotizzare l'elemento responsabile. Le macchie grigie risultano costantemente presenti, con frequenze anche superiori al 50%, in settori quali sala macchine e sentina, esse risultano presente grosso modo su tutto il cranio pur risultando più abbondanti in regione frontale parietale e temporale. Tali macchie per la loro localizzazione, spesso in prossimità delle suture, sembrerebbero essere dovute all'accumulo di sostanza organica in aree protette del cranio. Al contrario le macchie rosa anche presenti in tutti i settori, pur se con frequenze inferiori, sembrano avere un'origine del tutto esogene dovuta al contatto con materiali presenti nell'ambiente fatto che sembrerebbe avvalorato dalla collocazione prevalente in area frontale, parietale, aree quindi più esposte e maggiormente soggette all'alterazione da parte di agenti esterni. Un'altra tipologia di macchia ricorrente è quella blu/azzurra, presente nei campioni provenienti da tutti i settori, essa potrebbe trovare la sua genesi nel contatto con vernice di analogo colore che rivestiva tanto l'esterno dell'imbarcazione, nella sua porzione emersa, quanto buona parte della coperta. Ad avvalorare quest'ipotesi il fatto che tali macchie risultano esclusivamente sulla volta cranica, sull'occipitale e sulle ossa zigomatiche, in tutte quelle aree quindi che più facilmente possono entrare a contatto con le superfici in fase di appoggio. Altri tipi di macchie presentano frequenze basse e non mostrano correlazioni evidenti né con la zona di provenienza del cranio né con le diverse aree del cranio stesso. La loro genesi e quindi genericamente da attribuirsi a fenomeni e contatti casuali e difficilmente prevedibili.

Pressoché onnipresente, pur se sotto forma di piccoli aggregati, il materiale aderente è costituito per la quasi totalità da tessuto molle sotto forma di adipocera, coerente con l'ambiente acquatico e fresco di permanenza, o da residui nerastri di materiale decomposto collocati prevalentemente nel cranio interno e nelle zone più protette (O'Brien e Kuehner, 2007). Esso non mostra correlazione con il settore di provenienza nella barca se non per una maggiore abbondanza di materiale aderente sulle superfici esterne dei crani provenienti dagli ambienti chiusi rispetto a quelli di mare e coperta.

Per quanto riguarda gli agenti biologici, si osserva come la maggiore varietà di tracce è presente nei campioni provenienti dall'ambiente mare, tale varietà decresce spostandosi verso gli ambienti più chiusi e meno accessibili. Quantitativamente dominanti risultano, in generale, le tracce denominate O1, O2, A e D3. La traccia O1 in particolare è presente con una frequenza di circa il 60% sui campioni provenienti dall'ambiente mare, meno presente risulta invece negli altri settori e del tutto assente nella sentina, al contrario, la traccia A, risulta assente nell'ambiente mare e progressivamente più

abbondante spostandosi dalla coperta alla sala macchine e infine alla stiva, anch'essa risulta assente nel settore sentina. Questi due morfotipi sembrano quindi associati ad organismi con esigenze ecologiche diverse: di ambienti più aperti e accessibile il primo e di ambienti più chiusi e protetti il secondo.

Per quanto riguarda l'aspetto interpretativo, la traccia denominata O1 mostrava discrete somiglianze, tanto in termini dimensionali quanto morfologici, con evidenze descritte già in letteratura in contesti analoghi (Sorg et al., 1997; Ribéreau-Gayon et al., 2018). In particolare, i segni osservati risultavano coerenti con quanto descritto per le tracce attribuite al genere *Osedax*, il così detto “verme mangia ossa”, citato all'inizio di questa trattazione (cap.1 paragrafo 1.3.1.2 tafonomia di ambiente marino) (Egeland 2020; Tresguerres et al. 2013; Higgs, 2011). Anche la localizzazione di tali tracce risulta in accordo con questa interpretazione, risultando esse localizzate prevalentemente sulle aree più esposte del cranio, aree che ragionevolmente sono scheletrizzate prima liberando quindi superficie idonea alla loro attività. Alla luce del meccanismo di azione di questo organismo è stato possibile ricondurre alla medesima genesi anche le tracce denominate O2 e O3, rispettivamente come forme temporalmente precedenti e successive della traccia O1 (Figura 3.4.28). I fori sulla superficie dell'osso, dove i tubi di *Osedax* penetrano formando cavità bulbose che rimangono separate da setti di tessuto parzialmente conservato, sono solitamente circondati da un alone di precipitato nero che a volte si presenta grigio a causa dei batteri che crescono su queste aree. Questi aloni corrispondono esattamente all'estensione del tessuto radicolare sotto lo strato superficiale dell'osso. La cavitazione è chiusa da un sottilissimo strato di tessuto osseo di pochi micrometri di spessore che tuttavia alla morte dell'organismo può collassare esponendo la cavità sottostante. Se per alcune specie sembra probabile che il nutrimento sia costituito proprio dal tessuto osseo in sé e dal collagene in esso presente e non dal materiale lipidico, non è ancora chiaro se questo sia valido per tutto il genere. Studi infatti sono stati fatti solo su poche specie, per esempio è noto che *Osedax mucofloris* scavi il tessuto osseo grazie alla presenza di mucopolisaccaridi acidi in un processo quindi non esclusivamente meccanico ma mediato da un'azione chimica, inoltre beneficerebbe di associazioni con organismi simbiotici che gli permetterebbero di sfruttare enzimi collagenolitici. Si avrebbe quindi, prima un'azione meccanica con cui le radici penetrano nel tessuto e poi un'azione chimica che permetterebbe lo scioglimento della componente minerale (Higgs, 2011).

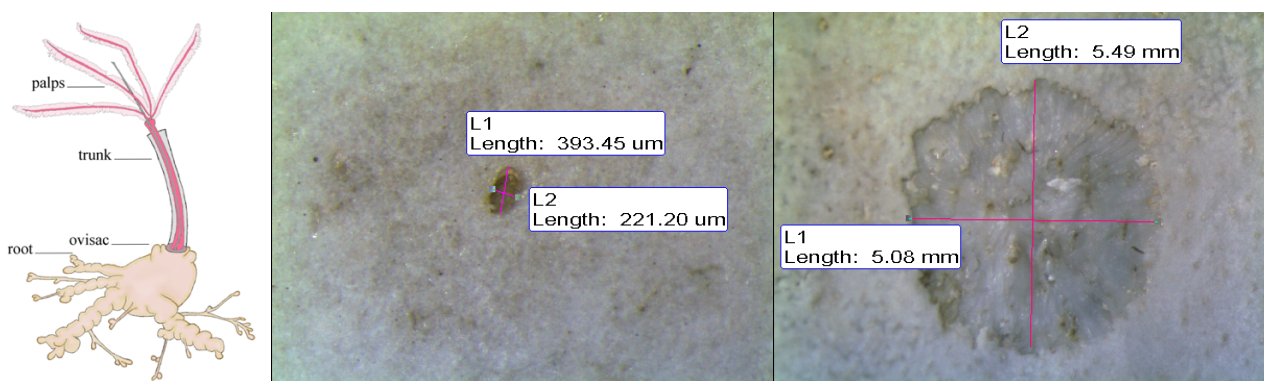


Figura 3.4.28 A sinistra *Osedax*, al centro e a destra tracce attribuite al genere *Osedax*, identificate come morfotipo O2 e O1

Per quanto riguarda i morfotipi I e N, la genesi sarebbe invece da attribuire a vertebrati quali piccoli pesci; infatti, la morfologia delle soluzioni risulta molto simile a quella osservata anche in ambiente terrestre come esito dell'azione di grattamento dei denti (Pokines, 2013).

Organismi sessili potrebbero essere responsabili delle tracce denominate D2, D3 e E, la lunga permanenza sarebbe infatti suggerita dal residuo di materiale aderente esterno.

Infine, i morfotipi C e A, il primo, estremamente diffuso soprattutto in regione parietale e occipitale. Il secondo, localizzato prevalentemente in regione parietale, occipitale e temporale, potrebbe essere attribuito all'azione di molluschi gasteropodi che, per mezzo della radula raschiano l'osso alla ricerca di sostanze nutritive accumulate in prossimità di forami nutritizi o altre cavitazioni del tessuto osseo. Anche il morfotipo S, in accordo con quanto riportato, fa la sua comparsa su campioni provenienti dall'ambiente mare, in particolare su uno di quei 164 individui recuperati nelle prime fasi dai dintorni dell'imbarcazione. Le molteplici tracce rinvenuti sui campioni, simili a prima vista a quelle generate da un'arma da taglio, sono state attribuite, grazie alle distintive striature parallele, alle dentellature e all'associazione con fratture, tipica del meccanismo di alimentazione, a lesioni da squalo (Cigala-Fulgosi, 1990) (Figura 3.4.29). Le lesioni in questo caso interessavano cinque diversi distretti ossei di un singolo individuo (sterno, coste, vertebre e scapola) mostrando diverse morfologie: azione da taglio con margini dentellati e striature, lesioni combinate da taglio e raschiatura con le classiche striature parallele ma anche lesioni da punta. Indagini di dettaglio sono ancora in corso per determinare la specie di squalo nonché per determinare il numero di morsi che ha caratterizzato la dinamica di predazione o necrofagia.



Figura 3.4.29 A sinistra e al centro lesioni da squalo, identificate precedentemente come morfotipo S, a destra esemplare di squalo

La presenza di squali e la loro avvenuta interazione con le vittime del naufragio del 18 aprile, tuttavia, sembra avvalorata anche dal rinvenimento di un dente associato ai resti di una delle vittime. Questo elemento sottoposto all'analisi da parte di personale specializzato dell'Università di Pisa è stato determinato come un dente superiore anteriore (1° o 2° posizione a partire dalla sinfisi) di squalo bianco (*Carcharodon carcharias*). L'esemplare di appartenenza poteva misurare tra i 5,05 e i 5,25 m di lunghezza, trattandosi quindi di un esemplare pienamente adulto (Figura 3.4.30).

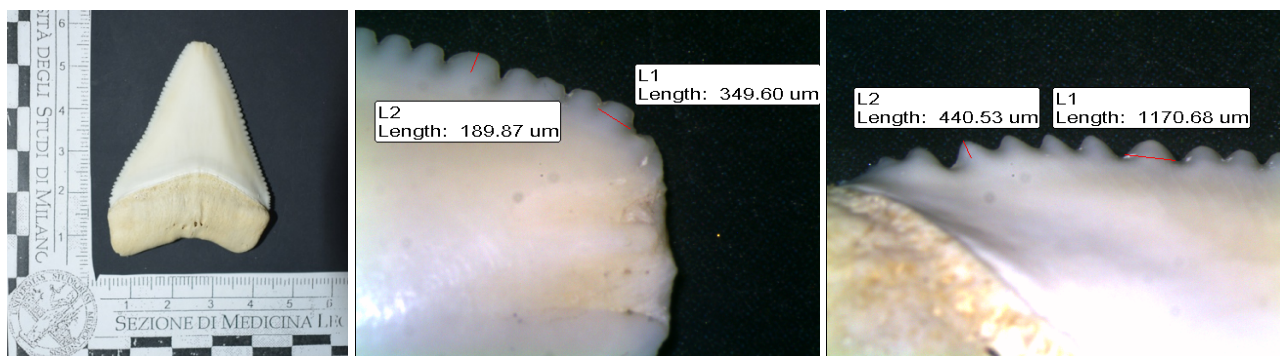


Figura 3.4.30 A sinistra dente di squalo, identificato come appartenere a un esemplare di *Carcharodon carcharias*, al centro e a destra dettagli del margine dentale in microscopia episcopica

Infine, alcune considerazioni vanno fatte sulla presenza di tracce imputabili ad azione umana, tali tracce, riscontrate soprattutto sui campioni che avevano già subito l'azione di erosione sbiancamento, erano rappresentate da tracce da spazzolamento, tracce lineari superficiali. Queste tracce, di scarsa importanza se correttamente interpretate, qualora questo non venga fatto possono indurre, come è ben noto in contesto forense, ad interpretazioni ingannevoli soprattutto quando le attività di pulizia vengano fatte in modo più invasivo.

Effetto dell'intervallo post mortale su quantità e tipologia delle tracce biologiche

Osservando l'istogramma sopra riportato, è possibile notare come i campioni con l'intervallo post mortale più ridotto, pari a tre mesi, non presentano tracce biologiche di alcun tipo, al contrario, i campioni con un PMI di solo un mese in più, presentano quattro diversi morfotipi di tracce biologiche, riconducibile verosimilmente a due diversi ordini di organismi, tra cui *Osedx* per quanto riguarda le tracce O1, O2 e O3. Questo fatto sembra coerente con l'azione da parte di piccoli organismi necrofagi che, almeno in parte, ricercano proprio il tessuto osseo per nutrirsi o per usarlo come substrato e che quindi hanno bisogno che il tessuto stesso sia esposto, il che ne limita la presenza nei primissimi intervalli post mortali (Higgs et al., 2011).

Il morfotipo S, lesioni da squalo, è stato rinvenuto in un singolo campione con intervallo post mortale pari a 7 mesi; tuttavia, in questo caso siamo di fronte a tracce attribuite ad organismi le cui abitudini sono sia da predatori che da necrofagi (Fallows et al., 2013), è necessario quindi in primo luogo comprendere a quale di queste due dinamiche ci si trovi di fronte. Per poter adattare la lesione e attribuirle quindi all'intervallo peri mortale o post mortale saranno necessarie analisi specialistiche, tuttavia, attualmente entrambe le ipotesi rimangono valide. Tale traccia al contrario di quanto detto per le precedenti sembra in ogni caso, ragionevolmente riconducibile al primo intervallo post mortale essendo gli squali organismi che, anche nel loro ruolo di necrofagi, ricercano i tessuti molli e il materiale adiposo (Fallows et al., 2013).

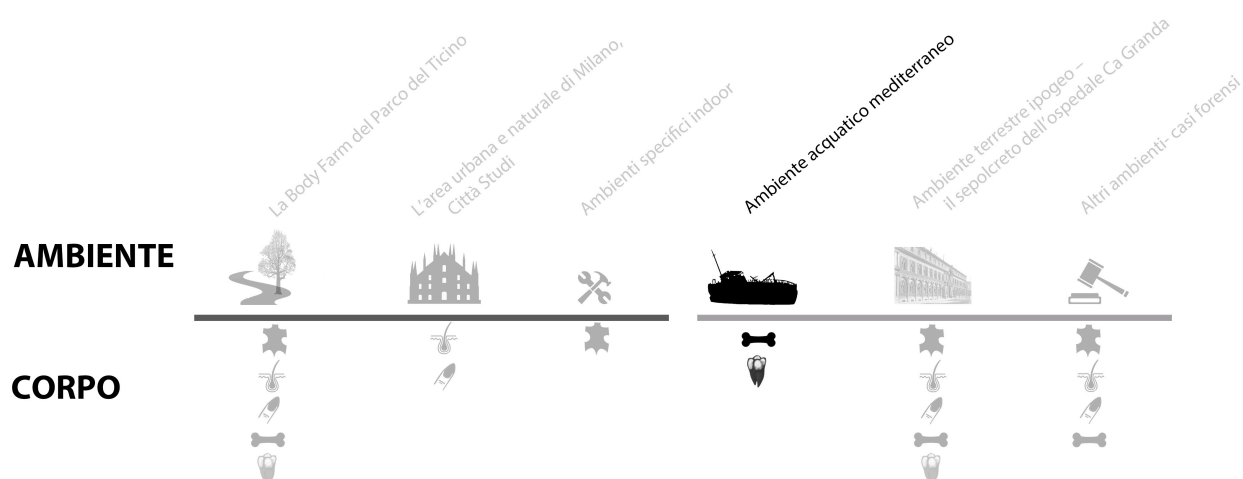
Infine, nei campioni di settembre 2016 sono state rinvenute tracce identificate con il morfotipo I, ipoteticamente riconducibili all'azione dei denti di pesci o in generale organismi che brucano su substrati duri alla ricerca di cibo quali alghe o altri animali (Sorg et al., 1997).

Il numero di morfotipi presenti aumenta una volta raggiunto il mese di novembre 2015 quando i resti hanno ormai un intervallo post mortale di circa sette mesi, ancora più ricchi da un punto di vista della tipologia di traccia risultano i campioni di luglio 2016 (PMI 15 mesi), settembre e gennaio 2016 che tuttavia mostrano frequenze delle diverse tipologie nettamente più basse.

Da un punto di vista quantitativo, infatti, si può osservare che se il primo intervallo temporale compreso tra luglio 2015 e the gennaio 2016 mostra un progressivo aumento nella frequenza dei morfotipi presenti nell'intervallo successivo le frequenze risultano generalmente più basse e non sembra più possibile delineare un trend costante di crescita. Va tuttavia considerata la diversa natura dei due blocchi di campioni i primi, infatti, sono i campioni delle prime 164 salme recuperate dal mare sono quindi costituiti da elementi scheletrici vari afferenti a cranio e post cranio e provengono tutti appunto dal settore mare, i secondi invece sono i crani facenti parte degli elementi commisti e provengono dai diversi settori dell'imbarcazione. Vi sono quindi due differenze importanti, una differenza di zona di provenienza e una di tipologia dell'elemento considerato. Se tuttavia si osserva il campione di luglio 2016, comprendente i crani provenienti dal settore mare e dal settore coperta, si osserva una certa somiglianza da un punto di vista qualitativo con i campioni precedenti; è ancora presente traccia di Osedax (morfotipi O1, O2 e O3) così come la traccia A, ossia i morfotipi caratterizzanti tutto il primo intervallo temporale. Sembrerebbe quindi possibile ipotizzare che il fattore zona di provenienza dell'imbarcazione rivesta un ruolo dominante rispetto al differente elemento osseo considerato nel giustificare la discrepanza tra i due blocchi di dati.

3.4 Ambiente acquatico mediterraneo - il naufragio del 18 aprile 2015

3.4.2 Analisi delle tracce vegetali incluse nel tartaro dentale



Lo studio ha avuto come oggetto i resti delle vittime nel naufragio del 18 aprile 2015, in particolare un substrato corporeo specifico, i denti, sui quali sono state condotte analisi volte a:

- Quantificare il tartaro dentale presente e la sua distribuzione nella popolazione campione considerando come variabili l'elemento dentario considerato ma anche il settore della barca di provenienza e quindi anche le possibili implicazioni tafonomiche connesse
- Condurre un'analisi nutrizionale sulla base degli elementi vegetali presenti nel tartaro, in particolare i granuli di amido valutando il potenziale di questo tipo di indagine e per la determinazione dell'origine geografica delle vittime

3.4.2.1 Materiali e metodi

Corpo

79 crani facenti parte del pool di ossa commiste e provenienti dalle diverse aree della barca, sono stati sottoposti ad analisi semi quantitativa del tartaro dentale (Figura 3.4.31).

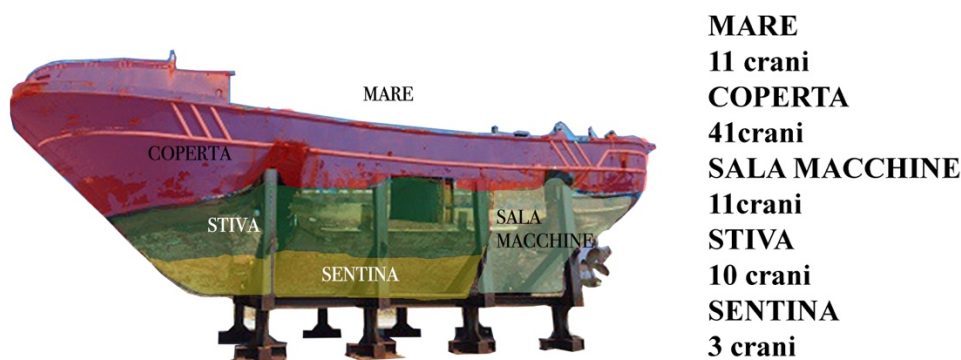


Figura 3.4.31 Immagine della barca e dettaglio della provenienza dei 79 crani oggetto di studio

Analisi semi quantitativa del tartaro dentale

Su ciascun campione è stata fatta una valutazione semi quantitativa del tartaro per ciascun elemento dentario. Per la denominazione degli elementi si è fatto uso della terminologia WHO ISO (World Health Organization, 1979) che attribuisce a ciascun dente di un emiarcata un numero progressivo dall'uno all'otto, dall'incisivo centrale al terzo molare, preceduto da un numero da una a quattro che identifica l'arcata, 1 per la superiore destra, 2 per la superiore sinistra, 3 per l'inferiore sinistra e 4 per l'inferiore destra.

Il tartaro dentale è stato valutato su ogni dente secondo il metodo sviluppato da Dobney e Brothwell (1987) i quali hanno ideato un sistema di punteggio che differenzia i gradi del tartaro dentale sopra gengivale in base allo spessore del deposito e alla superficie di corona coperta (Figura 3.4.32).

Grade	Thickness range (mm)	% of crown covered	Calculus profile	Description
0	0	None	—	No visible calculus deposit on crown or root
1	1	20	Flat	Visible deposit, very thin, normally situated around the gingival margin
2	1-2	20-50	Slightly wedge-shaped	Obvious with noticeable thickness often extending just below the cemento-enamel junction
3	2-3	50-70	Obviously wedge-shaped	Very noticeable thickness, often extending some way below the cemento-enamel junction
4	3-5	70	Thick, wedge-shaped	Very thick deposit, extending some way below the neck, where it is usually thickest and often appears disorganized

Figura 3.4.32 Tabella da Dobney e Brothwell (1987) per la valutazione del tartaro dentale

Nel caso in esame, a ciascun dente sono stati attribuiti due valori, uno per la superficie buccale e uno per quella linguale (Figura 3.4.33). Per semplicità si è soprasseduto sulla dicitura specifica dei denti anteriori, per il quali, la superficie buccale prenderebbe il nome di labiale (White e Folkens, 2005).

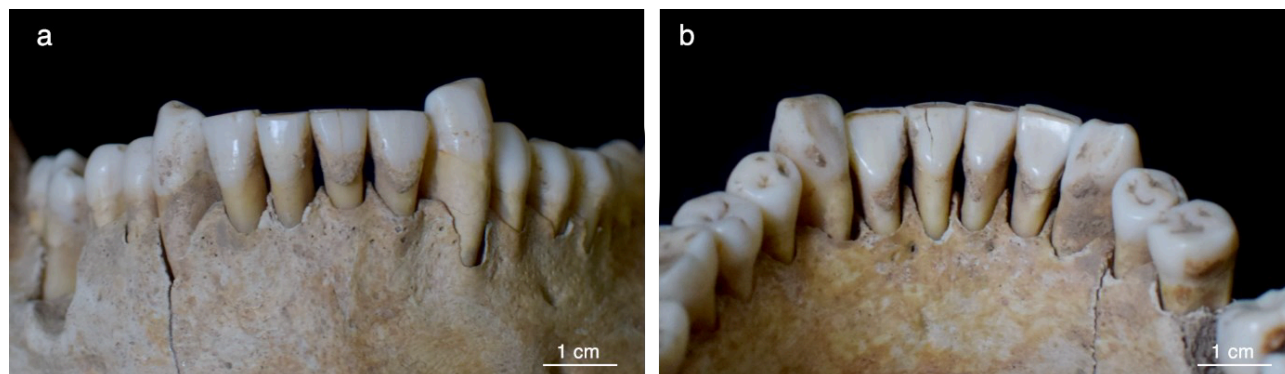


Figura 3.4.33 vista della superficie buccale e linguale dei denti anteriori

Le superfici distale e mesiale di premolari e molari sono state incluse nel punteggio delle superfici linguale e buccale. Esse sono state idealmente divise a metà, la metà laterale della superficie distale e mesiale è andata a confluire in quella buccale e la metà mediale in quella linguale (Figura 3.4.34).

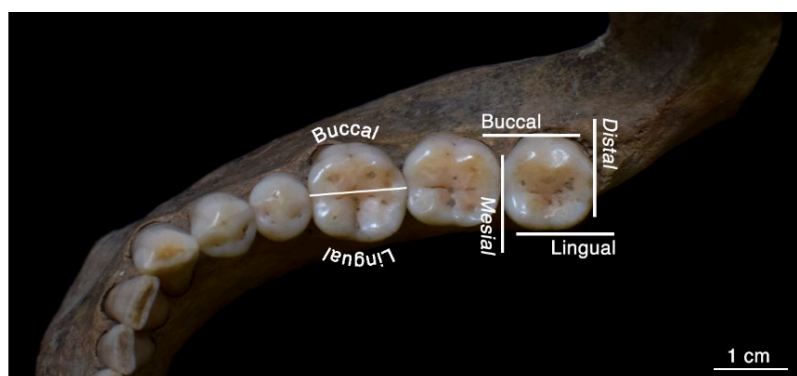


Figura 3.4.34 Immagine esemplificativa della modalità di ripartizione delle facce mesiale e distale dei denti molari nelle facce buccale e linguale

Una volta conclusa la fase di quantificazione del tartaro si è proceduto alla selezione dei crani che sarebbero stati sottoposti alla rimozione di parte del deposito ed alla sua analisi. La scelta è stata dettata da due criteri:

- L'abbondanza del deposito, prediligendo campioni che avessero ottenuto almeno un punteggio di 2 in uno o più elementi dentari
- La diversa provenienza dei campioni dalle regioni della barca

In totale sono stati selezionati e processati 28 crani mediante la rimozione e lo scioglimento del tartaro di 1 o 2 elementi dentari.

Protocollo di prelievo ed estrazione del tartaro dentale

Il tartaro è stato grattato con un'ancia (strumento in metallo costituito da una sottile asta al termine della quale vi è una punta a sezione poligonale e margini affilati) su una carta apposita, una carta che favorisca il trasferimento del materiale minimizzandone il trattenimento. Il residuo grattato è stato trasferito in una Eppendorf pulita e siglata.

A questo punto il tartaro è stato lavato con acqua distillata al fine di rimuovere eventuali contaminanti esterni; per fare ciò, acqua distillata (precedentemente filtrata con filtro a maglie di 0,2 micron) è stata aggiunta in ciascuna Eppendorf fino a raggiungere il livello di 1 ml. Il campione è stato quindi agitato tramite agitatore meccanico per 11 minuti e centrifugato a 3000 giri per 10 minuti. L'acqua di risciacquo è stata quindi rimossa e l'operazione è stata ripetuta nuovamente per tre volte, per un totale di quattro cicli di lavaggio. L'acqua di lavaggio di ciascun campione è stata conservata in provette a modi controllo.

A questo punto il tartaro lavato è stato trasferito in un contenitore cilindrico in plastica, coperto con pellicola forata, per l'asciugatura. Il campione è stato quindi lasciato asciugare mediante permanenza in stufa a 40°C per circa 5 ore.

Una volta asciutto il tartaro è stato polverizzato mediante pestello in ceramica e trasferito in Eppendorf pulite, in ciascuna Eppendorf è stato aggiunto acido cloridrico (HCl) al 5%, l'acido è stato lasciato ad agire per 3 giorni. I campioni sono stati sottoposti a centrifuga per 15 minuti a 10000 giri, l'acido è stato quindi rimosso con una pipetta e sono stati aggiunti 200 µL di acqua distillata filtrata. Segue un nuovo ciclo di centrifuga a 10000 giri per 15 minuti, l'acqua aggiunta è stata rimossa e sostituita con 15-20 µL di acqua nuova così da avere un preparato sufficientemente diluito per un agevole osservazione. Il campione così ottenuto è stato utilizzato per allestire 3 preparati per ciascun cranio:

- un preparato contenente 3 µL di campione e 4 µL di Glicerolo
- un preparato contenente 3 µL di campione e 4 µL di Glicerolo e 1 µL di colorante Lugol
- un preparato contenente 3 µL di campione e 4 µL di Glicerolo e 0,5 µL di colorante Lugol

La scelta di utilizzare due diverse concentrazioni di colorante Lugol è stata dettata dalla differente capacità di trattenimento del colorante stesso da parte dei diversi granuli di amido anche in funzione del trattamento subito da ciascuno, si è quindi ritenuto che concentrazioni diverse potessero garantire il trattamento ottimale a un maggior numero di campioni.

Diversi controlli sono stati fatti per il monitoraggio dei possibili contaminanti, a partire dall'ambiente marino di permanenza fino a quello di laboratorio ed alla strumentazione:

- Un controllo dell'ambiente di permanenza precedente al laboratorio è stato ottenuto processando un campione di osso per ciascun settore della barca (circa 0,3 ml di polvere) come fatto per il campione di tartaro. In questo modo eventuale materiale non riconducibile agli elementi intrappolati in vita nel tartaro sarebbero stati individuati e valutati in modo opportuno. Come per il tartaro, anche in questo caso l'acqua di lavaggio è stata conservata ed analizzata a modi ulteriore controllo.
- Un controllo di materiale e reagenti è stato ottenuto processando un "bianco" in modo analogo ai campioni, così che seguisse tutti i passaggi a cui questi erano stati sottoposti ed entrasse in contatto con i medesimi strumenti e reagenti.

I preparati ottenuti dal tartaro dentale e dai campioni di controllo sono stati poi osservati in microscopia ottica a 100, 200 e 400 ingrandimenti in luce naturale e luce polarizzata.

Tecniche di analisi

Il principale elemento di interesse per le indagini di tipo nutrizionale, contenuto nel tartaro dentale è l'amido, un carboidrato di riserva nelle piante, costituito da amilosio e amilopectina accumulati negli amiloplasti, esso rappresenta una fonte di energia fondamentale per l'uomo, si trova nelle radici, nei rizomi, nei tuberi e nei cereali.

La formazione del granulo di amido avviene per deposizione di strati concentrici di amilosio e amilopectina intorno ad una struttura centrale, l'ilo. La struttura interna è composta da strati cristallini

alternati a strati amorfi. Il modello di deposizione degli strati interni, o lamelle, dipende dalla posizione dell'ilo e dalla forma del granulo. La morfologia generale e la morfometria dei granuli di amido è specifica per ogni pianta e può, quindi, essere diagnostica.

I granuli di amido possono avere forma variabile da rotonda a poliedrica passando per ovale e allungata. Mentre le dimensioni possono variare dai 30-70 μm per i più grandi fino a 3-5 μm per i più piccoli (Buléon et al., 1998; Bertoft, 2017).

Nell'identificazione dei granuli di amido, oltre alla morfologia e alle dimensioni, può essere utile l'analisi dell'architettura interna. Alcuni lavori menzionano l'identificazione dei granuli utilizzando la morfologia 3D (ad esempio, Cristiani et al., 2016; Cummings et al., 2018), tuttavia, sono le caratteristiche interne dei granuli a risultare preziose per discernere la famiglia, se non il genere e la specie, della pianta di origine. In particolare, i tratti da osservare sono la posizione dell'ilo, la localizzazione e la dimensione di fessure e crepe, la dimensione e la morfologia delle lamelle così come la presenza o l'assenza di uno di questi (Zhang et al., 2017; Power et al., 2018).

La luce polarizzata può fornire ulteriori informazioni sui granuli di amido osservati. Questa tecnica permette di analizzare le proprietà anisotrope dei cristalli di amido. I granuli di amido sono birifrangenti, il loro indice di riflessione dipende dalla polarizzazione e dalla direzione di propagazione della luce, che può avere intensità variabile. Ciò permette di vedere la struttura interna dei depositi di amilosio e amilopectina. La gelatinizzazione dell'amido, processo per cui i legami molecolari dell'amido si deteriorano in presenza di calore e acqua (Chakraborty et al., 2020), può ostacolare l'uso della luce polarizzata compromettendo la struttura interna dei granuli.

Ciò detto, anche in caso di granuli di amido ben conservati, la determinazione può risultare estremamente complessa, i parametri diagnostici infatti hanno un *range* di variazione spesso così ampio, intra specie e genere, che una chiara distinzione può non essere possibile. Il tasso di identificazione è piuttosto basso a livello di specie, tuttavia, a livello di famiglia aumenta notevolmente. Dati i limiti dell'osservazione macroscopica, sono stati proposti sistemi automatizzati per l'identificazione (Arráiz et al., 2016). Un tentativo di migliorare la precisione dell'identificazione è stato fatto con l'elaborazione delle immagini. Le fotografie dei granuli di amido sono state utilizzate per tracciarne il contorno e le caratteristiche (ilo, fessure, lamelle) delle diverse specie e in base ai dati ottenuti sono state realizzate delle classi. Partendo quindi da un granulo di amido di origine sconosciuta il classificatore definisce quindi una possibile classe di appartenenza, ovvero a quale specie o famiglia nella collezione nota il granulo potrebbe statisticamente appartenere (Coster e Field, 2015).

Tuttavia, uno strumento fondamentale per l'identificazione dei granuli di amido rimane il confronto con la letteratura pubblicata. Molti studi sono stati condotti cercando di identificare i granuli di amido, come obiettivo principale o per necessità. Confrontare i risultati è uno strumento fondamentale. Poiché questi studi provengono da varie aree del mondo, sono utili per creare un "atlante" di identificazione più completo (Radley, 1976; Juhola et al., 2014; Arráiz et al., 2016; Gismondi et al., 2018 a,b; Mercader et al., 2018; Henry, 2020; Temitope Fatokun, 2020).

Per l'identificazione dei granuli trovati si è fatto uso, oltre ai dati di letteratura, di una collezione di riferimento, realizzata contestualmente alla processazione di questo primo set di campioni. Non si tratta però di una collezione di piante specifiche dei luoghi di provenienza dei soggetti studiati, si è scelto di testare in primo luogo una collezione che includesse le più comuni specie reperibili e consumate in Italia e in Europa occidentale. Si tratta, per la maggior parte, di piante e fonti alimentari che sono considerate alimenti di base. Gli alimenti di base includono specie vegetali tra le più prodotte e consumate a livello globale (Snapp et al., 2018). Questo ha permesso di disporre di campione

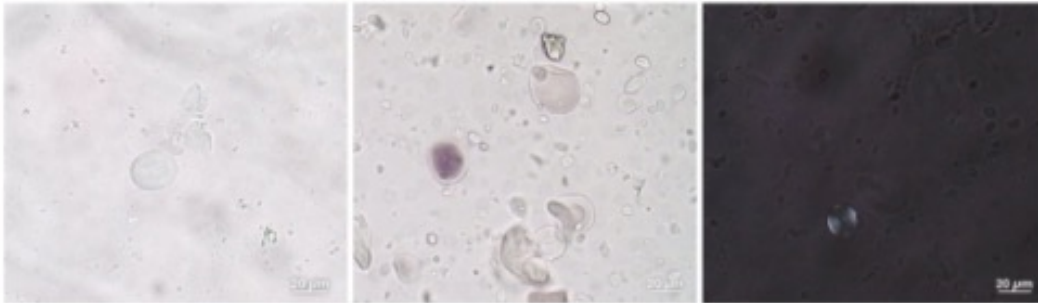
preliminare di confronto al quale far riferimento pur con le cautele necessarie data la particolarità e la scarsità di informazioni in merito del campione oggetto di studio.

Per la realizzazione di questa collezione, i campioni sono stati raccolti dal materiale d'origine (fagioli, piselli, miglio, riso) o da prodotti alimentari lavorati (farina, pane, pasta). Il materiale è stato bollito in acqua distillata per un tempo variabile, di solito circa 5 minuti a seconda del campione. Successivamente è stato ridotto ad una pasta più fine possibile con un pestello, spesso con l'aggiunta di acqua distillata e filtrata. Il campione risultante è stato conservato in una provetta Eppendorf. I vetrini per l'osservazione del materiale sono stati preparati seguendo la stessa procedura del campione della popolazione.

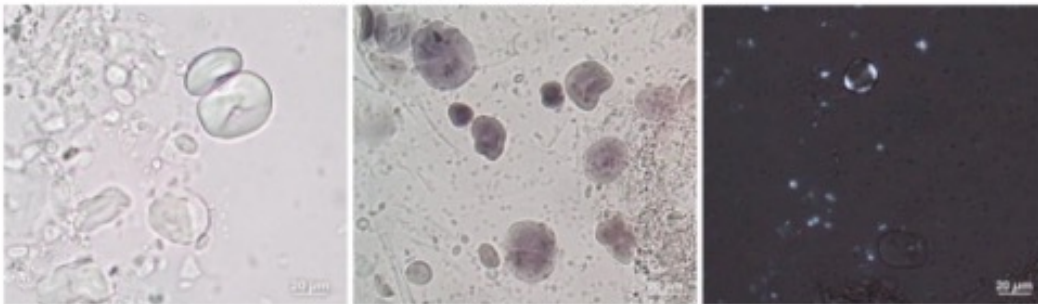
Di seguito si riporta la collezione di confronto realizzata per l'analisi (Figura 3.4.35):

COLLEZIONE DI CONFRONTO GRANULI DI AMIDO

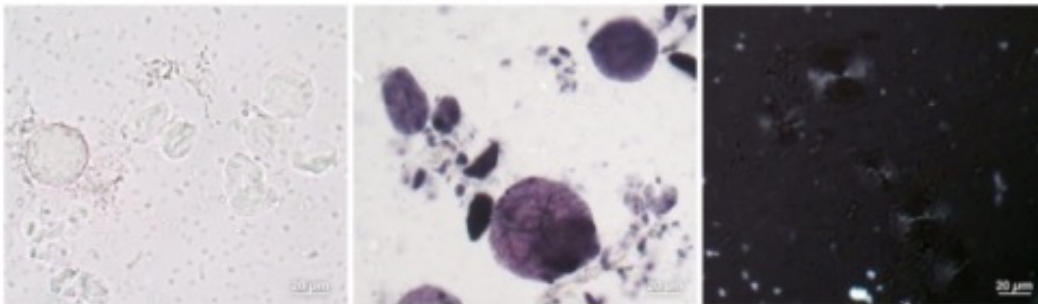
200X



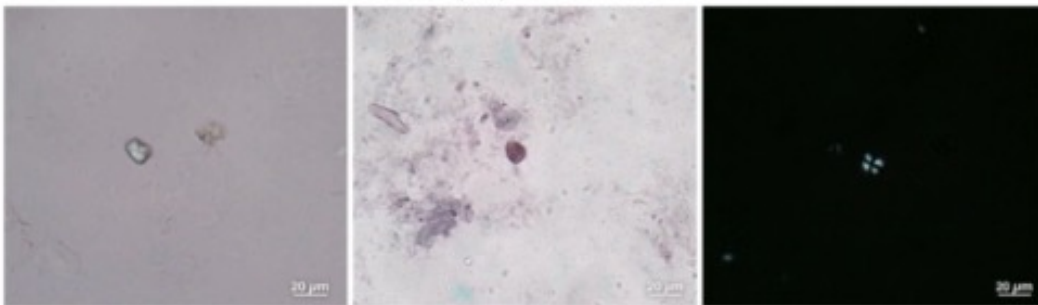
GRANO DURO (DURUM WHEAT) - *Triticum durum*



ORZO (BARLEY) - *Hordeum spp.*

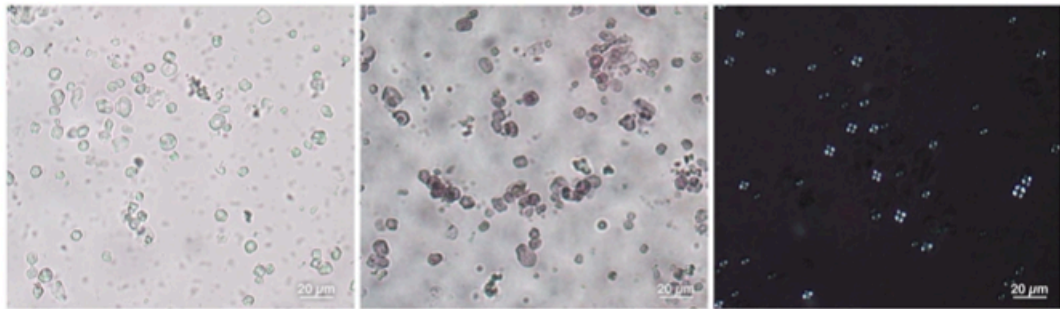


SEGALE (RYE) - *Secale cereale*

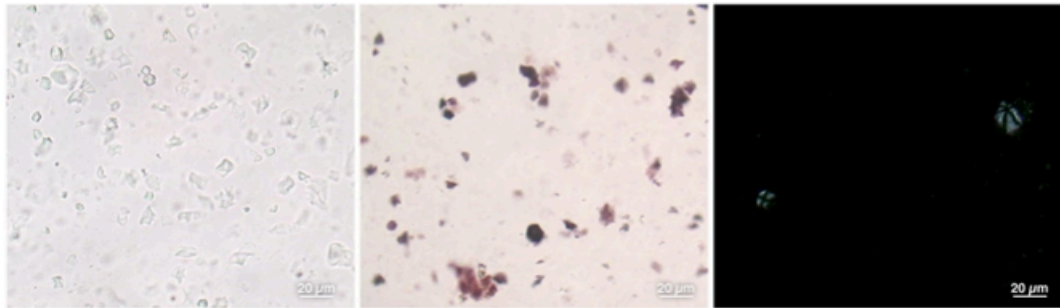


MAIS (MAIZE) - *Zea mays*

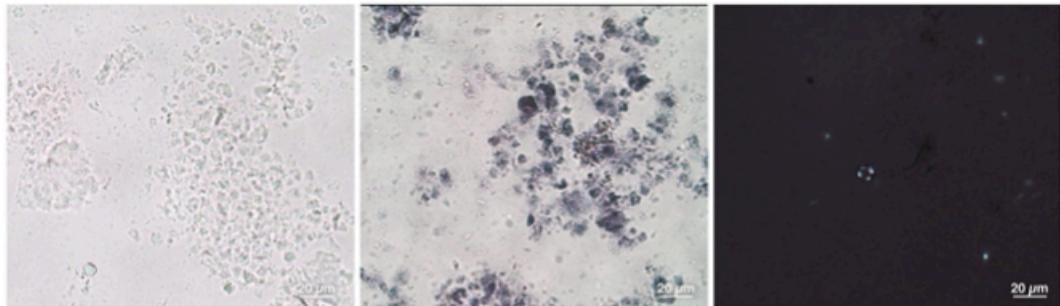
200X



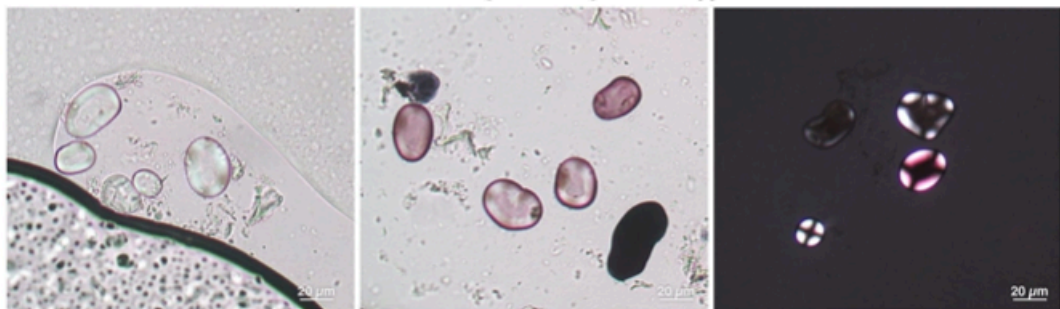
MIGLIO (MILLET) - *Panicum millaceum*



RISO (RICE) - *Oryza sativa*

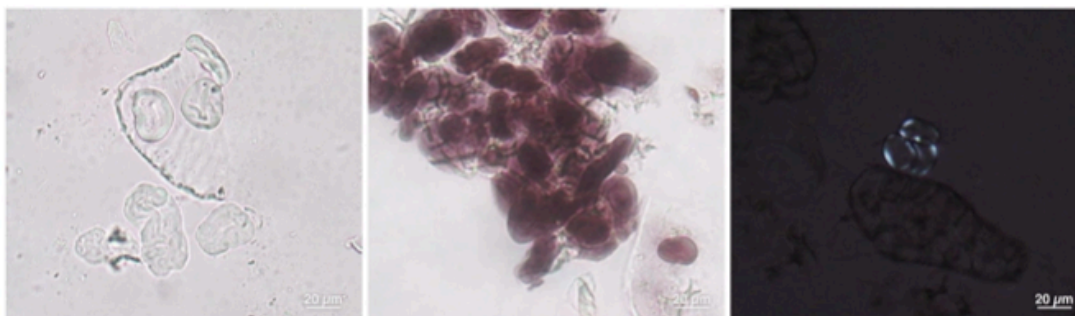


RISO SELVATICO (WILD RICE) - *Zizania spp.*

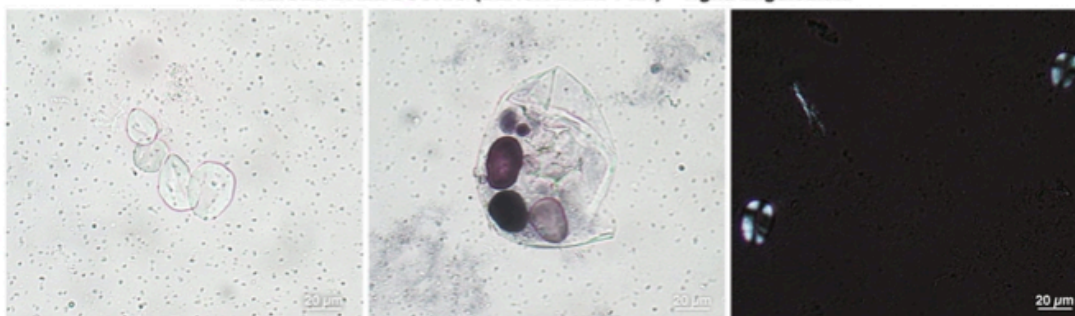


FAGIOLO (BEAN) - *Phaseolus vulgaris*

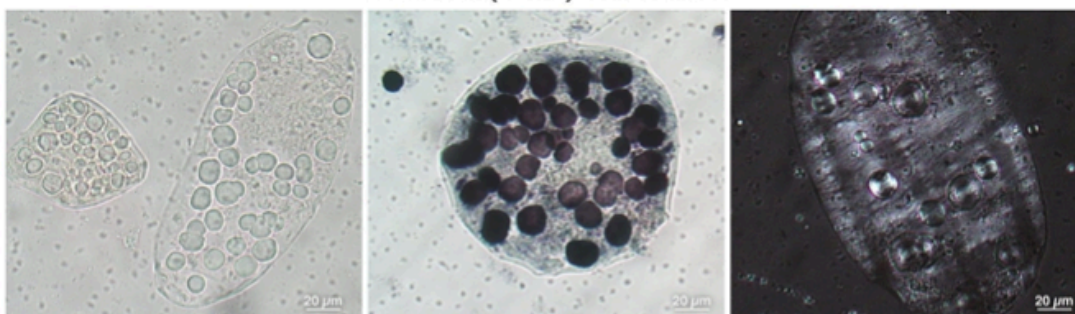
200X



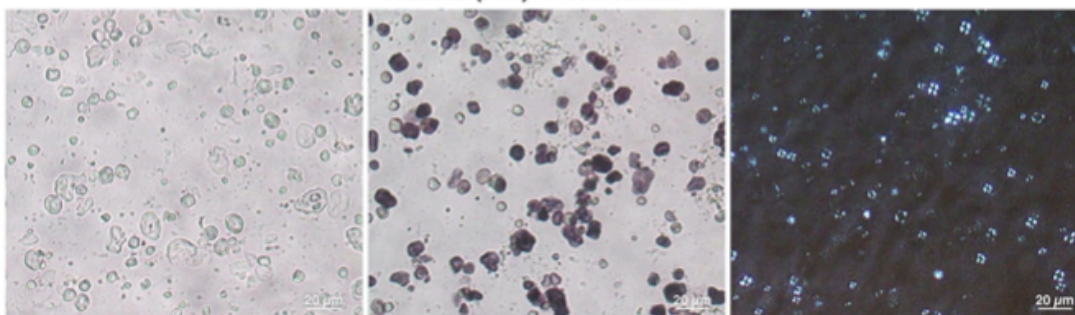
FAGIOLO DALL'OCCHIO (BLACK-EYED PEA) - *Vigna unguiculata*



LENTICCHIA (LENTIL) - *Lens culinaris*

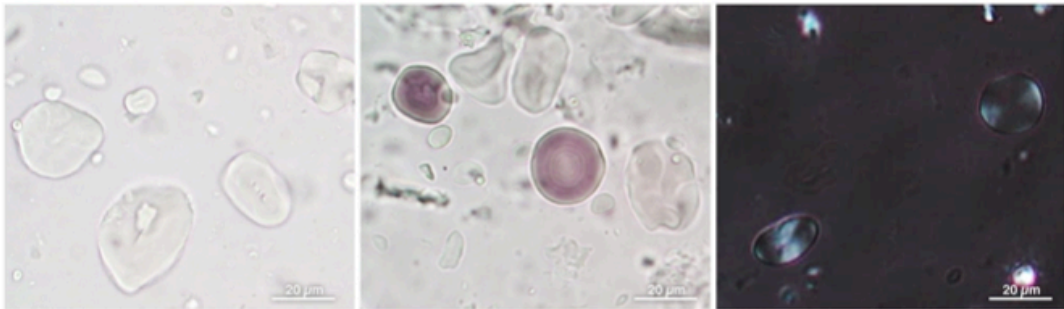


PISELLO (PEA) - *Pisum sativum*

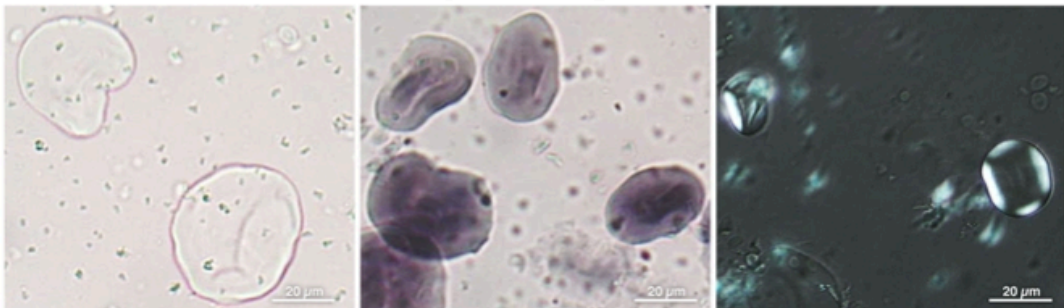


GRANO SARACENO (BUCK WHEAT) - *Fagopyrum esculentum*

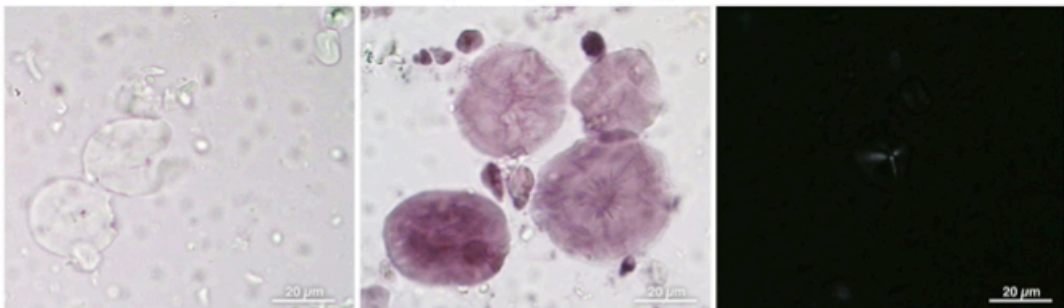
400X



GRANO DURO (DURUM WHEAT) - *Triticum durum*



ORZO (BARLEY) - *Hordeum spp.*

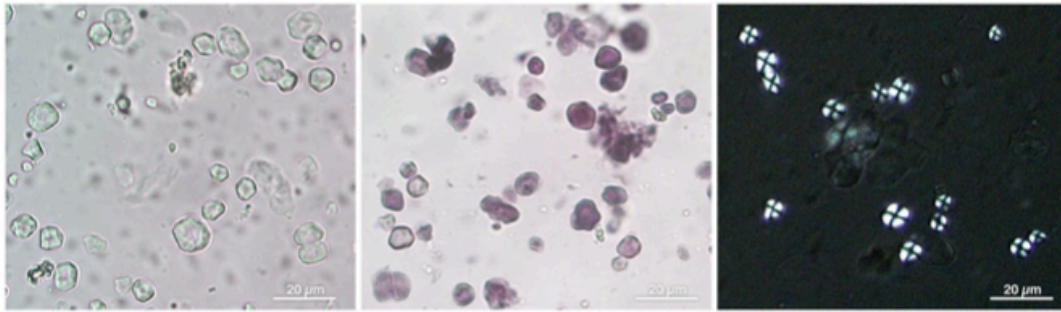


SEGALE (RYE) - *Secale cereale*

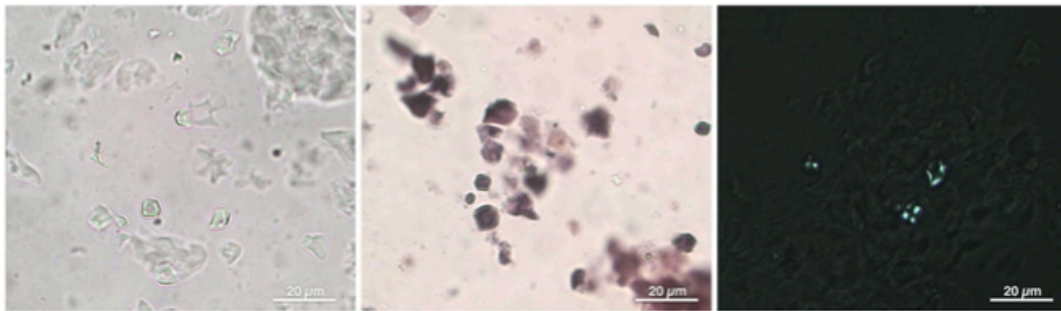


MAIS (MAIZE) - *Zea mays*

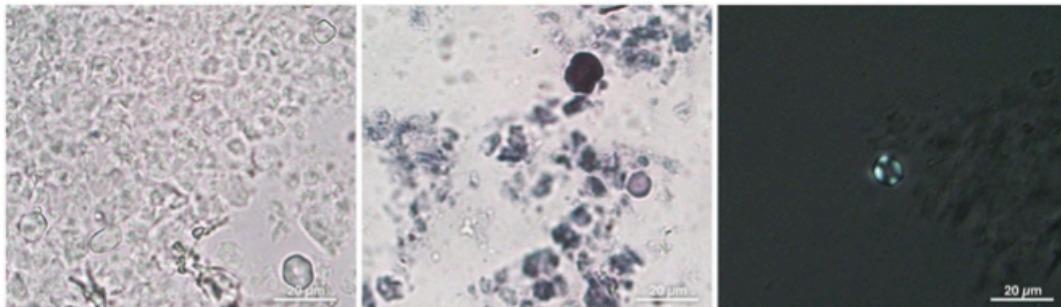
400X



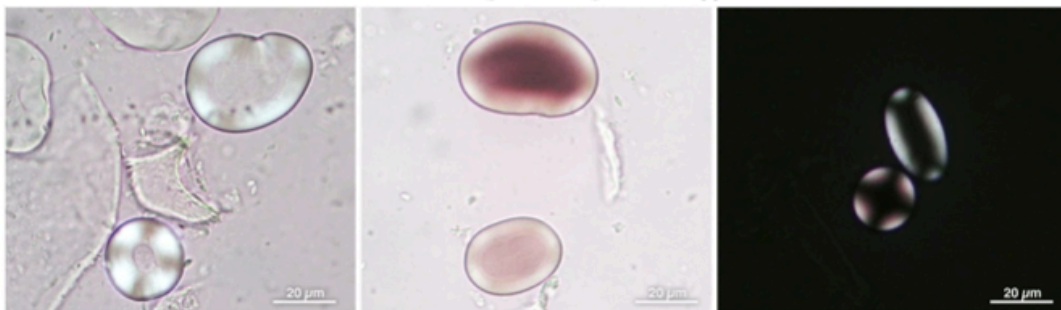
MIGLIO (MILLET) - *Panicum miliaceum*



RISO (RICE) - *Oryza sativa*

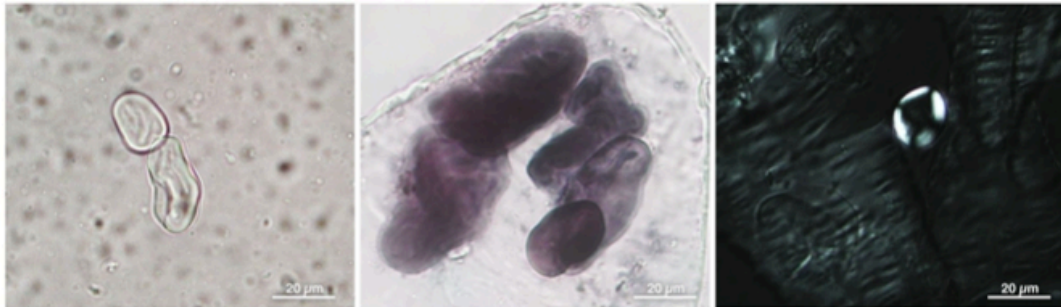


RISO SELVATICO (WILD RICE) - *Zizania spp.*



FAGIOLO (BEAN) - *Phaseolus vulgaris*

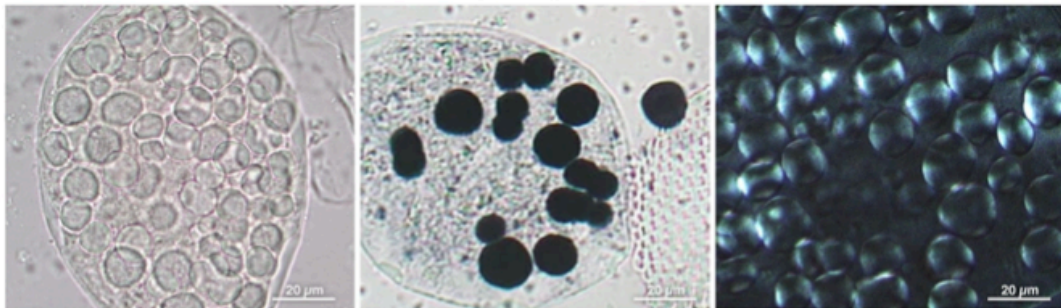
400X



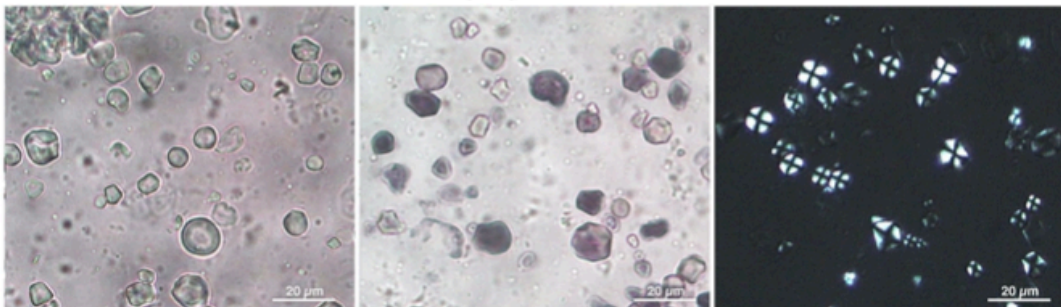
FAGIOLO DALL'OCCHIO (BLACK-EYED PEA) - *Vigna unguiculata*



LENTICCHIA (LENTIL) - *Lens culinaris*



PISELLO (PEA) - *Pisum sativum*



GRANO SARACENO (BUCK WHEAT) - *Fagopyrum esculentum*

Figura 3.4.35 Collezione di confronto dei granuli di amido realizzata per l'analisi; a sinistra immagine di amido naturale, al centro amido colorato con Lugol, a destra amido in luce polarizzata

Di seguito verranno riportate alcune informazioni per ciascuna delle macrocategorie e delle specie incluse nella collezione, con particolare attenzione alla loro coltivazione e al loro consumo, nei diversi paesi.

Cereali

I cereali fanno parte della famiglia delle Poaceae, che comprende le cosiddette graminacee. Sono piante monocotiledoni conosciute principalmente per la produzione di cereali che sono una parte significativa degli alimenti di base a livello mondiale.

Il frumento in senso ampio (*Triticum* spp., includente grano tenero, grano duro, farro), è uno dei cereali oggi più coltivati, con un raccolto annuale di oltre 600 milioni di tonnellate a livello globale. Le coltivazioni di grano risalgono alla transizione agricola del Neolitico, circa 10.000 anni fa. I primi cereali "addomesticati" provengono dalla Mezzaluna Fertile (Turchia, Giordania, Iran, Iraq) (Shewry, 2009; Arzani e Ashraf, 2017). Il grano è arrivato per la prima volta in Europa 8.000 anni fa e nella penisola italiana 7.000 anni fa. Si è diffuso globalmente raggiungendo l'Africa attraverso il Medio Oriente 3.000 anni fa (Bonjean e Angus, 2001). Il grano più coltivato oggi è il *Triticum aestivum* (grano comune o grano tenero), il secondo è il *Triticum durum* (grano duro).

L'orzo, *Hordeum* spp., fu uno dei primi cereali ad essere stato domesticato durante la transizione agricola, circa 11.000 anni fa. Nei millenni successivi si diffuse quasi globalmente, e nel 2.000 a.C. si poteva trovare in Europa, Nord Africa e Asia. Attualmente è una delle colture cerealicole più importanti dopo il grano, il riso e il mais (Lister et al., 2018). L'orzo viene consumato dall'uomo come farina, ma anche utilizzato nella produzione di bevande alcoliche e analcoliche, così come nell'alimentazione animale.

La segale (*Secale cereale*) è un cereale relativamente raro nella documentazione archeologica fino al 6000 a.C. circa, quando le prime testimonianze furono trovate in Anatolia (Hillman, 1978). Considerato inizialmente un'infestante, intorno al 500 a.C. diventato una coltura, (Gyulai, 2014). Resti di segale, datati intorno al 100 d.C., sono stati trovati nell'Europa nord-orientale. Secondo Plinio il Vecchio però, non era usata comunemente come fonte alimentare (Grikkpèdis e Matuzevičiūtė, 2016). La segale è usata per la farina, il pane, così come per le bevande alcoliche come la birra, il whisky e la vodka. La produzione è attualmente concentrata nell'Europa nord-orientale, nell'Asia orientale e nel Nord America.

Il riso, *Oryza* spp., è uno dei cereali più consumati dalla popolazione umana, prevalentemente in Africa e Asia. Va sottolineato che *Oryza* include il così detto riso coltivato, da distinguere dal riso selvatico che include tutti gli altri generi (National Research Council, 1996). La domesticazione di *Oryza sativa* (il riso più comune) è stata fatta risalire alla Cina ed in particolare alla regione del fiume Yangtze, dove gli insediamenti risalgono a 11.500 anni fa (Nornile, 1997). La domesticazione del riso in Africa è da considerarsi indipendente dal riso asiatico. *Oryza glaberrima*, il riso africano, è stato domesticato nella regione del fiume Niger (Mali) circa 3.000 anni fa. L'attuale coltivazione del riso è una miscela di riso africano, che non si è mai diffuso al di fuori dell'Africa occidentale, e riso asiatico (National Research Council, 1996; Choi et al., 2019).

Il miglio è un cereale coltivato in tutto il mondo, con la maggior parte della sua produzione sita nei paesi in via di sviluppo dell'Asia e dell'Africa sub-sahariana. Ci sono molte sottofamiglie di miglio, alcune delle più comuni sono il miglio proso (*Panicum miliaceum*) e il miglio perlato (*Pennisetum glaucum*). La domesticazione del miglio proso risale al primo neolitico in Asia orientale, in particolare in Cina (Lu et al., 2009). Si pensa che il miglio perlato sia stato domesticato in Africa occidentale circa 3.500 anni fa, sebbene alcune prove indichino un evento ancora precedente, risalente

a 8.000 anni fa. In Africa orientale, si trova il miglio indiano (*Eleusine coracana*) che si pensa sia stato domesticato circa 5.000 anni fa (Manning et al., 2011; Winchell et al., 2018). Le prime varietà eurasiatiche di miglio arrivarono nella regione dell'Europa orientale 8.000 anni fa, diffondendosi nel continente (Lu et al., 2009). Attualmente, il miglio costituisce un terzo del consumo totale di cereali nei paesi africani dell'area subsahariana. Infatti, i paesi africani con la maggiore produzione di miglio sono Niger, Mali, Nigeria e Burkina Faso (D'Andrea e Casey, 2002; Fahad et al., 2017). Un altro tipo di miglio, il fonio, è consumato principalmente nei paesi occidentali dell'Africa, si tratta di due specie del genere *Digitaria*: il fonio bianco (*D. exilis*) è chiamato anche "riso affamato", coltivato nella savana, e il fonio nero (*D. iburua*) (Vietnemeier et al., 1996).

Il sorgo, comunemente considerato come una coltura cerealicola separata, appartiene al grande gruppo del miglio come 'grande miglio'. Il *Sorghum bicolor* è una delle cinque colture di cereali più importanti oggi. Le prime testimonianze del sorgo vengono dall'Africa e risalgono all'8.000 a.C., ma si pensa che la domesticazione sia più recente, intorno al 7.000-5.000 a.C. nella valle del fiume Niger (National Research Council, 1996; Winchell et al., 2018). Il sorgo è attualmente utilizzato per il consumo umano principalmente in Africa, Asia, Centro e Sud America. Altri paesi, Stati Uniti, Australia, lo usano principalmente come mangime per il bestiame. Viene usato come farina e pane, anche se alcuni paesi (tra cui l'Africa) lo usano per produrre bevande alcoliche (The Food and Agricultural Organisation, 1995).

Zea mays, comunemente chiamato mais, è attualmente il cereale più coltivato. È usato come cibo per animali e per l'uomo. La produzione è concentrata in Asia orientale (in particolare in Cina), Nord America ed Europa (The Oxford Encyclopedia of Food and Drink in America, 2012). La domesticazione del mais ha origine in Messico circa 9.000 anni fa; il mais si è diffuso verso sud arrivando in Sud America circa 4.000 anni fa (Piperno, 2011). Dopo l'arrivo dei conquistadores in America nel 1492, il mais fu portato in Europa e da lì introdotto in molti altri paesi. La tolleranza e la plasticità del mais gli permettono di crescere praticamente ovunque e ben presto ci furono piantagioni in Spagna, Italia e Africa occidentale e in molti altri paesi (Earle, 2012).

Avena sativa, l'avena, è adatta al consumo umano, anche se il suo principale utilizzo è quello di mangime per il bestiame. L'avena è considerata una coltura secondaria, deriva infatti da diverse specie di colture originariamente addomesticate nella Mezzaluna Fertile. È una pianta che predilige climi più freddi e umidi e attualmente viene coltivata principalmente nelle regioni temperate (Europa del Nord, Stati Uniti e Canada) (Zhou et al., 1999). L'avena è coltivata nell'Africa settentrionale e, secondo la FAO, l'Etiopia è l'unica regione sub-sahariana ad avere delle coltivazioni di questo cereale.

Legumi

I legumi fanno parte della famiglia delle Fabaceae (Leguminosae). Si tratta di una famiglia piuttosto eterogenea, nota in parte per il numero di piante che producono semi e legumi che sono stati un alimento base per l'uomo nella storia. I legumi che fanno parte della collezione di riferimento sono alcuni dei più consumati e disponibili attualmente in Italia e nella regione mediterranea dell'Europa. Secondo un rapporto della FAO, i legumi più coltivati e disponibili in Africa, in particolare nella regione subsahariana, sono il fagiolo comune (*Phaseolus vulgaris*), la fava (*Vicia faba*), la soia (*Glycine max*), il cece (*Cicer arietinum*), il fagiolo dall'occhio (*Vigna unguiculata*), l'arachide (*Arachis hypogaea*) e il caiano (*Cajanus cajan*). Nonostante la relativa facilità di coltivazione, i legumi non sono una coltivazione diffusa nell'Africa sub-sahariana. Alcuni, come il fagiolo comune, la fava e il cece, sono relegati agli altipiani. Poiché le coltivazioni dei piccoli agricoltori differiscono molto all'interno e tra le regioni in base al clima e al tipo di suolo, i legumi sono spesso e variamente utilizzati per integrare altre colture più comuni e flessibili (ad esempio, mais, manioca, banana).

Inoltre, i legumi sono frequentemente utilizzati nella rotazione delle colture a causa della loro capacità di fissazione dell'N₂ e della relativa resa elevata (Vanlauwe et al., 2019).

Altro

Vi è poi una terza macrocategoria, includente quelle specie che non rientrano nelle precedenti. Nella collezione di riferimento sono attualmente presenti il castagno (*Castanea sativa*), il grano saraceno (*Fagopyrum esculentum*), e la patata (*Solanum tuberosum*).

Castanea sativa Miller è la specie europea dalla quale derivano le cultivar di castagno da frutto più diffuse. È presente in un ampio *range* latitudinale, dall'Inghilterra meridionale e Germania sud-occidentale all'Africa del Nord, in Portogallo, Spagna, Francia, Italia, Slovenia, Croazia, Grecia, Bulgaria, Turchia, alcune regioni dell'ex URSS fino al Mar Caspio e dal Marocco alla Tunisia, ma anche nelle isole Madeira, Azzorre, Canarie. La produzione mondiale di castagne supera i 2,1 milioni di tonnellate ed è concentrata prevalentemente in tre aree del mondo: Asia, Europa e Sud America (dati Fao 2014).

Le specie maggiormente coltivate sono la *Castanea mollissima* in Cina e la *Castanea sativa* in Europa, mentre in Giappone si coltiva la *Castanea crenata*. La destinazione del prodotto raccolto è legata al consumo fresco, anche se questa destinazione è in calo mentre è in netto aumento il consumo di castagne dedicate alla trasformazione industriale.

Il grano saraceno viene coltivato come coltura di copertura e per i suoi semi simili a cereali, è definito come pseudocereale e, nonostante il nome, non imparentato col grano. Il grano saraceno comune è stato domesticato probabilmente intorno al 6000 a.C. quando è stato coltivato per la prima volta nel sud-est asiatico. La coltivazione di questa coltura si è poi diffusa in Medio Oriente, Europa e Asia centrale. Oggi tra i principali paesi produttori vi sono Russia, Cina e Ucraina. Esso è utilizzato come alimento o per preparare bevande alcoliche.

La patata è un tubero commestibile ottenuto dalle piante del genere *Solanum* spp. Quella della patata è oggi la principale coltivazione non cerealicola al mondo, con una produzione totale, che nel 2008 ha raggiunto i 326.000.000 tonnellate. Asia ed Europa producono da sole l'82% del totale mentre Africa e Oceania contribuiscono rispettivamente con il 6 e lo 0,6%.

Il consumo di patata nel mondo è in progressivo aumento, sostenuto dal notevole incremento che si osserva nei Paesi in via di sviluppo, al quale si contrappone la tendenza alla riduzione nei Paesi a economie avanzate. La facilità della coltivazione, la buona adattabilità alle diverse condizioni pedoclimatiche e l'elevato valore alimentare della patata hanno contribuito al crescente successo di questa coltura in Paesi a basso reddito, dove gli agricoltori la utilizzano sia per l'auto-consumo sia per la vendita diretta. La patata è stata introdotta in Africa dai missionari e dai primi coloni europei verso la fine dell'Ottocento, più tardi rispetto agli altri continenti. Negli ultimi cinquant'anni la produzione africana di tuberi è decuplicata. I principali paesi coltivatori di patate in Africa sono Egitto, Malawi, Sud Africa, Algeria e Marocco.

3.4.2.2 Risultati

Distribuzione quantitativa del tartaro

Per quanto riguarda l'analisi quantitativa del tartaro, tutti i 79 crani sono stati analizzati ed il tartaro di ciascun dente è stato valutato in termini semi quantitativi.

Nel complesso, dal campione scelto, sono stati recuperati 969 denti, 410 dei quali avevano tartaro dentale in quantità variabile. Il tasso di presenza di tartaro dentale nella popolazione è del 42%.

Per quanto riguarda la distribuzione di tartaro in funzione dell'elemento dentario, gli elementi che presentano la frequenza maggiore sono il secondo ed il terzo molare e l'incisivo centrale sinistro, con

frequenza dell'80%. Va sottolineato tuttavia a parità di frequenza di tartaro, i molari risultano nettamente più rappresentati (oltre 70 per ciascun elemento 16, 17, 26, e 27) rispetto agli incisivi (poco oltre le 15 unità). Seguiti dai restanti incisivi, canini e dal secondo premolare destro con frequenza oltre il 60% (Figura 3.4.36).

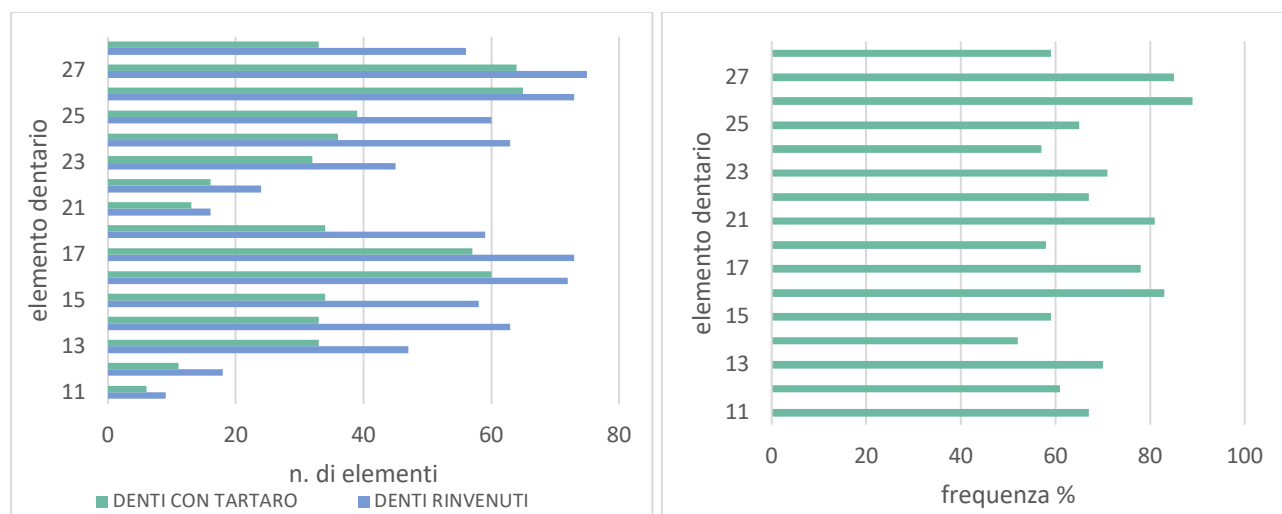


Figura 3.4.36 A sinistra istogramma riportante il numero dei denti rinvenuti e quello di denti con tartaro per ciascun elemento dentario, a destra frequenza percentuale di denti con tartaro in funzione dell'elemento dentario considerato

Considerando poi la distribuzione in funzione del settore di provenienza all'interno della barca è possibile osservare come i campioni del settore mare presentino la minor abbondanza di tartaro, seguiti da quelli di sala macchine, coperta, stiva e sentina (Figura 3.4.37).

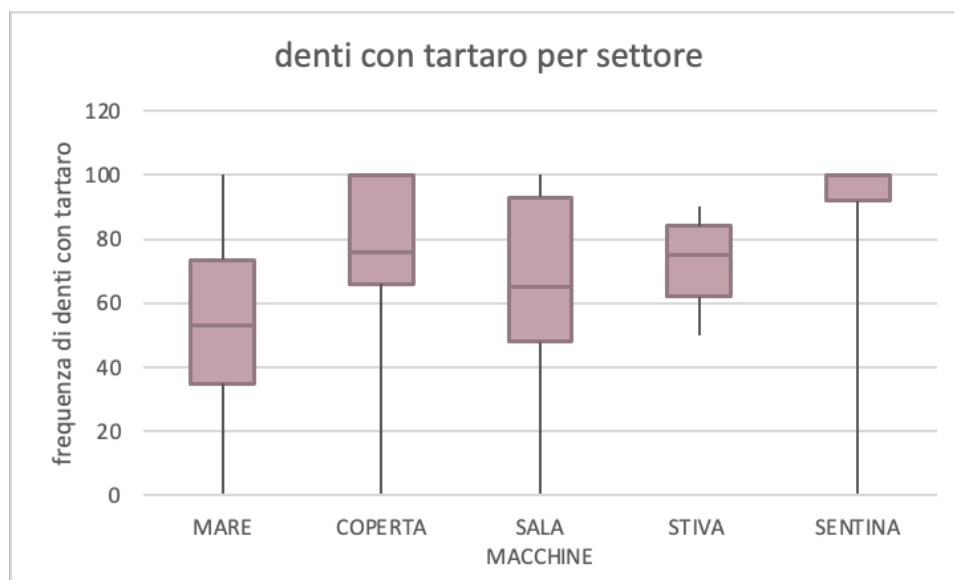


Figura 3.4.37 Box plot della frequenza di elementi dentari con tartaro distinti per settore della barca di provenienza.

Contenuto del tartaro dentale

Ad oggi, solo un piccolo sottocampione è stato interamente processato ed i granuli di amido analizzati e determinati, si tratta di un campione di 5 soggetti provenienti dal settore coperto. Questi primi cinque soggetti selezionati rappresentano un campione esplorativo, attualmente è in corso l'analisi di altri 23 campioni di tartaro provenienti da crani distribuiti in tutti i settori dell'imbarcazione.

Data la sopra citata complessità di una determinazione specifica, si è deciso di creare delle macrocategorie di amido, basate sull'affinità morfologica, tale approccio era stato già adoperato per precedenti studi condotti dallo stesso gruppo di ricerca. Nonostante le categorie siano basate sulla morfologia e le dimensioni, si è notato che esse raggruppano specie con una stretta relazione tassonomica. Morfologia simile e tratti identificativi comuni sembrerebbero quindi essere attesi da specie strettamente imparentate. Sono state quindi individuate quattro macro classi a loro volta, in alcuni casi, ulteriormente suddivise.

La classe dei Cereali, che tuttavia al suo interno vede una discreta eterogeneità; i granuli di amido dei cereali, infatti, qualora di grandi dimensioni (20-70 μm) hanno forma rotonda o ovale ma possono anche presentarsi nei morfotipi più piccoli, compresi tra i 10 e i 20 μm , con una forma che, originariamente rotonda, può variare da ovale a quasi ellittica fino a poligonale per via dell'aggregazione. Infine, vi sono granuli di cereali di dimensioni ancora minori, 3-4 μm , con forme da rotonde a ovali.

Tale classe presenta delle sottocategorie includenti specie che, su questa base comune, presentano caratteri morfologici esclusivi. Il sorgo e il mais, ad esempio, hanno una forma poliedrica, a volte pentagonale a seconda della vista, e un ilo centrale spesso visibile. Tuttavia, non è stato possibile, con la strumentazione e le conoscenze attuali, distinguere con sicurezza tra l'uno e l'altro.

Anche il riso e il miglio condividono una morfologia e un modello di variazione simili, entrambi presentano forma poligonale o poliedrica condizionata dallo stretto impacchettamento dei granuli. Tuttavia, sono estremamente simili tra loro, così che, pur avendo, il primo, una dimensione generalmente inferiore al secondo, la distinzione tra i due è risultata estremamente difficile.

Vi è poi la classe dei legumi all'interno della quale, la costante più evidente è stata la morfologia ellittica dei granuli più grandi di fagioli e lenticchie. I granuli di lenticchia hanno un ilo longitudinale che può essere usato per una distinzione, ma non è sempre visibile.

In sintesi, si è osservato che, a livello dei granuli di grandi dimensioni (>10-15 μm) la distinzione tra le classi può seguire alcuni semplici principi: essi ricadono nei cereali se tondi, della sottoclasse sorgo/mais se poligonali e nella classe dei legumi se ellittici. Tra i granuli di dimensioni minori invece la situazione è estremamente più complessa.

Sotto si riporta la suddivisione in classi e sottoclassi utilizzata (Figura 3.4.38).

Categoria	Sottocategoria	Nome comune	Specie	morfologia
Cereali		orzo	<i>Hordeum spp</i>	Granuli grandi (10-30 μm), da rotondi a ovali. Alcuni hanno una forma bimodale a seconda della loro dimensione.
		segale	<i>Secale cereale</i>	
		grano duro	<i>Triticum durum</i>	
		grano tenero	<i>Triticum aestivum</i>	
Cereali minori	Sorgo/mais	mais	<i>Zea mays</i>	Granuli grandi (10-20 μm) con forma poligonale
		sorgo	<i>Sorghum bicolor</i>	

				(spesso pentagonale) e ilo centrale.
	Miglio/riso	miglio	<i>Panicum miliaceum</i>	Piccoli granuli (circa 10 µm) con forme variabili da poligonale a arrotondata.
		riso	<i>Oryza sativa</i>	
	Altri cereali minori	avena	<i>Avena sativa</i>	Granuli piccoli (sotto i 10 µm), forma ellittica, con un bordo appuntito.
Legumi	Fagiolo/lenticchia	lenticchia	<i>Lens culinaris</i>	granuli grandi (10-20 µm), di forma ellittica, spesso con ilo longitudinale visibile.
		fagiolo comune	<i>Phaseolus vulgaris</i>	
		fagiolo dall'occhio	<i>Vigna unguiculata</i>	
	Altri legumi	fava	<i>Vicia faba</i>	granuli piccoli (fino a 10 µm), da ellittici a arrotondati.
		cece	<i>Cicer arietinum</i>	In alcuni, ilo longitudinale visibile. Possono presentarsi in aggregati.
		pisello	<i>Pisum sativum</i>	
Altro		castagna	<i>Castanea sativa</i>	Dimensioni medie (2-15 µm) Da sferico o leggermente allungato a piriforme. Lamelle e ilo (talvolta attraversato da due linee perpendicolari) visibili solo occasionalmente.
		patata	<i>Solanum tuberosum</i>	Granuli di dimensioni molto variabili (6-70 µm). Da circolare-ellittica (dim minori) a "cozza" (dim maggiori). Ad una delle due estremità solco circolare da cui dipartono lamelle di accrescimento semiconcentriche
		grano saraceno	<i>Fagopyrum esculentum</i>	granuli piccoli (fino a 10 µm), forma da tondeggianti a spigolosa, a volte ombreggiatura nella zona centrale dei granuli

Figura 3.4.38 Tabella riportante la suddivisione in classi e sottoclassi utilizzata con le caratteristiche morfologiche accomunanti ciascuna di esse

Nei cinque campioni analizzati sono stati osservati 268 granuli di amido di cui 47 (20%) non sono stati attribuiti a nessuna categoria in quanto danneggiati o morfologicamente differenti da tutti i

campioni di confronto. I restanti granuli osservati sono stati identificati, nelle macrocategorie, come sotto illustrato (Figura 3.4.39).

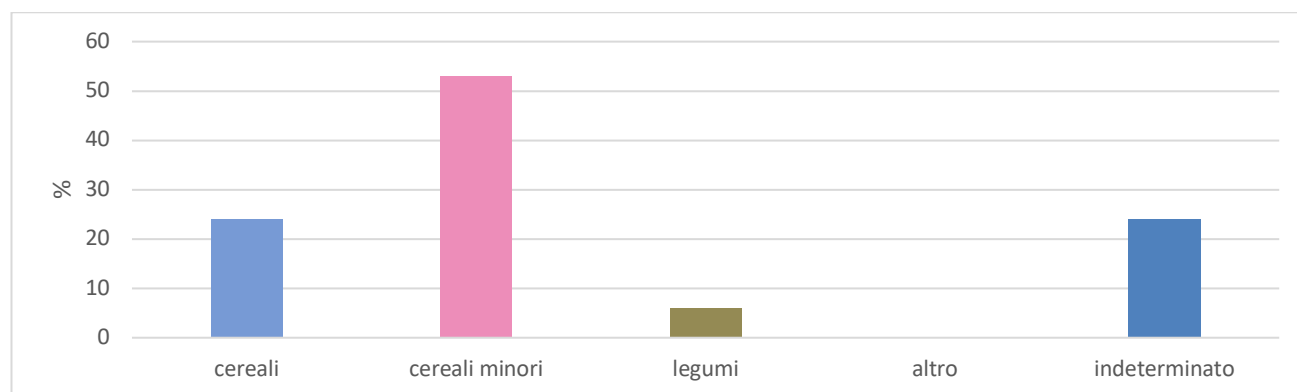


Figura 3.4.39 Istogramma rappresentante la frequenza di ciascuna categoria

Rifacendosi alle sole classi, il campione presentava un quantitativo elevato di cereali minori, una percentuale inferiore di cereali e una ancor più piccola percentuale di legumi.

Se tuttavia si fa uso anche delle sottocategorie sopra descritte è possibile aumentare il grado di dettaglio dei risultati, in questo modo il campione appariva così ripartito (Figura 3.4.40):

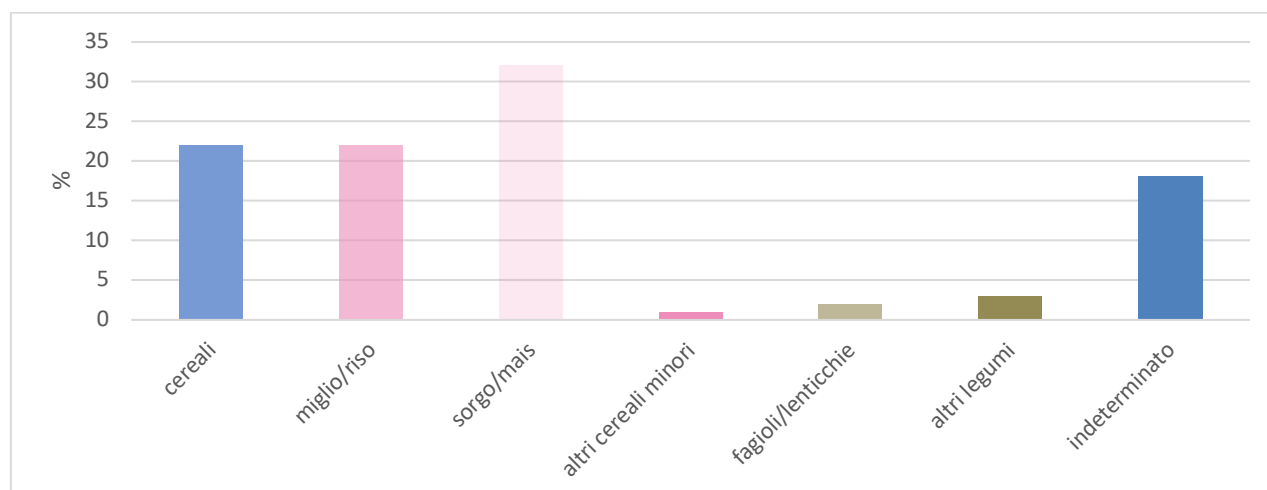


Figura 3.4.40 Istogramma rappresentante la frequenza di ciascuna categoria e sottocategoria

Una percentuale dominante, paria a oltre il 30%, di cereali minori ascrivibili alla sottocategoria sorgo/mais, una percentuale inferiore, poco oltre il 20%, ascrivibile invece alla sottocategoria miglio/riso ed infine una percentuale intorno al 2% di altri cereali minori. La classe dei cereali rappresenta poco più del 20%, infine i legumi costituiscono complessivamente circa 5% del totale ripartito all'incirca equamente tra la sottoclasse fagioli/lenticchie e gli altri legumi.

Nella tabella che segue sono riportate le dimensioni medie dei granuli di amido trovati per categoria e sottocategoria (Figura 3.4.41).

Categoria	Popolazione di confronto		Popolazione migranti	
	min (µm)	max (µm)	min (µm)	max (µm)
Cereali	10.23	12.81	12.20	14.97
Cereali minori	10.82	13.16	10.07	13.02
Sorgo/mais	14.69	16.47	14.57	15.93
Miglio/riso	6.45	8.45	6.38	8.53
Altri	4.70	6.63	6.42	7.32
Legumi	8.64	12.14	8.80	12.75
Fagioli/lenticchie	13.01	17.91	10.96	16.71
Altri	6.36	8.44	7.50	9.29
Altro	10.80	12.09	-	-
Indeterminato	11.96	15.77	13.56	17.12

Figura 3.4.41 Tabella riassuntiva delle dimensioni medie dei granuli di amido trovati per categoria e sottocategoria

Poiché l'identificazione si basa sulla dimensione dei granuli oltre che sulla morfologia, questa può essere confrontata con intervalli di dimensioni note. Secondo la collezione di riferimento e la letteratura, le misure trovate sono coerenti. Gli intervalli medi ottenuti sono coerenti in ogni categoria. Quindi, l'identificazione dei granuli di amido è confermata da questi dati aggiuntivi.

Come esempio, la sottocategoria "miglio/riso" ha una dimensione media tra quella di miglio e del riso, coerente con una ripartizione grossomodo equa tra le due specie, dato che conferma l'analisi morfologica.

Oltre ai granuli di amido è stato documentato anche altro materiale organico e inorganico presente quale: fitoliti, ovvero corpuscoli silicei presenti nella parete cellulare di alcune piante, fibre vegetali, spore e strutture fungine come quella del genere *Alternaria* (Figura 3.4.42).

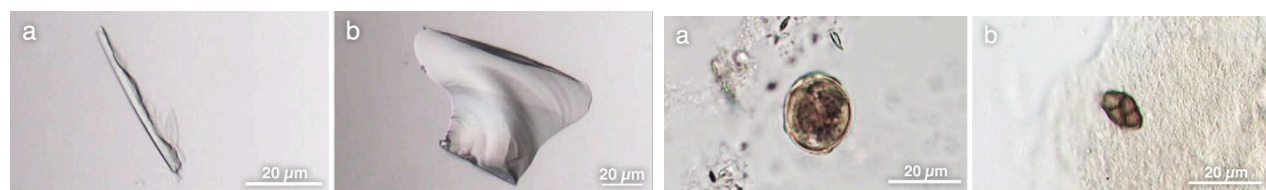


Figura 3.4.42 Immagini esemplificative del materiale non amido rinvenuto nei campioni: da sinistra fitoliti (a, b), polline, spora di fungo

Controlli

L'analisi dell'acqua di lavaggio del tartaro dentale ha fornito un numero relativamente basso di granuli di amido, compreso tra 2 e 6 per cranio a fronte di una media di 50 granuli all'interno del tartaro dentale. Gli elementi non amido, riconducibili alle macrocategorie di fibre (23%), tessuti di conduzione (3%), fitoliti (11%), pollini/spore (9%), minerali (4%) e altro (50%), erano compresi tra 23 e 49 per cranio.

L'analisi dell'acqua di lavaggio dell'osso ha fornito valori di amido leggermente superiori a quelli del tartaro, compresi tra 4 e 9. Gli elementi non amido, riconducibili alle macrocategorie di fibre

(20%), tessuti di conduzione (0%), fitoliti (6%), pollini/spore (6%), minerali (3%) e altro (65%), erano nel complesso in numero compreso tra 19 e 21 per cranio.

Il controllo dell'ambiente di permanenza precedente al laboratorio ottenuto mediante campione di osso ha fornito invece valori nettamente superiori ai due lavaggi con valori compresi tra 11 e 18 granuli di amido per campione. Gli elementi non amido, riconducibili alle macrocategorie di fibre (16%), tessuti di conduzione (2%), fitoliti (3%), pollini/spore (27%), minerali (14%) e altro (38%), erano complessivamente tra 9 e 35 per cranio.

Un controllo di materiale e reagenti ottenuto processando un "bianco" ha fornito 6 granuli di amido e 44 altri elementi così ripartiti: fibre (19%), tessuti di conduzione (7%), fitoliti (14%), pollini/spore (3%), minerali (0%) e altro (57%).

3.4.2.3 Discussione

Per quanto riguarda il quantitativo stimato di tartaro dentale esso risulta relativamente abbondante nella popolazione, oltre il 40%, considerata la giovane età media della stessa (età media tra i 16 e i 44 anni). Questo dato sembra suggerire una scarsa cura dentale di tipo professionale.

Per quanto riguarda invece la distribuzione del tartaro all'interno dell'arcata dentaria, essa risulta coerente con i dati di letteratura, concentrandosi soprattutto sui molari superiori, ossia in prossimità dei dotti salivari (Hillson, 2005).

Risulta necessario considerare che scarse sono le informazioni in merito al livello di igiene dentale e di cure dentali del campione in esame. Analisi di natura prettamente antropologica ed odontologica eseguite nel tempo sui resti delle vittime, tuttavia, hanno mostrato una scarsissima presenza lavori dentali, elemento coerente con una mancanza di cure dentali, forse dovuta ad un accesso inadeguato alle strutture. In accordo con i dati riguardanti il continente, ed anche, nello specifico la regione sub-sahariana, l'accesso alle cure dentali è ancora limitato in molte regioni, specialmente nelle aree rurali. Il dato relativo al quantitativo di tartaro, associato alla elevata frequenza di carie (88% de soggetti mostravano una o più carie, come si evince da studi specifici) può essere collegato a una dieta ad alto contenuto di carboidrati (Keenleyside, 2008), che è coerente con la composizione della dieta suggerita dall'analisi dell'amido. Inoltre, considerando le circostanze del disastro, dato che più di tutti accomuna i soggetti del campione, si potrebbe ipotizzare uno status socioeconomico basso. Una dieta carente e un accesso limitato alle cure potrebbe essere una probabile conseguenza.

Un'ultima considerazione in merito al quantitativo di tartaro rinvenuto interessa la sua distribuzione in funzione dei settori della barca, si è osservato infatti come i campioni provenienti dal settore mare presentino quantitativi di tartaro inferiori agli altri. Questo fatto può trovare giustificazione nella maggiore esposizione di questi campioni all'azione degli agenti tafonomici fisici, agenti che potrebbero aver asportato parte del tartaro presente (Parsons e Brett, 1991; Fernández-Jalvo e Andrews 2003), come, d'altro canto, già osservato durante l'analisi tafonomica dei crani. Questa ipotesi sarebbe avvalorata anche dalle osservazioni fatte durante lo studio dalle quali emerge che in più casi, i denti presentavano traccia di deposito di tartaro parzialmente o totalmente assente al momento della valutazione. Un'altra ipotesi è quella legata alla diversa estrazione sociale dei soggetti presenti nei diversi settori della barca, ipotesi che però al momento non trova supporto da altre evidenze ma che potrà essere riconsiderata, ad esempio, una volta ampliata l'analisi nutrizionale dall'amido.

Prima di qualsiasi considerazione in merito i granuli di amido all'interno del tartaro dentale è necessario considerare gli esiti dei campioni di controllo; da questi emerge un dato generalmente coerente con la letteratura (Tavarone et al., 2018) in termini di numero di granuli di amido dal

controllo su strumentazione e reagenti e coerente con l'atteso per quanto riguarda gli altri elementi considerati. Coerente con l'atteso è anche il contenuto delle acque di lavaggio del tartaro e dell'osso, considerata la prevista contaminazione esterna da uno o più fonti, ciò che stupisce invece è l'elevato numero di granuli di amido nell'osso. Questo dato, non trovando giustificazione in vita di tali elementi si è ipotizzato che la causa sia da ricercarsi nei mesi di immersione dei grani oggetto di studio in acqua ricca di tessuto in decomposizione, compreso quello dell'apparato digerente ed il suo contenuto, che abbia quindi contaminato il tessuto osseo rimanendo intrappolato in aree chiuse del cranio. Questa, tuttavia, al momento resta solo un'ipotesi, essendo necessari controlli su campioni provenienti da altri contesti, ad oggi non disponibili, per validarla.

Per quanto riguarda la determinazione dei granuli di amido e le seguenti considerazioni nutrizionali, l'elevata variabilità intra specie e la scarsa differenziazione inter-specie ha reso la determinazione dei granuli di amido, a livello specifico, estremamente ardua. Le caratteristiche intrinseche di questo materiale unite alla complessità del campione in esame hanno reso necessario ricorrere alla determinazione a livello di classi e sottoclassi. Tali ostacoli, tuttavia, trovano riscontro anche in letteratura, numerosi autori infatti si limitano ad un'osservazione generale della morfologia (ad esempio, Zarrillo et al., 2008; Lippi et al., 2015) senza appunto addentrarsi in questioni di tipo identificativo, va detto tuttavia che altri, al contrario, eseguono determinazioni anche estremamente precise. È una questione di accuratezza e precisione. Spesso non ci sono abbastanza elementi per raggiungere il grado di certezza sufficiente per identificare le piante a livello di specie.

Le caratteristiche valutate nei granuli di amido sono la forma, la dimensione e la presenza di tratti distintivi. La scelta di colorare i campioni con lo iodio di Lugol è stata determinante per trovare con sicurezza i granuli di amido, soprattutto i granuli più piccoli che spesso risultano poco identificabili anche in luce polarizzata; tuttavia, i coloranti evidenziano la forma ma possono nascondere la struttura interna e i tratti diagnostici. Sono state utilizzate diverse quantità di colorante per verificare se un dosaggio di Lugol più basso potesse ancora aiutare a localizzare i granuli di amido in modo efficiente, ma anche mostrare la struttura interna. Tuttavia, in pochissimi granuli è stato possibile vedere una struttura interna nei campioni colorati, indipendentemente dalla quantità di colorante.

La complessità della determinazione è acuita anche dalla frammentazione dei dati disponibili in letteratura, essi infatti si trovano solo sparsi negli articoli pubblicati, mentre non esiste un atlante dei granuli di amido, né criteri diagnostici standardizzati. Esiste in effetti una nomenclatura che si prefiggerebbe di essere globale per la descrizione dei granuli di amido (ICSN, 2011), tuttavia non sembra essere ampiamente utilizzata. Diversi metodi sono stati sviluppati indipendentemente per ottenere un'automazione nel processo di identificazione (Wilson et al., 2010; Coster e Field, 2015). Utilizzando i parametri morfometrici del granulo, si va a ricercare le specie che risultano statisticamente più probabili. Il limite di questo tipo di metodi è il numero di specie considerate, spesso esiguo. Lavorare su liste limitate comporta sempre il pregiudizio di escludere automaticamente delle specie.

Oltre, tuttavia, ai limiti intrinseci di questo tipo di analisi, il campione studiato ha apportato ulteriori complicazioni, dovute all'origine geografica dei soggetti. La collezione di riferimento, per questo campione preliminare includeva colture alimentari di base a livello globale che è plausibile costituiscano una buona parte dell'alimentazione della popolazione in esame. Tuttavia, è ragionevole supporre che la dieta di questi soggetti si basi su alimenti di base conosciuti così come su specie coltivate localmente. Le collezioni utilizzate non tengono conto della variabilità geografica della dieta e su campioni provenienti da aree quali quelle delle porzioni più a ovest dell'africa sub sahariana; Mali, Senegal, Mauritania etc, ricche di regioni rurali dovrebbe essere considerata un'estensione. Una

collezione di confronto appositata, che includa alimenti di base globali ma anche le coltivazioni più comuni nell'Africa sub-sahariana, è in corso di realizzazione e costituirà la base per l'analisi dei prossimi campioni, nonché per la revisione di quelli qui descritti.

Di seguito si riporta una tabella riassuntiva delle principali specie utilizzate a livello globale e nell'area dell'Africa Sub Sahariana (Figura 3.4.40).

Distribuzione mondiale	Categoria	Sottocategoria	Nome comune	Nome specifico	Principali zone di coltivazione e consumo
Comuni	Cereali		Orzo	<i>Hordeum spp.</i>	(1)
			Segale	<i>Secale secale</i>	
			Grano duro	<i>Triticum durum</i>	
			Grano tenero	<i>Triticum aestivum</i>	
	Cereali minori	Sorgo/Mais	Mais	<i>Zea mays</i>	
			Sorgo	<i>Sorghum bicolor</i>	Nigeria, Ethiopia, Sudan, Burkina Faso (2)
		Miglio/Riso	Miglio	<i>Panicum milliaceum</i>	
			Riso	<i>Oryza sativa</i>	Egypt, Guinea, Senegal, Mali, Sierra Leone, Liberia, Côte d'Ivoire, Nigeria, Tanzania, Madagascar
			Avena	<i>Avena sativa</i>	Northern Africa (Etiopia)
	Legumi	Fagiolo/lenticchia	Lenticchia	<i>Lens culinaris</i>	
			Fagiolo	<i>Phaseolus vulgaris</i>	
			Fagiolo dall'occhio	<i>Vigna unguiculata</i>	
			Fava	<i>Vicia faba</i>	
			Ceci	<i>Cicer arietinum</i>	
			Pisello	<i>Pisum sativum</i>	
	Altri		Patata	<i>Solanum tuberosum</i>	
			Grano saraceno	<i>Fagopyrum esculentum</i>	
			Farro	<i>Triticum diococcum</i>	
			Caffè	<i>Coffea spp.</i>	
			Banana	<i>Musa acuminata</i>	diffusa
"Africani"		Arachide	<i>Arachis hypogaea</i>	Nigeria; Sudan; Mali; Ivory Coast; Burkina Faso; Ghana; Nigeria; Senegal; Malawi, Zambia; Uganda	
			<i>Brachiaria deflexa</i>	Fouta-Djallon plateau of Guinea and Sierra Leone (3)	
	Fagiolo caiano	<i>Cajanus cajan</i>	"Nigeria, Niger, Mali, Benin; Ethiopia, Eastern Africa (Kenya, Tanzania, Malawi, Zaire, Congo, Zimbabwe) Zambia, Botswana, South Africa [widespread]" (4,5)		
		<i>Coleus esculentus</i>	Southern Africa (6)		
		<i>Coleus rotundifolius</i>	West Africa (6)		
	Taro o malanga	<i>Colocasia esculenta</i>	Nigeria, Ghana, Cameoon, Ivory Coast (6)		
		Fonio	Fonio bianco	<i>Digitaria exilis</i>	West Africa: Guinea, Nigeria, Mali, Ivory Coast, Burkina Faso, Niger, Senegal, Benin, Guinea-Bissau (7, 8)
		Fonio nero	<i>Digitaria iburua</i>	West and west-central tropical Africa: Nigeria, Niger, Benin (9)	
	Yam	Ignose viola o ube	Ignose giallo	<i>Dioscorea alata</i>	Western + Central Africa: Nigeria; Ghana; Mali; Costa d'Avorio; Burkina Faso; Benin; Etiopia; Togo; Camerun (6,10)
			Ignose amaro	<i>Dioscorea cayannensis</i>	(6,10)
Ignose bianco			<i>Dioscorea dumetorum</i>	(6,10)	
Ignose			<i>Dioscorea rotundata</i>	(6,10)	
			<i>Dioscorea spp.</i>	(6,10)	
		<i>Echinochloa colona</i>	Tanzania, East Africa (3)		

Miglio indiano	<i>Eleusine coracana</i>	"Eastern and Southern African countries (Nigeria, Uganda, Kenya, Sudan, DR Congo, Zimbabwe, Zambia, Tanzania and Mozambique)" (9)
	<i>Ensete ventricosum</i>	Etiopia (11)
Teff	<i>Eragrostis tef</i>	Etiopia; Eritrea (3,9)
Soia	<i>Glycine max</i>	Sud Africa, Nigeria, Zambia e Uganda (12)
Patata dolce	<i>Ipomea batatas</i>	Malawi, Cameroon, Nigeria, Etiopia, Uganda. Mainly East and South Africa. [Widespread] (13,14)
Dolico egiziano	<i>Lablab purpureus</i>	Kenya, "India" (15)
Manioca	<i>Manihot esculenta</i>	Nigeria; DR Congo; [widespread] in Sub-Saharan (16)
Erba medica	<i>Medicago sativa</i>	Sudan // Uganda, Tanzania, Kenya (17)
Riso africano	<i>Oryza glaberrima</i>	West Africa (18)
	<i>Parkia biglobosa</i>	Nigeria, Benin, Burkina Faso, Ghana, Togo
Miglio Kodo	<i>Paspalum scrobiculatum</i>	West Africa (19)
Miglio perlato	<i>Pennisetum glaucum</i>	"Sahel region of Africa, northern Nigeria, Niger, Mali and Burkina Faso // North Namibia. // Sudan [widespread]" (20, 21, 22)
	<i>Plectranthus esculentus</i>	East + Southern Africa
	<i>Plectranthus rotundifolius</i>	[Widepread]
	<i>Sphenostylis stenocarpa</i>	Nigeria [Widespread] (3, 23)
	<i>Tacca leontopetaloides</i>	Nigeria (6)
	<i>Vigna subterranea</i>	Burkina Faso, Niger, Mali, Cameroon (2)
	<i>Vigna unguiculata</i>	Nigeria, Niger, Burkina Faso (2)
Baobab africano	<i>Adansonia digitata</i>	[Widespread]

Figura 3.4.40 Tabella riassuntiva delle principali specie utilizzate a livello globale e nell'area dell'Africa Sub Sahariana

Riferimenti bibliografici della figura 3.4.40: Lister et al., 2018(1); Emmambux et al., 2013(2); De Wet, 1977(3); Odeny, 2007(4); Snapp, 2003(5); Nanbol e Namu, 2019(6); Fanou et al., 2009(7); Fogny et al., 2016(8); Obilana, 2003(9); Nweke et al., 2019(10); Pijls et al., 1995(11); Khojely et al., 2018(12); Ewell e Mutuura, 1991(13); Villarreal et al., 1995(14); Maass et al., 2010(15); Massaquoi, 2021(16); Cash, 2009(17); Choi et al., 2019(18); de Wet et al., 1983(19); Manning et al., 2011(20); Obilana, 2003(21); Winchell et al., 2018(22); Oagile et al., 2007(23))

Sulla base, tuttavia, delle informazioni fin qui raccolte, risulta che la dieta della piccola popolazione indagata è principalmente composta da cereali ed in particolare da quelli classificati come cereali minori con prevalenza della sottoclasse "sorgo/mais". Questa sottocategoria, include specie che vengono trasformate in farina, utilizzate nella fabbricazione di alimenti, per produrre liquori e bevande alcoliche. Il consumo di "riso/miglio" invece appare più contenuto rispetto al "sorgo/mais". La classe, nel suo complesso, risulta abbondantemente rappresentata se questi dati vengono comparati con quelli di una popolazione pressoché coeva ma con origini geografiche diverse come la popolazione milanese (oggetto di uno studio comparato) (circa il 20% in più).

I cereali, costituiti da grano, segale e orzo, risultano relativamente poco abbondanti, se confrontati con la sopra citata popolazione milanese, qui infatti, la rappresentanza della classe è circa il doppio. Tale scarsità può essere spiegata ipotizzando che, nonostante la produzione diffusa, questo tipo di cereali non sia facilmente reperibile in quei territori in quanto destinato prevalentemente

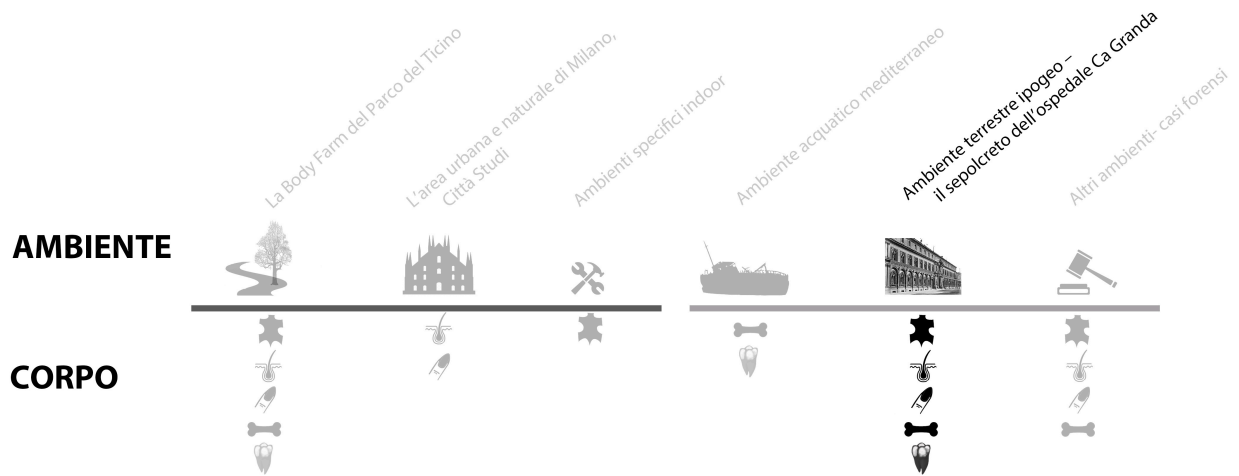
all'esportazione. Un'altra possibilità è che queste specie siano sostituite con specie locali che siano quindi state classificate come indeterminate.

La categoria dei "legumi" ha una presenza limitata ma coerente con quella osservata nella popolazione milanese di confronto, indicando che questi alimenti non sono consumati così ampiamente come i cereali, ma che tuttavia fanno parte della dieta.

Totalmente assente è la categoria "altro". Infine, la categoria "indeterminato" comprende tutti i granuli che non hanno potuto essere identificati positivamente. A parte i granuli danneggiati e i parametri morfometrici tipici di più di una categoria, tutti i granuli non altrimenti riconosciuti sono etichettati come indeterminati, questa classe è comprensibilmente ben rappresentata nella popolazione in oggetto a causa dell'assenza di una collezione di confronto specifica per le regioni di provenienza delle vittime.

Per quanto riguarda la presenza di materiale diverso dall'amido nel tartaro dentale, poiché la formazione e il deposito del tartaro dentale si arresta alla morte, si pensa che la contaminazione *post mortem* del materiale incapsulato sia minima. Quindi, il materiale trovato, considerate anche le fasi di lavaggio che hanno preceduto la processazione del campione, dovrebbe essere riconducibile all'ingestione o dell'inalazione di materiale. Nei campioni analizzati, oltre ai granuli di amido, sono stati trovati fitoliti, polline e spore di funghi. La presenza dei fitoliti, tuttavia, è risultata scarsa nella popolazione in studio sempre qualora comparata alla popolazione milanese. Poiché anche i fitoliti potrebbero anche essere indicativi della dieta, la loro abbondanza costituisce un aspetto interessante nell'analisi comparativa. Tuttavia, i fitoliti comunemente trovati sono riconducibili a piante erbacee principalmente della famiglia delle Poaceae (Neumann et al., 2017). La famiglia delle Poaceae comprende tutte le specie di cereali considerate, quindi, la relativa scarsità di "cereali" nella popolazione potrebbe essere ipotizzata come causa della loro mancata abbondanza

3.5 Ambiente terrestre ipogeo – Il sepolcreto dell’Ospedale Ca’ Granda



L'ospedale Ca' Granda

Il primo grande ospedale d'Italia nel Quattrocento, l'Ospedale maggiore, detto anche Ca' Granda, sorge su un terreno donato dal condottiero e duca di Milano Francesco Sforza nel 1456 (Figura 3.5.1). La sua creazione si inserisce in un contesto di riforma delle strutture sanitarie che ha avuto luogo in Italia tra il XIV e il XV secolo, caratterizzato dalla riorganizzazione e dalla fusione di numerosi enti in un'unica organizzazione sanitaria, si consideri che il ducato milanese contavano quasi cinquanta ospedali (Spinelli, 1958). Il sistema comportava cambiamenti giuridico-amministrativi ma anche etico-economici, dove l'assistenza diventava meno spirituale e più clinica, e l'obiettivo non era solo quello di migliorare a breve termine la salute dei pazienti ma anche di reinserirli nel mercato del lavoro e nella società (Albini, 1993). La riforma ospedaliera del 1448 promossa dall'arcivescovo Rampini (1390-1450) prevedeva che i ricoveri in Ca' Granda fossero limitati ai soggetti con malattie ritenute guaribili o in forma acuta, mentre i pazienti affetti da disabilità, malattie croniche e incurabili (cioè la cui salute non poteva essere completamente recuperata), venivano curati nelle strutture decentrate aggregate (cioè gli ospedali minori) (Cosmacini, 1999).

Ogni ala della doppia crociera che compone l'Ospedale Maggiore era specializzata nel trattamento di una determinata patologia che veniva trattata con una terapia specifica da medici e chirurghi specializzati. L'ammissione all'ospedale, tuttavia, era decisa non solo sulla base delle condizioni di salute ma anche su quella dei mezzi finanziari: il paziente doveva mostrare una 'fede di povertà' (attraverso un documento in cui giurava di essere povero a causa della malasorte o 'povertà laboriosa') con la quale il consiglio decideva quindi l'ammissione alla struttura. Tuttavia, la Ca' Granda ha avuto da subito anche un ruolo socioassistenziale che la portava ad accogliere anche cittadini di basso ceto sociale senza disturbi specifici ma affetti da semplice fame.

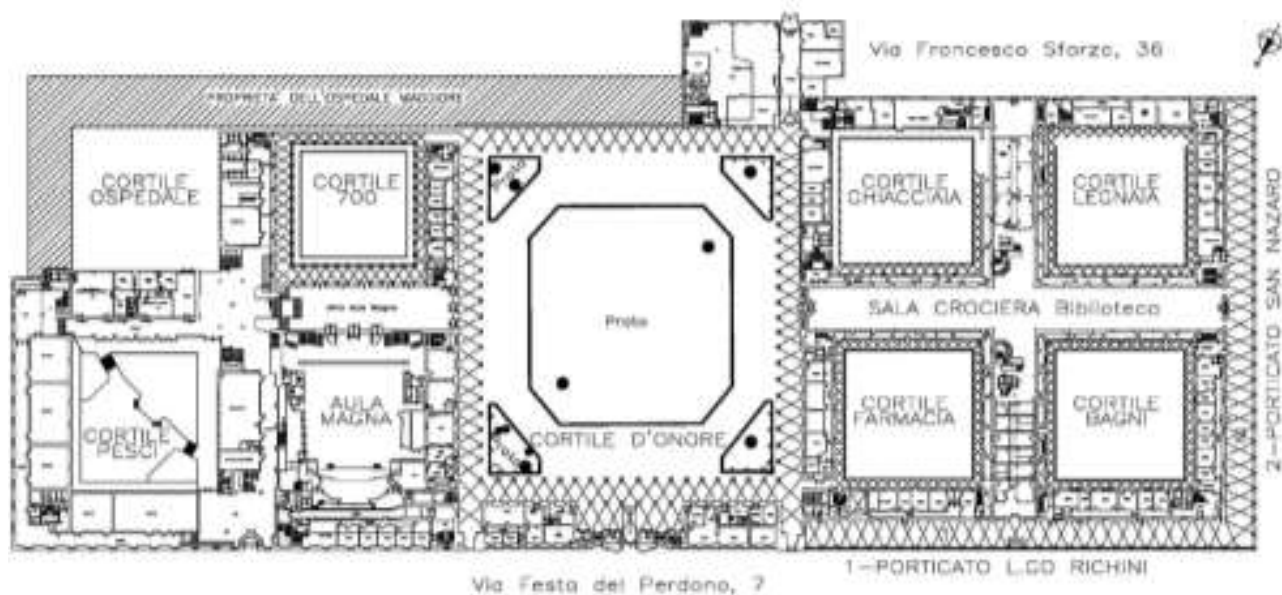


Figura 3.5.1 Progetto dell'ospedale Ca' Granda

Gli archivi della Ca' Granda, risalenti alla fondazione dell'ospedale, contengono tutti i documenti economici e amministrativi relativi alla sua gestione fino alla chiusura dell'ospedale.

Questi documenti rivelano inoltre quali piante venivano utilizzate per il trattamento dei pazienti, le nuove tecniche mediche e il tipo e la specializzazione di tutto il personale medico. Fin dal XV secolo, la farmacopea dell'antico ospedale di Milano elencava tutte le piante e le sostanze utilizzate per la preparazione dei rimedi terapeutici (come unguenti, impacchi, decotti, ecc.) con un resoconto meticoloso dell'inventario dei medicinali, compreso il dosaggio e la frequenza per le condizioni specifiche. Noto è anche che l'ospedale possedeva vasti terreni, che venivano utilizzati come fonte di reddito e per fornire risorse utili sia al refettorio che alla farmacia.

La cripta

Nel 1624, fu istituita all'interno dell'ospedale la chiesa della Beata Vergine Annunciata e con essa fu creata una cripta sotterranea (Agosti, 2017). La chiesa, e in particolare la cripta con la costruzione di camere sepolcrali sotto di essa, dal 1637 divenne il luogo di sepoltura di coloro che morivano nell'ospedale.

Gli architetti progettaronò la cripta per seppellire i cadaveri all'interno delle camere sotterranee dove si sarebbero decomposti e scheletrizzati. Una volta che le camere si riempirono di resti ossei, le ossa furono spostate in un'area cimiteriale all'interno del terreno dell'ospedale. Tuttavia, i nuovi spazi sepolcrali erano insufficienti a causa dell'aumento del numero di pazienti (dovuto all'espansione dell'ospedale) e del concomitante aumento del numero di morti. Inoltre, il regolare svuotamento delle camere sepolcrali era complicato dalla posizione delle stesse, la cui costruzione le aveva poste a stretto contatto con la falda acquifera, che determinava una presenza considerevole di acqua sia nelle murature che nell'ambiente sotto forma di umidità relativa (umidità che arriva oltre il 90% nel sepolcreto (Vaglianti et al., 2013), creando così un microclima atipico che rallentava i processi di decomposizione. Questa emergenza, insieme agli odori che si sviluppavano dalla cripta, rese necessaria, nel 1698, la costruzione di una nuova area cimiteriale fuori dalla Ca' Granda (San Michele ai Nuovi Sepolcri, oggi nota come Rotonda della Besana) (Carlessi, 2011). Fu così che dal 1697, i

resti dei pazienti deceduti non furono più sepolti nella cripta dell'ospedale, ma in un nuovo luogo dedicato più lontano dai vivi, in una zona periferica della città.

I resti attualmente presenti nella cripta dovrebbero riferirsi quindi esclusivamente al periodo tra il 1637 e il 1698, rappresentando 50 anni di vita dell'ospedale e della popolazione milanese del XVII secolo.

Vi furono tuttavia, dal momento della sua dismissione, due momenti di disturbo della cripta: il primo nel 1848, durante le insurrezioni delle Cinque Giornate di Milano che diedero inizio alla prima guerra d'indipendenza italiana, quando, non essendo possibile seppellire i corpi dei caduti fuori dalla città, si ricorse all'riutilizzo di cinque delle antiche camere della cripta della Ca' Granda. Le ossa già presenti furono spostate in camere diverse (Staurenghi, 1916). Il secondo, più recente avvenne nel 1943, durante la Seconda guerra mondiale, quando i bombardamenti su Milano distrussero la Ca' Granda e danneggiarono parte della cripta (Agosti e Stoppa, 2017).

La cripta della Ca' Granda ha 14 camere sepolcrali con una superficie totale di 365 m² (Figura 3.5.2). Ogni camera è accessibile attraverso botole quadrate grandi 50 cm. La camera O, una delle più grandi, è stata la prima ad essere investigata grazie alla sua accessibilità dovuta alla distruzione di un muro durante i bombardamenti della Seconda guerra mondiale. Le camere sono alte circa 2,20 m, e il livello del riempimento raggiunge circa la metà dell'altezza (Figura 3.5.2). Al di sotto del tombino, ci sono accumuli antropici, composti da ossa e talvolta da macerie (mattoni, tavole di legno, chiodi, calcinacci) dovuti a guerre e restauri dell'edificio.

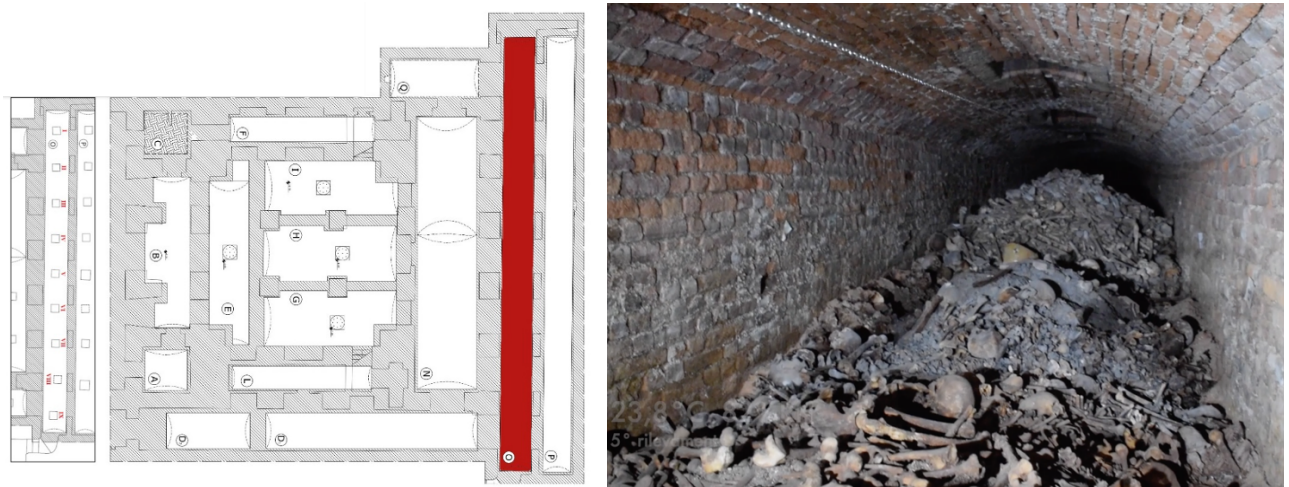


Figura 3.5.2 A sinistra, pianta della Cripta della chiesa della Beata Vergine Annunciata, in rosso la camera O oggetto delle indagini antropologiche attualmente in corso. A destra, immagine della camera O

Le indagini archeologiche ed antropologiche

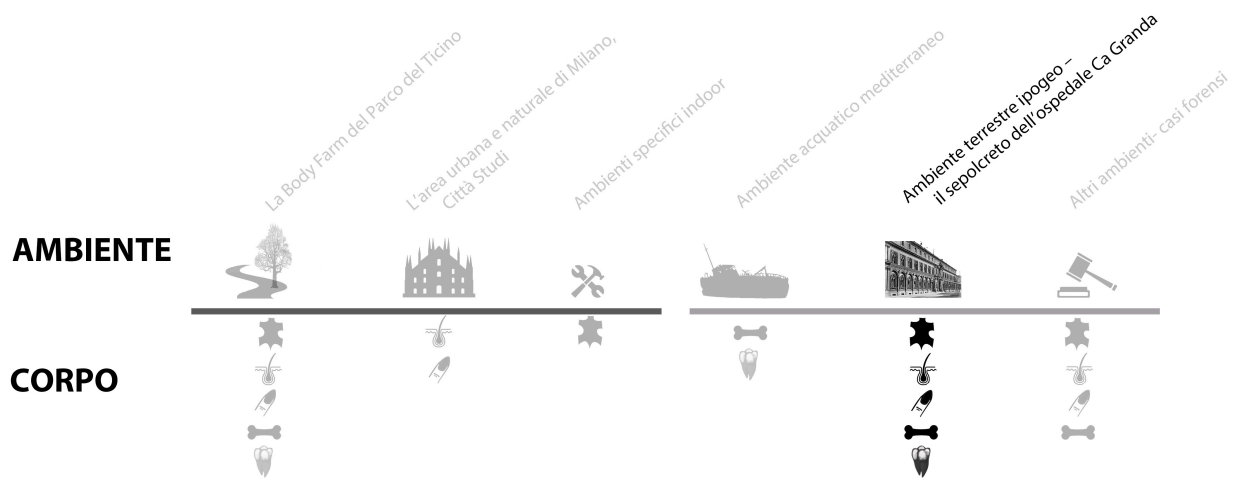
Durante le indagini archeologiche, sono stati effettuati sondaggi per determinare la situazione interna delle camere e per osservare l'accumulo di resti di natura antropologica (ossa, tessuti molli induriti e mummificati, appendici cutanee, ecc.) e archeologica (gioielli, abiti, monete, ceramiche, ecc.) nonché la struttura delle camere stesse. Lo scavo stratigrafico, supportato da importanti attività come la fotogrammetria e i rilievi 3D, sta portando alla scoperta di diversi meccanismi e fasi di deposizione dei cadaveri nelle camere, nonché di eventi antropici (come continue colate di calce) volti, nell'intenzione, ad accelerare i processi di decomposizione.

Nelle camere, gran parte dei resti ossei sono commisti: ciò è dovuto all'uso prolungato delle camere sepolcrali e agli interventi antropici messi in atto far posto alla sempre maggiore quantità di morti. Tuttavia, negli strati inferiori degli scavi, sono stati recuperati anche corpi parzialmente o interamente scheletrizzati ancora in connessione anatomica. Questa scoperta ha dimostrato che, contrariamente a quanto fino a poco tempo fa si credeva, la cripta era un sito di deposizione sia primario che secondario.

Dopo i preliminari sondaggi a cui si è accennato, sono iniziate le vere e proprie operazioni di scavo, suddivise in tre differenti campagne; queste operazioni hanno interessato principalmente la Camera O, già oggetto dei precedenti sondaggi. Le prime azioni sono state finalizzate essenzialmente alla pulizia della superficie e della sezione creata dalle ricerche precedenti, è stato rimosso uno strato superficiale US1 (unità stratigrafica 1) di colorazione grigio-biancastra e dalla forma conica, composto perlopiù da ossa, macerie e frammenti lignei, forse residui delle tavole utilizzate per deporre i corpi nelle camere. In questa unità verranno individuati i primi resti in connessione anatomica. Gli scavi hanno interessato poi una fascia di deposizione (US 5), parallela al muro occidentale della camera che copre, a sua volta, un deposito sottostante (US 6). L'US 5, composta da ossa commiste a terreno sabbioso di colore brunastro. I reperti osteologici di questa unità stratigrafica si presentano di colore bruno nerastro ed in pessimo stato di conservazione, a causa dell'umidità derivante dal vicino muro e dalla presenza di calce. Al di sotto di questa unità stratigrafica, viene riconosciuto un sottile strato limo-sabbioso (US 3) che copre un piano irregolare di calce (US 7) di colore biancastro e con frammenti di ossa, legno e laterizi inclusi. Le successive operazioni di scavo si spostano a sud dell'area iniziale dove viene indagata una fascia definita US4 che poi si rivela coprire interamente l'area della camera oggetto dei primi sondaggi. Gli strati superficiali di questa US si rivelano perlopiù composti da ossa commiste e arti inferiori in connessione anatomica. Qui viene altresì osservata una concentrazione anomala di resti ossei (talvolta in connessione) relativi ad individui subadulti. In questa fase vengono altresì recuperati numerosi reperti non ossei di cultura materiale, tra cui due anelli di bronzo, due rosari e una croce di Lorena in bronzo.

3.5 Ambiente terrestre ipogeo – Il sepolcreto dell’Ospedale Ca’ Granda

3.5.1 Analisi paleo nutrizionale ed antropologica di un campione di individui dell’ospedale Ca’ Granda



Nel contesto degli studi in corso sul materiale osseo e archeologico presente nel sepolcreto dell’Ospedale Ca’ Granda di Milano, sito di estremo interesse storico culturale che rappresenta uno spaccato della popolazione milanese del ‘600, sono state svolte indagini paleopatologiche ed antropologiche, al fine di:

- Ricercare e analizzare il micro particolato di origine vegetale presente nel tartaro dentale per meglio comprendere le abitudini alimentari e curative della popolazione in esame.
- Ricercare marcatori di stress e segni patologici
- Ricostruire le condizioni di vita di uno spaccato della popolazione milanese del 1600 interpretando in modo olistico le evidenze antropologiche, paleopatologiche e botaniche

Questo progetto è confluito in due pubblicazioni attualmente disponibili ai seguenti riferimenti bibliografici:

Mattia M, Biehler-Gomez L, Palamenghi A, Nichetti D, Caccia G, Sguazza E, De Angelis D, Galimberti PM, Fedeli AM, Slavazzi F, Cattaneo C, Caccianiga M (2021) “Man is what he eats”. Plant residues from dental calculus in the ancient population of Milano from Roman times to modern age. *Journal of Archaeological Science: Reports*, 39, 103180. <https://doi.org/10.1016/j.jasrep.2021.103180>

Mattia M, Biehler-Gomez L, Sguazza E, Galimberti PM, Valienti F, Gibelli D... & Cattaneo C (2021) Ca’ Granda, an avant-garde hospital between the Renaissance and Modern age: a unique scenario in European history. *Medical History*, 1-10 (in press).

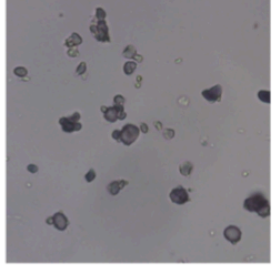
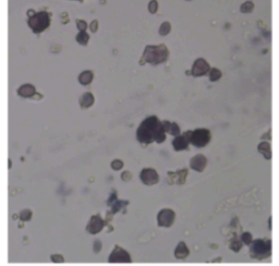
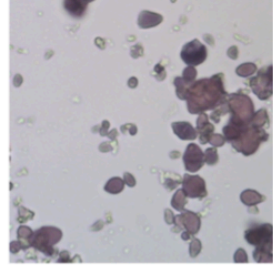
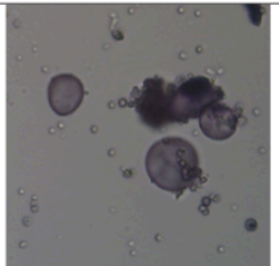
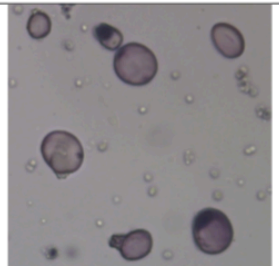
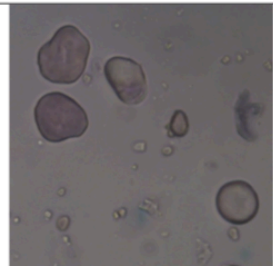
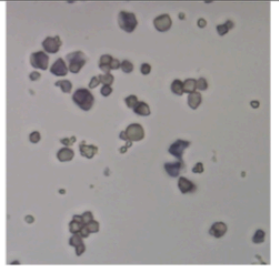
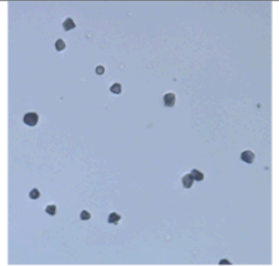
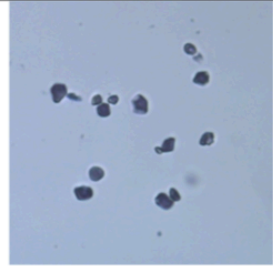
3.5.1.1 Materiali e metodi

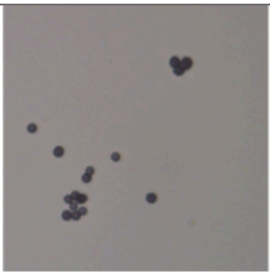
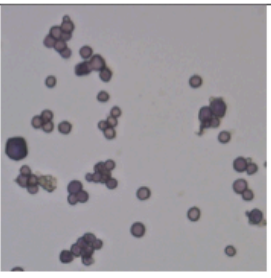
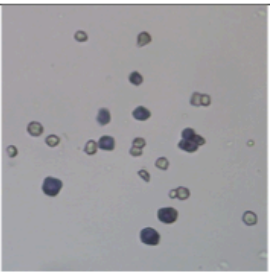
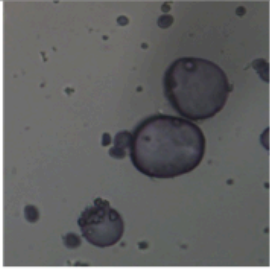
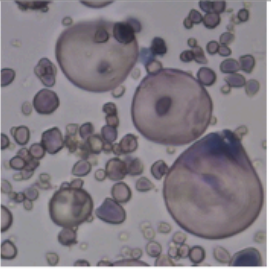
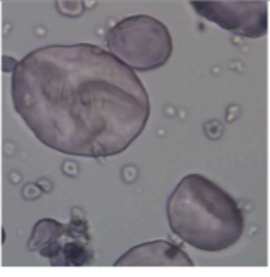
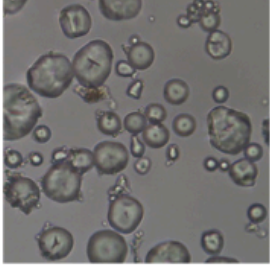
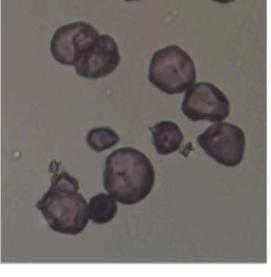
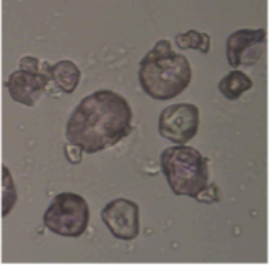
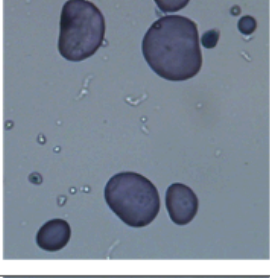
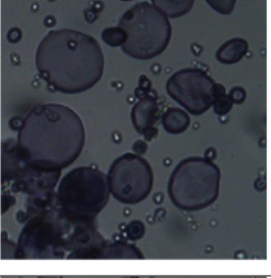
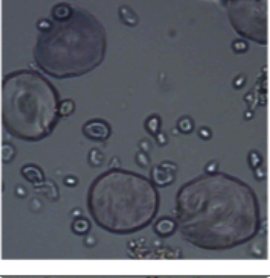
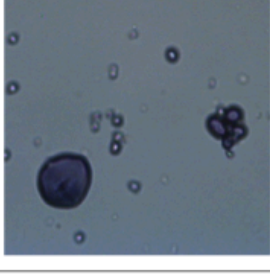
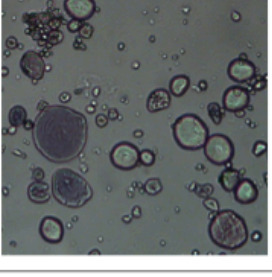
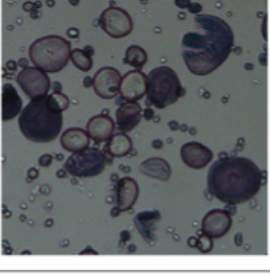
In questo contesto sono state svolte indagini, antropologiche, paleopatologiche con focus sui marcatori di stress e paleo nutrizionali.

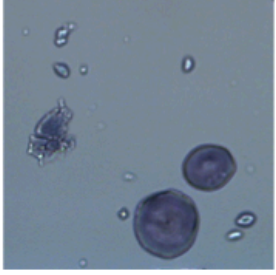
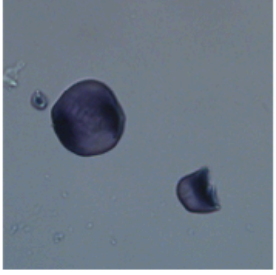
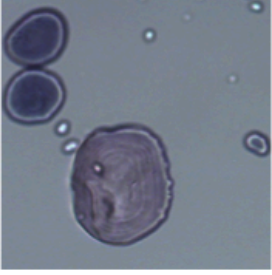
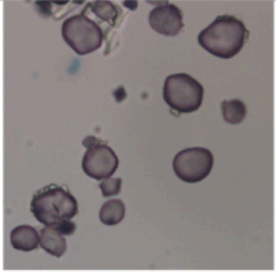
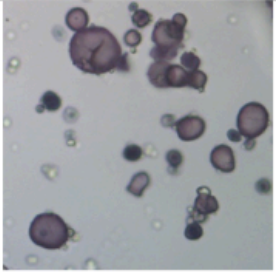
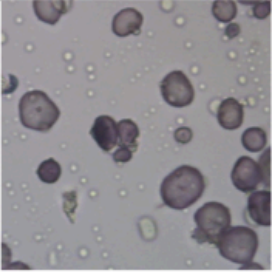
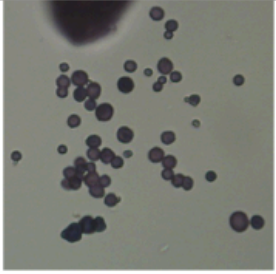
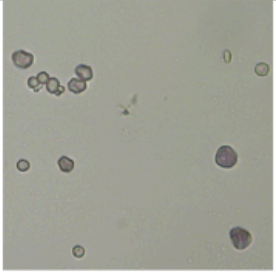
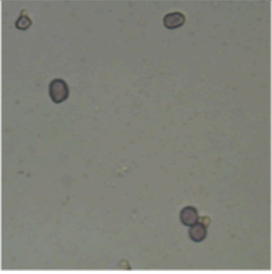
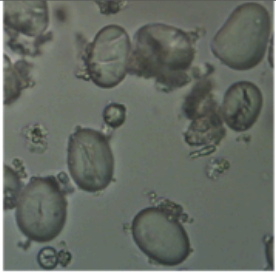
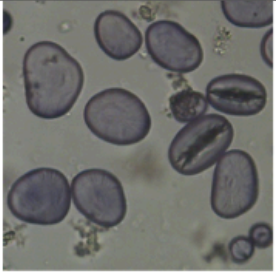
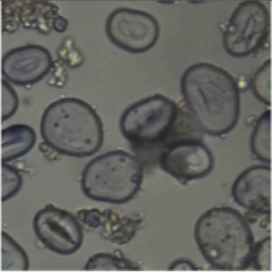
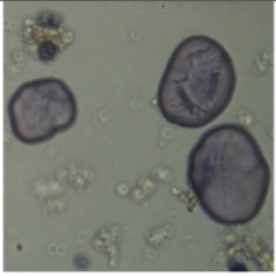

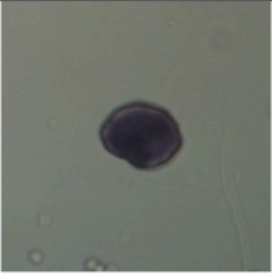
L'analisi antropologica ha riguardato ad oggi più di 300 000 ossa da tutte le camere sepolcrali che sono state singolarmente studiate mediante l'applicazione delle classiche procedure di studio antropologico per la raccolta di informazioni relative al profilo biologico (sesso, età, statura, etnia), alle eventuali patologie e traumi. Tale indagine, data la natura commista di un'ampia parte del materiale indagato, aveva anche come naturale obiettivo quello della riassociazione degli elementi dove possibile, operazione che in corso e che attualmente beneficia dell'ausilio dell'applicazione software Commingled Remains Analytics (CoRA) (Sachin).

Per quanto riguarda l'analisi paleopatologica, particolare attenzione è stata riservata, all'analisi di marcatori di stress ossei e dentari (cribra orbitalia, ipoplasia dello smalto, usura dentaria, carie, tartaro), segni classici di rachitismo e scorbuto (Brickley, 2018; Brickley e Mays, 2019; Kinaston et al., 2019) segni degenerativi e occupazionali (come artrite ed entesopatie) e periostite. Tale indagine è stata svolta in particolare su un sottocampione di 50 individui adulti e giovani (età minima 13 anni) con circa 50% di maschi, un 24% di femmine e un 26% di indeterminati.

Per quanto riguarda il tartaro dentale, presenza e abbondanza è stata valutata sul medesimo sotto campione di 50 soggetti, mediante l'attribuzione di un punteggio (Dobney e Brothwell, 1987) in modo analogo a quanto fatto con la popolazione attuale dei migranti, tratta nel capitolo 3.3.4. I 32 soggetti sottoposti all'analisi del contenuto del tartaro dentale costituiscono il sotto campione di tutti coloro che avevano ottenuto un punteggio minimo di uno in almeno un elemento dentario (64% del totale). Il tartaro è stato prelevato facendo uso di un protocollo sostanzialmente analogo a quello descritto nel capitolo precedente e determinato facendo uso della letteratura disponibile nonché di una collezione di confronto che comprendeva le principali piante attualmente utilizzate per l'alimentazione (Figura 3.5.3). Questa collezione di riferimento comprendeva sia campioni non trattati che campioni bolliti per 20 minuti in modo da poter valutare ed identificare correttamente anche granuli alterati da questo tipo di comuni trattamenti. Come già fatto nella collezione di confronto utilizzata per la popolazione africana del capitolo precedente, anche in questo caso le specie sono state raggruppate in macrocategorie sulla base della loro affinità tassonomica, il loro uso e la loro diffusione.

SPECIE	CAMPIONE ORIGINALE	CAMPIONE BOLLITO 5 MINUTI	CAMPIONE BOLLITO 20 MINUTI
<i>Avena sativa</i>			
<i>Hordeum vulgare</i>			
<i>Oryza sativa</i>			

SPECIE	CAMPIONE ORIGINALE	CAMPIONE BOLLITO 5 MINUTI	CAMPIONE BOLLITO 20 MINUTI
<i>Panicum miliaceum</i>			
<i>Secale cereale</i>			
<i>Sorghum bicolor</i>			
<i>Triticum aestivum</i>			
<i>Triticum dicoccum</i>			

SPECIE	CAMPIONE ORIGINALE	CAMPIONE BOLLITO 5 MINUTI	CAMPIONE BOLLITO 20 MINUTI
<i>Triticum durum</i>			
<i>Zea mays</i>			
<i>Fagopyrum esculentum</i>			
<i>Cicer arietinum</i>			
<i>Lathyrus sativus</i>			

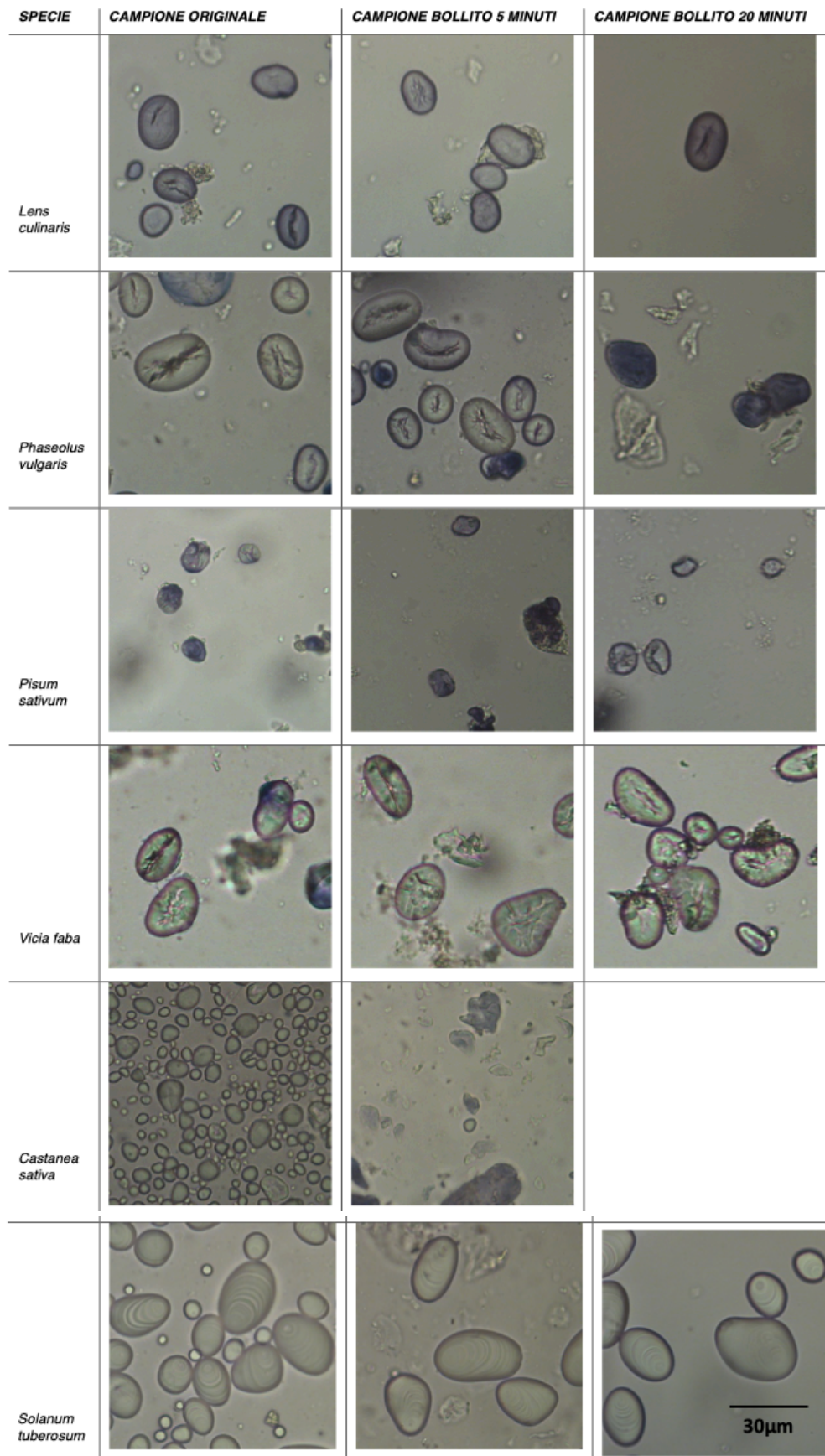


Figura 3.5.3 Collezione di amido di confronto contenete le principali piante attualmente utilizzate per l'alimentazione

3.5.1.2 Risultati

Finora, più di 300 000 ossa sono state studiate da tutte le camere sepolcrali: le analisi antropologiche osteologiche preliminari hanno mostrato che c'è una distribuzione quasi uguale di maschi e femmine di tutte le età (che vanno dai feti del terzo trimestre agli adulti anziani) (Beck, 1995), dimostrando come l'ospedale si occupava di tutti, dalle donne incinte o neonate malate agli anziani. Analisi osteologiche approfondite sull'ascendenza dei crani ha mostrato che gli individui erano prevalentemente di origine europea, come ci si aspettava; tuttavia, un'analisi comparativa tra questa popolazione seicentesca e l'attuale popolazione milanese ha mostrato cambiamenti secolari (Cattaneo et al., 2018): teste e volti nel XVII secolo erano un po' più piccoli e gracili di quelli visti oggi in Italia. I risultati preliminari delle analisi paleopatologiche confermano che gli individui presenti nella cripta appartenevano alle classi povere (specificamente approvvigionate dall'amministrazione della Ca' Granda della società dell'Età Moderna), come dimostrato dalla presenza di marcatori di stress, tra cui la cribra orbitalia e l'ipoplasia dello smalto (che rappresentano rispettivamente carenza di ferro ed eventi di arresto della crescita durante l'infanzia dovuti a periodi di stress, malattia o malnutrizione) (Aufderheide e Rodríguez-Martín, 1998). Hanno anche rivelato la presenza di diverse condizioni morbose e debilitanti (ad esempio, malattie articolari dolorose con mobilità ridotta, sifilide venerea terziaria, malattie dentali che mostrano scarsa igiene buccale), nonché lesioni traumatiche dovute a cadute, attività faticose o violenza interpersonale (Vaglianti, 2020). È interessante notare che tra i resti scheletrici della cripta sono stati trovati segni sia di autopsia (craniotomia) che di interventi chirurgici effettuati all'interno della struttura sanitaria.

Un sotto campione dell'enorme materiale osseo presente nel sito è stato oggetto di un'analisi paleopatologica e paleo nutrizionale volta a ricostruire la dieta e le condizioni di vita attraverso lo studio del materiale botanico contenuto nel tartaro dentale e l'interpretazione, anche in chiave nutrizionale, di segni di stress. Dal punto di vista patologico, a livello scheletrico, sette soggetti mostrano segni di stress quali cribra orbitalia, un soggetto presenta periostite, un soggetto presenta segni di trauma, due presentano artrosi, infine un soggetto mostra segni riconducibili alla sifilide. Naturalmente la distribuzione dei segni patologici mostra una prevalenza a livello cranico dovuta al tipo di materiale scheletrico disponibile che era costituito per la maggior parte da crani commisti. Ben maggiore numericamente è la rappresentanza di patologie dentarie quali usura, carie, tartaro, ascessi etc. come riportato nell'istogramma sottostante (Figura 3.5.4).

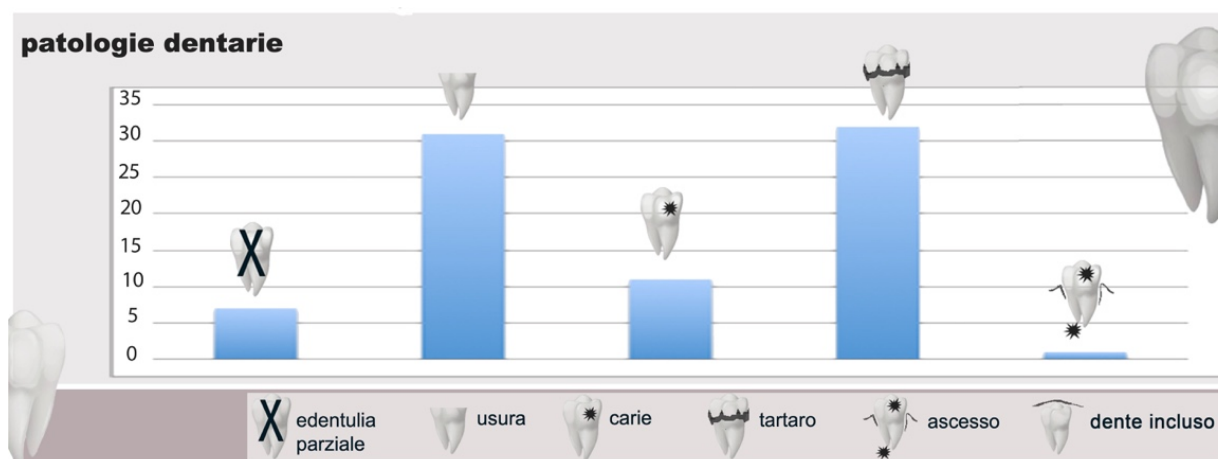


Figura 3.5.4 Istogramma riportante il numero di patologie dentarie riscontrate nella popolazione distinta nelle sei tipologie: edentulia, usura, carie, tartaro, ascesso, dente incluso

Oltre il 60% mostra segni di usura dentaria, percentuale simile presenta tartaro, oltre il 20% mostrano carie, circa il 15% mostra edentulia parziale ed infine un soggetto presenta un ascesso.

Per quanto riguarda invece l'analisi paleobotanica condotta sui micro resti inclusi nel tartaro dentale ed in particolare sull'amido (Figura 3.5.5), complessivamente, sono stati osservati 430 grani di questi, oltre l'80% sono stati identificati con successo almeno a livello di macro categoria, il 10% non è stato determinato a causa della mancanza di caratteristiche morfologiche discriminanti, mentre il restante (3%) comprendeva granuli rotti, deformati o nascosti da materiale estraneo la cui identificazione non era possibile. Tuttavia, come accennato nel capitolo precedente, l'identificazione univoca a livello di specie non è sempre possibile in questo tipo di analisi, poiché è comune un certo grado di incertezza e sovrapposizione di tratti, in particolare all'interno della macrocategoria dei cereali e in particolare tra l'orzo e il Triticum. Per questo motivo, l'identificazione ottenuta a livello di specie deve essere sempre considerata solo come la più probabile, e i confronti sono stati eseguiti a livello di macrocategoria.

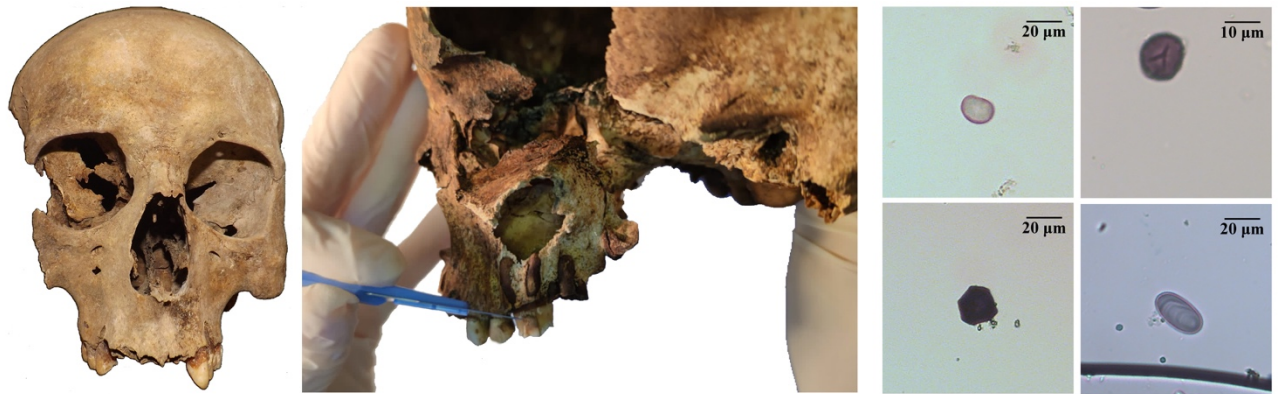


Figura 3.5.5 Immagini di alcune fasi dell'analisi del tartaro dentale, selezione del campione, rimozione e osservazione dei granuli di amido

L'analisi ha mostrato alte frequenze di cereali, come orzo, segale e farro (Figura 3.5.6). I cereali meno rappresentati erano mais, riso, miglio e grano duro, insieme a grano saraceno. I legumi più frequenti erano le lenticchie e le fave. Il pisello, la castagna e la patata sono stati osservati raramente.

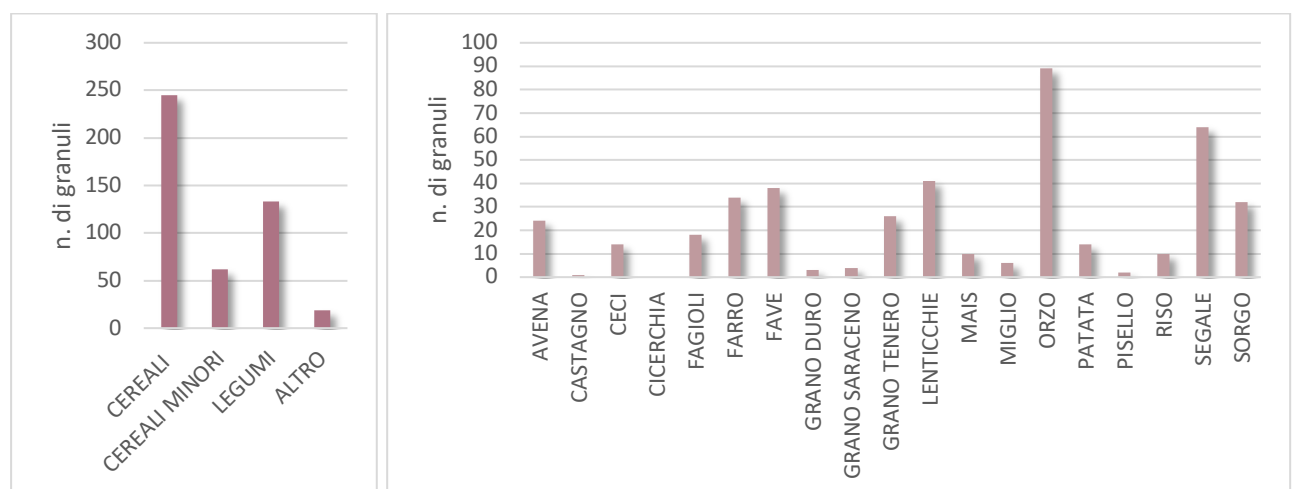


Figura 3.5.6 Istogrammi rappresentanti il numero di granuli per classe, a sinistra, e sottoclasse, a destra.

Oltre all'amido, altri elementi vegetali come polline e spore sono stati rinvenuti occasionalmente: un ritrovamento interessante e inaspettato è stato l'equiseto campestre (*Equisetum arvense*).

3.5.1.3 Discussioni

I granuli di amido sono considerati un mezzo efficace per la ricostruzione dieta umana ma anche delle abitudini occupazionali e dei luoghi di vita (per esempio Belcastro et al., 2007; Radini et al., 2016). Dalle fonti storiche disponibili sulle abitudini dell'epoca è emerso che nell'area del milanese si consumava: pane bianco, composto principalmente da grano e destinato agli aristocratici e al clero e pane scuro, fatto di segale, grano e miglio, destinato alle classi meno agiate. Questo pane, infatti, viene menzionato anche nei registri dell'ospedale, secondo cui esso veniva distribuito ai poveri, insieme a legumi, vino e pesce occasionalmente. Inoltre, risulta che ai pazienti venivano date piccole porzioni di latticini e carne.

Quanto riportato, appare coerente con le evidenze scientifiche ottenute fino ad ora (Castelvetto, 1614; Faas e Whiteside, 2005), seppur con alcune apparenti incongruenze, quali: la scarsa presenza di cereali minori, che può essere tuttavia spiegata con l'introduzione di varie specie di piante, principalmente dall'America, nelle coltivazioni dell'epoca. In particolare, la presenza del mais può aver soppiantato, per la sua alta produttività ed estrema idoneità al territorio lombardo (Cazzola, 1991), specie quali il sorgo e il miglio. Infatti, il mais era già coltivato nell'Italia settentrionale già nella seconda metà del 1500, soprattutto in piccoli orti (Cazzola, 1991) Nel giro di pochi decenni, cominciò la sua espansione nella Pianura Padana e sostituì il miglio e il sorgo che venivano utilizzati come mangime per gli animali e dalle classi sociali povere in tempi di carestia (Cazzola, 1991). Data la somiglianza con queste piante, la coltivazione del mais fu spesso osteggiata perché si pensava che causasse un impoverimento del suolo ma, nonostante le numerose interruzioni e date le numerose carestie del XVII e XVIII secolo, divenne il principale alimento consumato dai poveri (Sella, 1980). Questo consumo intensivo portò anche alla comparsa della pellagra che divenne endemica nell'Italia settentrionale e fu debellata solo all'inizio del 1900 (Finzi, 1982).

La scarsa presenza del miglio può apparire come la seconda incongruenza, infatti, questo cereale, rappresentava una coltivazione sicura e resistente ed era molto adatto alle caratteristiche del territorio milanese, tuttavia, non va trascurato che i piccoli granuli di amido del miglio possono essere confusi con quelli del riso e questo può aver causato una non totale correttezza nella lettura del dato. Tuttavia, anche unendo le quantità di miglio e riso, l'abbondanza complessiva rimane bassa. Anche questo però può trovare una spiegazione, infatti, i granuli di amido di piccole dimensioni del miglio, potrebbero essere stati degradati, o danneggiati e persi durante la preparazione del campione, in una proporzione maggiore rispetto a quelli, più grandi, di altre specie.

La presenza relativamente abbondante dei legumi, coerente con le fonti storiche, potrebbe trovare ragione anche nella loro facile coltivazione anche in piccoli appezzamenti di terreno, orti domestici o anche in vaso. Questo tipo di alimento era noto e utilizzato già in epoca romana nell'Italia settentrionale dove in particolare erano diffusi: lenticchie, ceci e una specie di fagiolo (*Vigna unguiculata*). Inoltre, i moderni fagioli americani (*Phaseolus vulgaris*) furono introdotti nel 1534 (Perale, 2001) andando ad arricchire la precedente composizione della classe. Pur con le sovrapposizioni di forma e dimensione a cui si accennava in precedenza, elementi che potrebbero aver diminuito il grado di precisione dell'identificazione a livello di specie; tuttavia, la dominanza di lenticchia e della fava sembra rappresentare un dato certo nel campione studiato.

Infine, non può passare inosservata la presenza, seppur ridotta, di amido di patata. È noto che il fisico Alessandro Volta portò alcuni esemplari dalla Francia a una nobildonna comasca Teresa Ciceri

Castiglioni, nel 1777, la donna ne aveva fatto precisa richiesta al fisico al fine di poter introdurre un nuovo alimento nella dieta dei contadini locali (Visconti, 2013). Dieci anni più tardi, nel 1785, per iniziativa del governo asburgico, vennero importate da Londra alcune varietà di patata per un primo esperimento di coltivazione. Dopo i buoni raccolti di questa specie, sia in ambito contadino che all'interno dell'Orto Botanico di Brera, si provò, con successo, ad addizionala con mais e rape, per creare una nuova tipologia di pane. Dati i risultati, il governo decise di intraprenderne, a partire dal territorio di Como, la coltivazione (Visconti, 2013). La presenza di amido di patate nei campioni potrebbe essere letta come prova a supporto dell'estensione dell'arco temporale, dei resti indagati, alla metà del XIX secolo, data in cui le camere della cripta furono riaperte per ospitare i corpi dei caduti nelle battaglie risorgimentali del 1848 (Cinque Giornate di Milano). Tuttavia, non si può neppure escludere che tali granuli siano invece riconducibili ad altri tipi di tuberi o radici.

Non tutti i granuli di amido hanno potuto essere identificati con successo a causa morfologia degradata o a causa della sovrapposizione di dimensioni e forme tra le specie di piante. Anche se il raggruppamento in categorie principali ha aiutato a risolvere questo problema, potrebbero essersi verificati alcuni errori di interpretazione, per esempio tra diverse macrocategorie, come nei casi sorgo/mais e miglio/riso discussi sopra. Questo problema ribadisce il limite dell'identificazione dei granuli di amido basata solo sulla loro morfologia e dimensione, come già riportato da Radini et al. (2017).

Un'altra questione importante riguarda l'effetto della cottura sulla dimensione dei granuli e sulla forma. L'identificazione positiva è avvenuta attraverso il confronto con materiale crudo, mentre quasi nessun grano è stato identificato attraverso il confronto con materiale bollito. Gli effetti dell'alta temperatura sono molto variabili all'interno dello stesso campione e rendono i grani molto meno visibili e identificabili. Probabilmente i grani che possono essere osservati e identificati rappresentano una frazione di quelli meno colpiti dalle procedure di cottura.

Considerando gli aspetti paleopatologici, l'analisi dei marcatori di stress dentari e ossei ha mostrato una frequenza relativamente bassa, a parità di dieta nel sito in esame rispetto a siti coevi come quello di Milano Sabotino, fossa comune destinata alle vittime dell'epidemia di peste che ebbe luogo nella prima metà del XVII secolo (Caruso et al., 2013), sito con il quale è stato condotto un preliminare studio comparativo. Si può quindi ipotizzare che, a determinare la minore incidenza di tali marcatori sulla popolazione di Ca' Granda possano avere influito le politiche dell'ospedale e la riforma sociale dell'epoca, che abbia permesso di garantire condizioni di vita sufficienti anche alle classi più povere della popolazione (specialmente bambini abbandonati, Cosmacini, 1999). Ben diverse, infatti, erano le condizioni della popolazione del sito di Milano Sabotino i cui occupanti avevano subito senza possibilità di ammortizzamento lo stress fisiologico causato da un lungo periodo di carestia (Ripamonti et al., 1641). Va sottolineato tuttavia che non sono state osservate evidenze specifiche di anemie alimentari. La cribra orbitalia è infatti un segno aspecifico e la sua presenza può essere dovuta a vari fattori, tra cui fattori patologici (ad esempio lesioni neoplastiche, infettive e lesioni traumatiche) (Wapler et al., 2004; Oxenham e Cavill, 2010; Rivera e Miraz'on Lahr, 2017; Buikstra, 2019b). Anche a livello scheletrico mancano evidenze di specifiche carenze nutrizionali quali carenze da vitamina C e D.

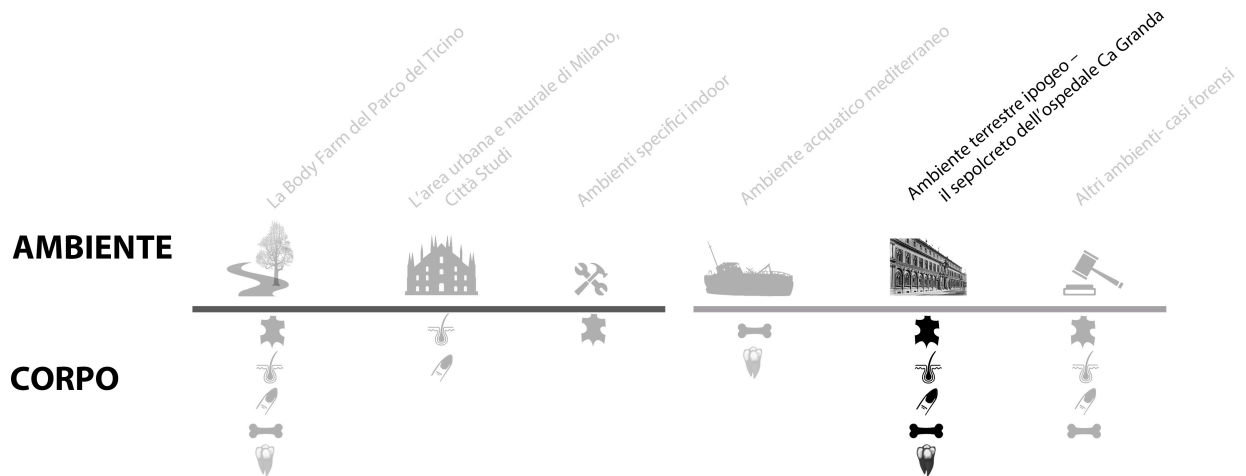
Nonostante la varietà della dieta desunta dall'analisi del tartaro dentale, che includeva sia cereali maggiori e minori così come le verdure, gli individui in esame hanno sperimentato stress fisiologici, come evidenziato dalla presenza di ipoplasia dello smalto e cribra orbitalia, segni che tuttavia non risultano correlabili in modo specifico a carenze nutrizionali.

Per concludere, non si può trascurare il rinvenimento, nei campioni di tartaro, di alcune spore, in particolare spore di equisetto (*Equisetum* cfr. *arvense*, Fig. 4). Secondo la farmacopea del XVII secolo, questa pianta era usata a scopo medico, come diuretico e coagulante, inoltre i fusti sterili potevano essere usati per la pulizia dei denti o dei piatti (fonte archivistica della Ca' Granda), prove a sostegno dell'uso medicinale risiedono, ad esempio, in un contenitore farmaceutico della collezione di vasi ospedalieri di Milano Ca' Granda, che riporta la seguente dicitura "*Aqua aequiseti*" (che significa "acqua di equisetto").

Tuttavia, questi usi coinvolgono principalmente i più disponibili fusti sterili, mentre la presenza di spore implica necessariamente l'uso di quelli fertili. L'uso alimentare di steli fertili è stato riportato in Europa (Turner et al., 2011; Łuczaj et al., 2012) e anche oggi, l'equiseto è usato per le sue proprietà benefiche. Questa teoria non può essere esclusa, essendo in questo caso un utile indicatore di cattive condizioni di vita. Ancora poco si sa sull'uso effettivo di questa pianta e su come può essere intrappolata nel tartaro dentale (gruppo di esperti scientifici EFSA sui prodotti dietetici, 2009).

3.5 Ambiente terrestre ipogeo – Il sepolcreto dell’Ospedale Ca’ Granda

3.5.2 Inventario e contestuale preliminare analisi tafonomica del materiale non osseo presente in un sotto campione della camera O



Nel contesto degli studi in corso sul materiale osseo della camera O ed in particolare del materiale residuo della setacciatura delle US 1, 2, 3, 4 e 5, è stato realizzato un inventario e realizzato un database del materiale non osseo presente. Contestualmente, alcune categorie di elementi sono state sottoposte ad un preliminare indagine tafonomica. Questa fase di indagine aveva lo scopo di:

- Realizzare un inventario del materiale non osseo presente nel sito che potesse fare da punto di partenza per analisi specialistiche future delle diverse tipologie di materiale
- Condurre un'analisi tafonomica di alcune categorie di materiali rinvenuti per meglio comprendere i fenomeni trasformativi e conservativi che li hanno interessati alla luce del peculiare contesto ambientale di rinvenimento.

3.5.2.1 Materiali e metodi

All'interno della camera O, è stato realizzato uno studio tafonomico preliminare nel contesto di un inventario del materiale non osseo emerso durante la pulizia e setacciatura del deposito delle prime unità stratigrafiche (US, 1, 3, 4, 5). Tutti gli elementi di natura antropologica come capelli, unghie e tessuti molli, naturalistica come elementi entomologici e botanici e merceologica, come fibre e frammenti di tessuto, sono stati inventariati e descritti.

Per quanto riguarda gli elementi di pertinenza antropologica: i capelli sono stati valutati macroscopicamente e, a campione, anche con l'ausilio di microscopia episcopica ed ottica. Il materiale veniva distinto in: masse, ciocche e singole formazioni pilifere, sulla base della loro coesione e della loro affinità morfologica. Per ciascuna di esse sono stati forniti dati metrici, di integrità (presenza di bulbo e/o punta), dati relativi alla morfologia generale (lisci, curvi, ricci) e a presenza e natura dell'imbrattamento (materiale organico o inorganico).

Per i tessuti molli si è valutato: colore, dimensioni, inoltre si è fatto, quando possibile, una valutazione dello stato di conservazione in termini di fenomeno conservativo sopraggiunto: resti mummificati, corificati e saponificati.

Delle unghie è stata valutata l'integrità le dimensioni, il colore e la consistenza.

All'interno della macro classe dei reperti di pertinenza naturalistica, il materiale entomologico è stato conteggiato facendo riferimento allo stadio di sviluppo, distinguendo essenzialmente residui di insetti adulti dai residui di pupari, è stata fatta inoltre una valutazione del grado di integrità e delle dimensioni. Il materiale botanico è stato distinto per tipologia in: foglie, semi, fusti e fibre. Di ciascuna è stata valutata l'integrità, le dimensioni principali, il colore, e lo stato di conservazione.

Infine, il materiale tessile è stato descritto in frammenti di tessuto e singole fibre, ciascuna delle quali è stata a sua volta descritta in termini di forma e dimensioni, colore, tipologia di armatura del tessuto (sistema di intreccio di trama e ordito), natura della fibra (animale o vegetale), presenza di imbrattamento organico o inorganico.

Tutti dati sono stati raccolti in un database Excel distinti per unità stratigrafica e tipologia di materiale.

3.5.2.2 Risultati

Per quanto riguarda l'analisi del materiale non osseo della camera O, nelle prime 4 unità stratigrafiche indagate dal punto di vista antropologico, è emerso quanto segue:

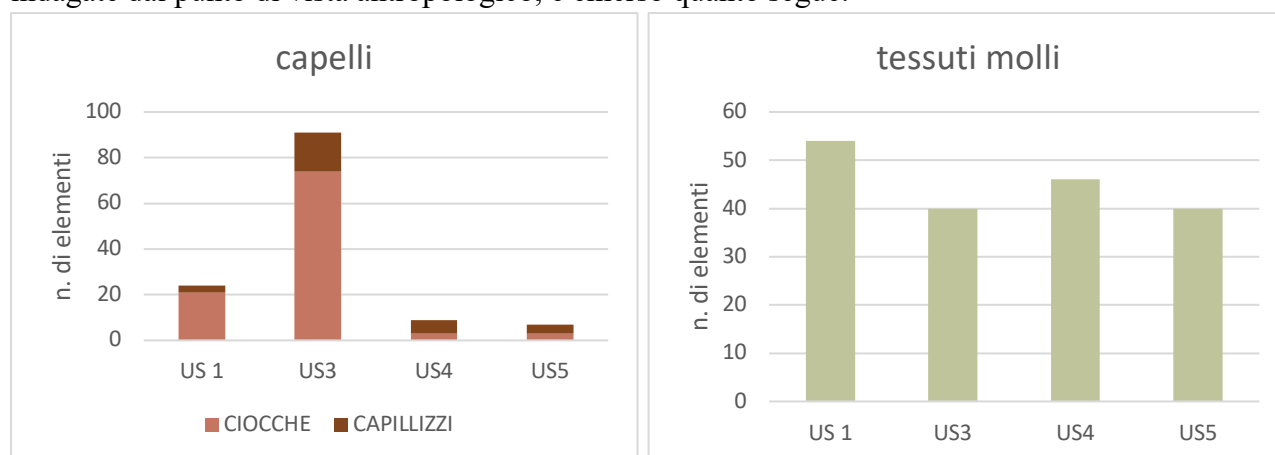


Figura 3.5.7 Istogrammi rappresentanti il numero campioni di capelli, distinti in ciocche e intere capigliature per unità stratigrafica, a sinistra, e di frammenti di tessuti molli per unità stratigrafica, a destra

I capelli (Figura 3.5.7) presentano la massima abbondanza nell'unità stratigrafica 3, circa 90 elementi, seguita dalla 1 con oltre 20 elementi ed infine dalla unità stratigrafica 4 e 5 entrambe con meno di 10 elementi. L'unità 3 è anche quella che presenta il maggior numero di masse di capelli, grossi ammassi di formazioni pilifere coerenti tra loro per morfologia riconducibili presumibilmente ad intere, o pressoché tali, capigliature (Figura 3.5.8). Tali elementi sono presenti in percentuale minima dell'unità 1 (circa 15%) e in un circa 50% nella 4 e nella 5.

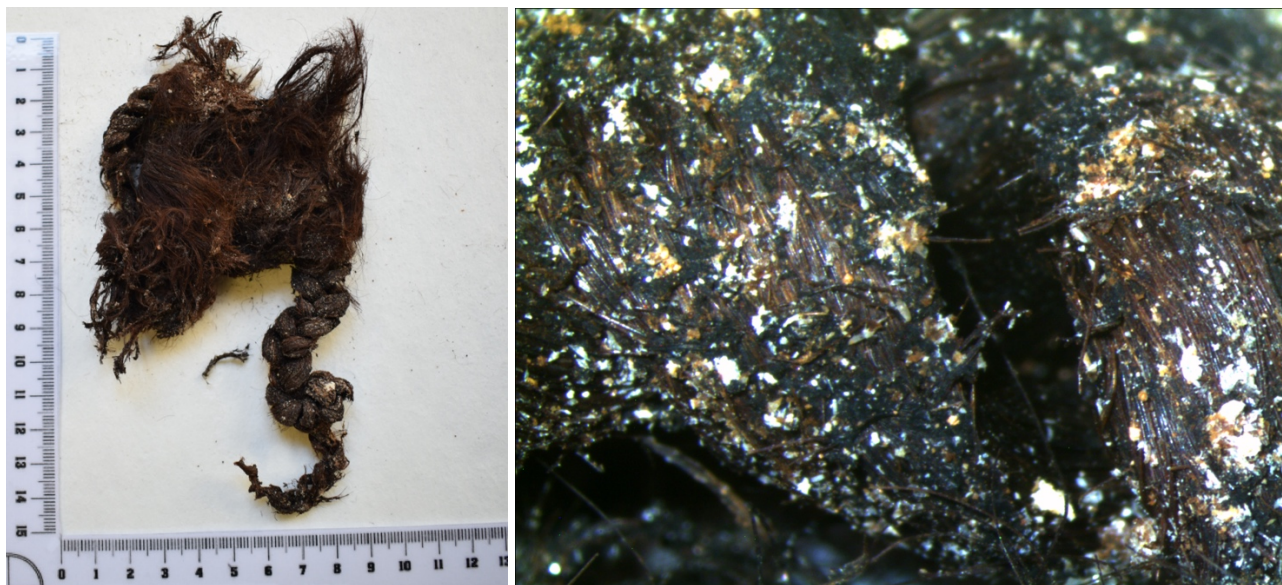


Figura 3.5.8 A destra, immagine di un'intera capigliatura ancora acconciata in una treccia, a destra immagine in microscopia episcopica del materiale imbrattante

In più di un caso le capigliature si presentano ancora acconciate in trecce. Generalmente, la morfologia liscia del capello predomina su quella curva, che a sua volta è molto più rappresentata di quella riccia, riscontrata solo nell'US1 e nell'US3 in basse quantità. La quasi totalità degli elementi osservati mostra imbrattamenti diffusi di materiale misto, organico e inorganico, fattore che deve essere considerato anche per il potere di alterazione che può avere sulla morfologia degli elementi piliferi. Per quanto riguarda il colore esso si presenta estremamente omogeneo, la quasi totalità del materiale mostra colorazione bruno-rossiccia. Come atteso la maggior parte delle formazioni si presentava frammentata, mancanti di punta naturale e/o bulbo, in particolare nella US 1, dove nessuna formazione presenta bulbo e solo un 10% presenta punte con naturale assottigliamento mentre il 90% presenta terminazioni trasversali più o meno irregolari. Nelle US 3, 4 e 5 la frequenza di formazioni in cui sono visibili punte con naturale assottigliamento aumenta passando dal 33% al 50%, inoltre, nelle US4 e 5 si registrano bulbi conservati.

L'osservazione di alcuni elementi presi a campione in microscopia ottica ha permesso di osservare una struttura microscopica mostrante segni di colonizzazione fungina (Tridico et al. 2014) (Figura 3.5.9), danni attribuibili ad entomofauna (Tridico et al. 2014) (Figura 3.5.10) e generale deterioramento della fibra capillare che presenta fratture e aree sfibrate nonché danni della cuticola.

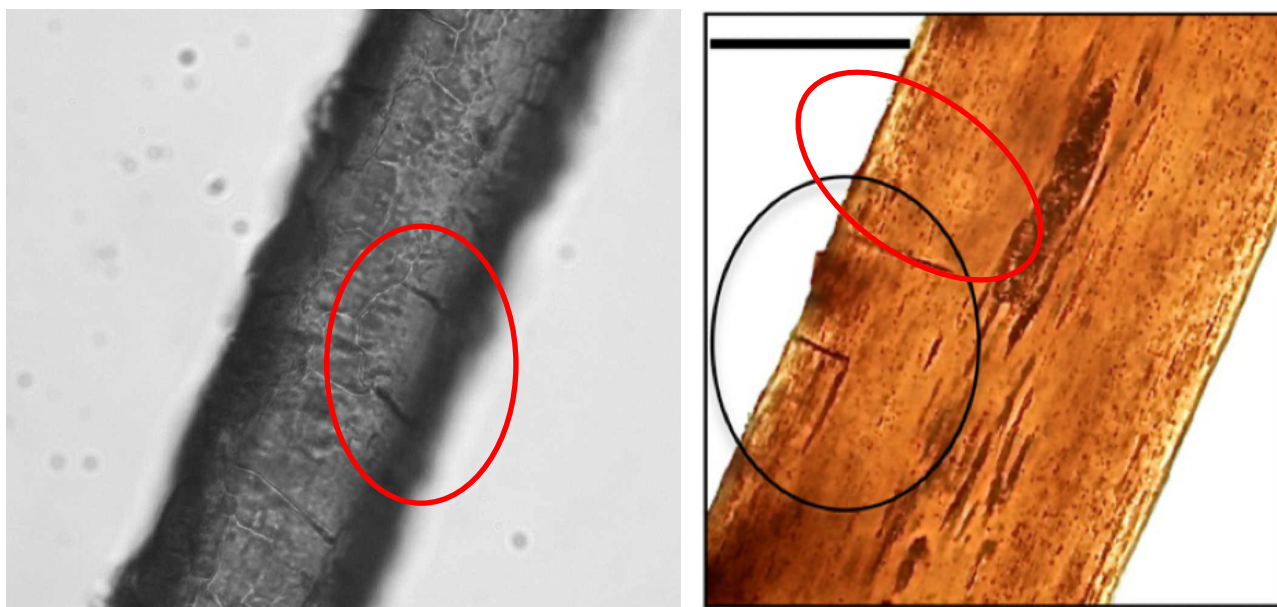


Figura 3.5.9 Immagine di capello mostrante segni di colonizzazione fungina (evidenziata dal cerchio rosso), a destra immagine da letteratura (Tridico et al., 2014).



Figura 3.5.10 In alto capello mostrante danni attribuibili ad entomofauna a diversi ingrandimenti, in basso immagine da letteratura anch'essa a diversi ingrandimenti (Tridico et al., 2014).

Passando a considerare i tessuti molli, questa classe di elementi mostra la massima abbondanza nella US 1 con oltre 50 frammenti, seguita dall'US 4 con oltre 45 elementi e dalle US 5 e 3 entrambe con 40 elementi rinvenuti. Gli oltre 170 frammenti di tessuti molli complessivi presentano colori e misure differenti; tuttavia, si possono distinguere due tipologie di materiale: colore dominante bruno-nerastro ed aspetto simile al cuoio interpretato come tessuto molle in stato di mummificazione/corificazione e colore bianco/ocra con consistenza gessosa interpretato come materiale in stato di saponificazione. Le dimensioni erano generalmente di pochi cm quadrati. I tessuti saponificati sono stati rinvenuti

esclusivamente nell'unità 3, al contrario, gli altri si presentavano diffusamente in tutte le unità stratigrafiche.

Si sottolinea che, oltre al materiale facente parte del presente inventario, sono stati rinvenuti anche alcuni residui di materiale encefalico che sono stati sottoposti ad analisi istologica e tossicologica, le quali sono state in grado di confermare la natura del materiale mediante l'individuazione di strutture neurologiche e saranno in breve in grado di fornire informazioni sulla presenza di piombo 15 e mercurio 16 così come di altre sostanze che potrebbero essere state usate come forma di trattamento dei pazienti. I futuri risultati tossicologici saranno confrontati con la farmacopea dell'ospedale, per confermare le fonti scritte e/o implementarle.

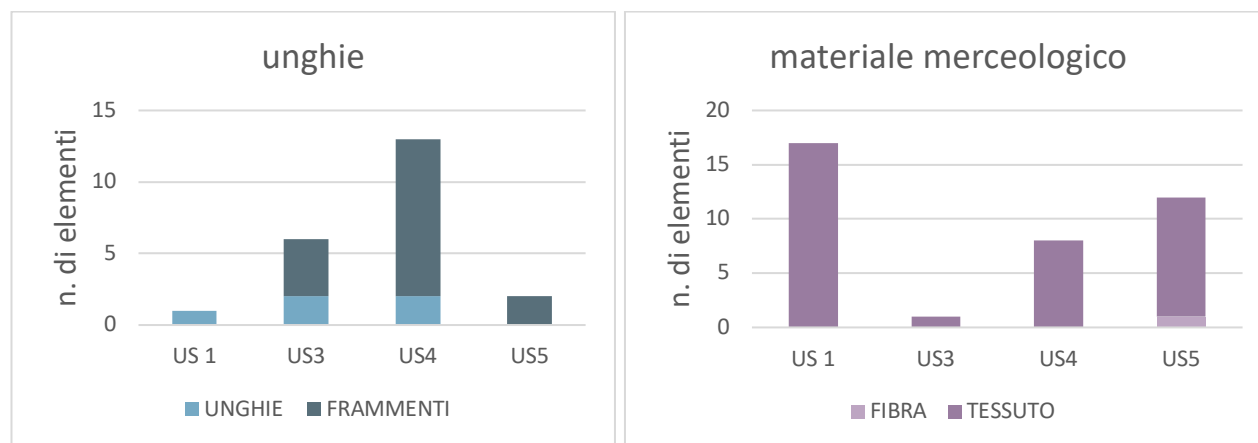


Figura 3.5.11 A sinistra, istogramma riportante il numero di unghie e frammenti di unghie per unità stratigrafica, a destra istogramma riportante il numero di fibre e frammenti di tessuto per unità stratigrafica

Le unghie mostrano una maggiore abbondanza nell'unità stratigrafica 4 seguita dalla 3, dalla 5 ed infine dalla 1 con un singolo elemento (Figura 3.5.11). Il colore è generalmente bruno-nerastro mentre la consistenza è flessibile, una piccola parte del campione, tuttavia, presenta colorazione più chiara ed è caratterizzata da un maggiore spessore in cui, in visione microscopica, sono ancora visibili gli strati deposizionali di cheratina. L'integrità dei campioni va decrescendo spostandosi dall'unità stratigrafica 3 alla 5 dove la totalità degli elementi si presenta non integra.

Spostando l'attenzione sul materiale merceologico si osserva che, il quantitativo maggiore di materiale sembra collocarsi nelle unità stratigrafiche 1, 5 e 4 mentre pressoché assente risulta nell'unità 3 (Figura 3.5.11). Tale materiale è composto nella quasi totalità da piccole porzioni di tessuto e da una ridottissima percentuale di fibre singole solo in US 5. Tutti gli elementi oggetto di studio presentano una colorazione bruna, più o meno scurita e diffuso imbrattamento. Per quanto riguarda la tessitura, la tipologia prevalente appare quella a "tela", una delle tessiture base caratterizzata da un rapporto 1:1 tra il filo della trama e quello dell'ordito che genera un intreccio uguale da entrambi i lati. L'unità stratigrafica 1 oltre a risultare quella in cui il materiale merceologico è più abbondante risulta anche quella con i reperti di maggiori dimensioni (13x3 cm). La maggior parte delle fibre di cui sono composti i frammenti di tessuto rinvenuti sono di origine vegetale presumibilmente cotone, lino o canapa ma alcuni elementi presentano strutture più complesse con copresenza di fibre tessili di natura diversa compresa quella animale, presumibilmente lana (Figura 3.5.12).

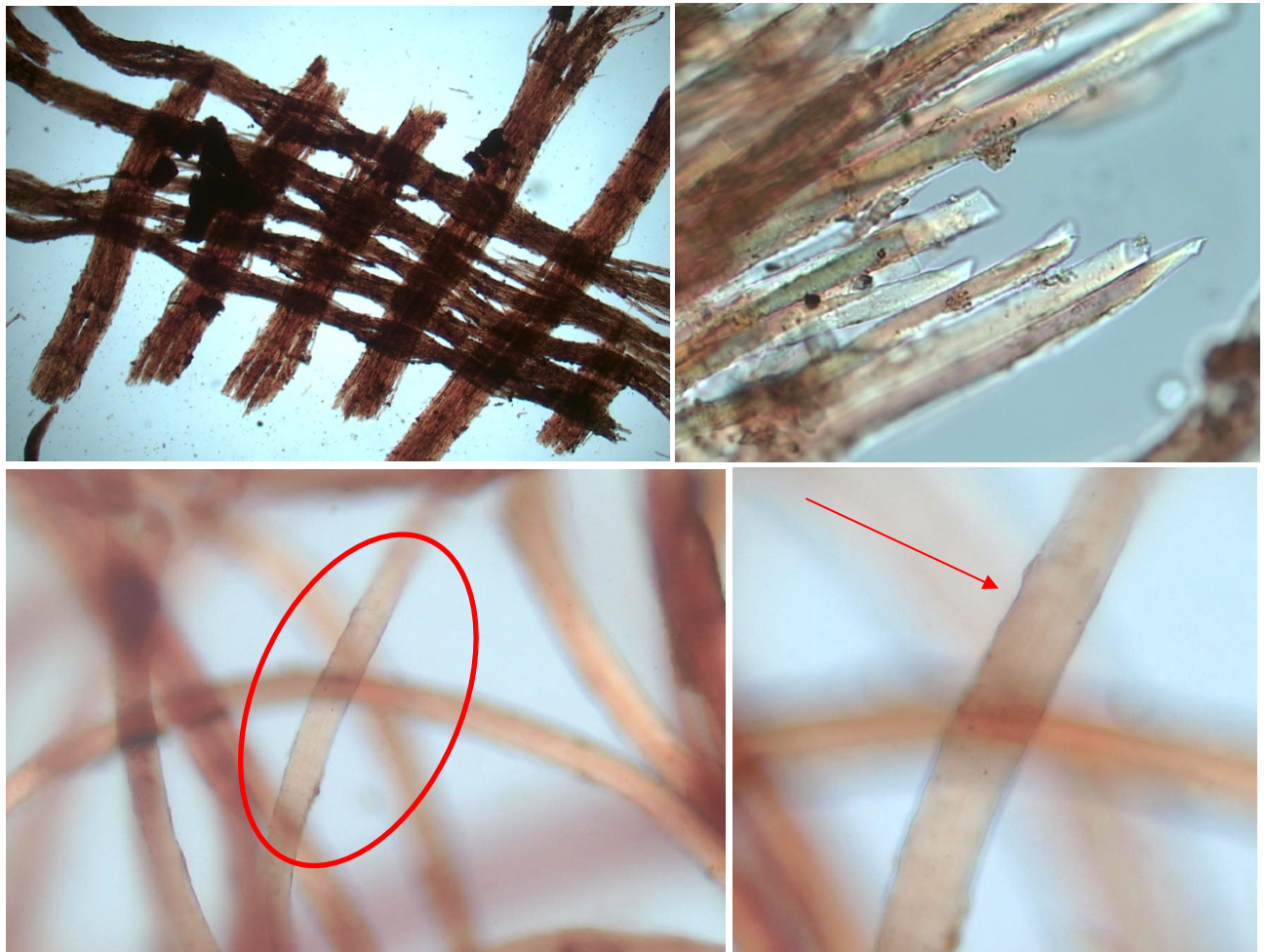


Figura 3.5.12 In alto esempio di frammento di tessuto composto da fibre di origine vegetale, in basso frammento di tessuto composto da fibre di origine animale, nel cerchio rosso dettaglio delle scaglie della cuticola tipiche del pelo animale.

Va sottolineato che quello preso in esame è solo il materiale esito di setacciatura dal quale quindi esulano gli oggetti di maggior “pregio” quali elementi di vestiario pressoché integri e effetti personali.

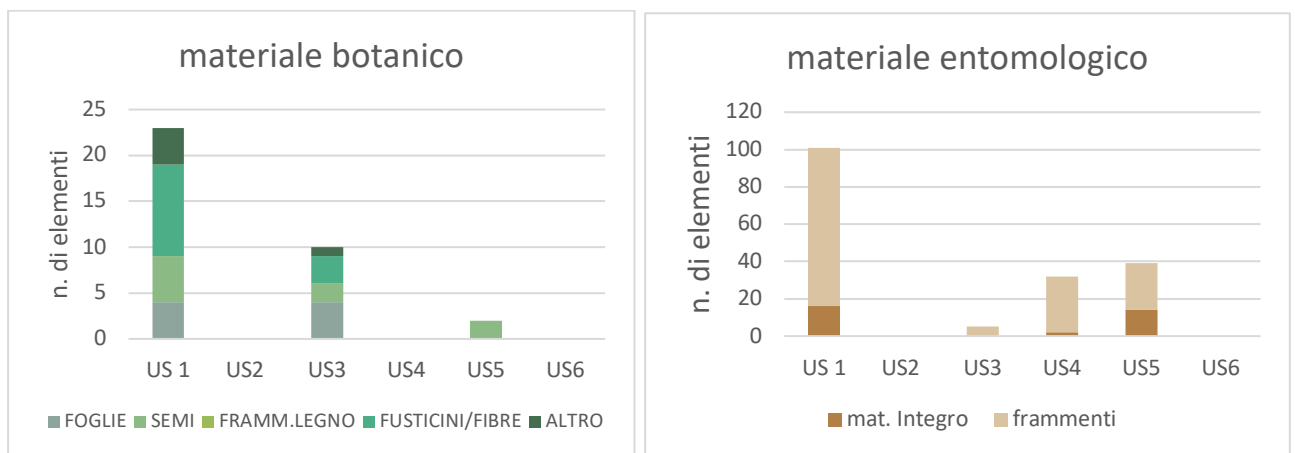


Figura 3.5.13 A sinistra, istogramma riportante il numero di elementi botanici distinti per tipologia, per unità stratigrafica, a destra istogramma riportante il numero di elementi entomologici, distinti in integri e frammentati, per unità stratigrafica

Il materiale vegetale si colloca prevalentemente nella US 1 seguita dalla 3 e dalla 5, le prime due mostrano diverse tipologie di materiale mentre l'ultima presenta al suo interno solo semi (Figura 3.5.13). Molto rappresentata è la categoria di fusti e delle fibre seguita da foglie e semi. Esclusi dal presente conteggio sono i frammenti di legno, elemento abbondantemente presente ma non facente parte del residuo di setacciatura da cui proviene invece il materiale in esame. Il materiale si presentava in discreto stato di conservazione, con presenza anche di alcuni elementi fogliari e semi, pressoché integri concentrati soprattutto in US 1. Ad oggi tali elementi sono stati oggetto esclusivamente di una prima analisi preliminare dalla quale è emerso che uno di questo appartiene alla specie corniolo (*Cornus mas*), pianta ornamentale dalle caratteristiche drupe rosse.

Infine, il materiale entomologico si è dimostrato presente in discreta quantità, soprattutto in US 1 con circa 100 elementi, ma anche, a calare, in US5, 4 e 3 (Figura 3.4.13). In tutti i casi esso si presentava prevalentemente frammentato e composto per la maggior parte da pupari di ditteri.

3.5.2.3 Discussione

Oltre al materiale osseo il sito di Milano Ca' Granda ha dimostrato di conservare anche numerosi elementi quali elementi antropologici come capelli, unghie e tessuti molli ma anche elementi merceologici e naturalistici che potranno arricchire e completare il quadro conoscitivo del sito sia in termini storici che tafonomici. Quello della cripta sottostante la chiesa della Beata Vergine Annunciata è infatti un ambiente estremamente caratteristico, il cui elemento di maggior rilevanza ambientale appare ad oggi l'elevato grado di umidità, fattore che sicuramente ha influito in modo diretto o indiretto sulla persistenza e sullo stato di conservazione del ricco pool di elementi "altri" considerati in queste pagine.

Considerando gli elementi antropologici, la presenza di abbondanti formazioni pilifere ed intere capigliature risulta coerente con la nota persistenza di questo tessuto, in grado di tollerare discreti livelli di acidità che invece possono alterare tessuti come l'osso. Per quanto riguarda il danno biologico infatti, la cheratina, loro principale costituente, è recalcitrante a molti enzimi proteolitici comuni risultando quindi suscettibile solo a microrganismi cheratinolitici (Gupta e Ramnani, 2006) in grado di sfruttarla, quali batteri e attinobatteri (Brandelli et al., 2010; Kornilowicz-Kowalska e Bohacz, 2010; 2011) ma anche funghi. Alla classe dei possibili fattori di alterazione dei capelli vanno aggiunti anche insetti tipici delle fasi tardive della decomposizione cadaverica, che possono attaccare la fibra capillare, è il caso della famiglia Dermestidae e Tineidae le cui larve sono in grado di sfruttare la cheratina che attaccano grazie ad un apparato buccale masticatore e digeriscono grazie ad enzimi cheratinolitici (Cohen, 2015). Proprio questi ultimi due fattori, funghi e insetti sembrano, almeno in parte, responsabili dei danni osservati, mentre alle condizioni chimiche può essere imputato il generale degrado delle fibre in termini di fragilità, morfologia generale e colorazione. La dominante morfologia liscia infatti sembra imputabile a condizioni tafonomiche più che a caratteri propri della fibra, se si considera la scarsa elasticità e flessibilità degli stessi. Il diffuso colore bruno rossastro, infatti, è probabilmente esito dell'alterazione dell'eumelanina, che, meno stabile della feomelanina, si deteriora, determinando in particolari condizioni l'accentuarsi della colorazione rossastra (Wilson et al., 2017).

Anche il rinvenimento delle unghie sembra in accordo con la letteratura, anche queste sono infatti strutture cheratiniche dotate della stessa elevata persistenza dei capelli e della stessa suscettibilità ad organismi cheratinolitici. In questo caso, tuttavia, forse per la minore abbondanza di materiale non sono stati osservati fenomeni di alterazione chiaramente ascrivibili alla componente biologica ma

solo esiti di alterazione fisico chimica che hanno reso tali strutture fragili e suscettibili alla frammentazione ed allo sfaldamento.

Entrambe queste tipologie di reperto, come atteso ed in accordo con la letteratura, sono andati incontro alla separazione dall'epidermide (Forbes et al., 2017), nessun residuo di tessuto molle evidente, così come nessun elemento osseo, è stato identificato in connessione con capelli e unghie. Va tuttavia sottolineato che il luogo di permanenza soggetto a movimenti e inondazioni può aver favorito il distacco e l'allontanamento di tali strutture dalla loro sede originaria impedendo il permanere dell'associazione che è invece relativamente comune in contesti di sepolture singole o indisturbate (Wilson e Tobin, 2010).

Vi sono poi i residui di tessuti molli, questa tipologia di materiale si discosta drasticamente dalla precedente, si tratta in questo caso di elementi soggetti ad un iter classico di decomposizione che ne vede la completa distruzione in tempi relativamente brevi, si pensi ai dati sperimentali riportati da Mann (1990) che indicano un minimo intervallo di due settimane per la completa scheletrizzazione. Se, questo dato rappresenta l'estremo inferiore di un intervallo sicuramente estremamente ampio, tuttavia, una sopravvivenza per oltre tre secoli implica indubbiamente il sopraggiungere di fenomeni conservativi che interrompano quelli trasformativi "classici". Infatti, è proprio al subentrare di questi fenomeni che si attribuisce la presenza di questi elementi nel contesto in esame, fenomeni che possono trovare legittimità nelle particolari e variegate condizioni climatiche del sepolcreto.



Figura 3.5.14 Immagini esemplificative del variare delle condizioni di temperatura e umidità tra il cortile dell'Ospedale, la cripta e il sepolcreto, in particolare la camera O oggetti di indagine

L'elevata umidità (Figura 3.5.14) e le periodiche fasi di inondazione sono probabilmente responsabili del materiale in stato di saponificazione (Takatori, 2001), tale materiale tuttavia è stato rinvenuto prevalentemente in US3, un'unità stratigrafica posta a diretto contatto con la colata di calce dell'US7. La struttura chimica alcalina della calce sembra essere una condizione favorevole per la formazione di adipocera, come dimostrato da Schumann (1995) e Gibelli (2013). Apparentemente, quindi, l'abbondanza di acqua non sono sufficienti al subentrare del fenomeno nel contesto in esame in assenza di un altro elemento favorevole quale la calce.

Anche le fonti storiche sembrano confermare il subentrare della saponificazione, pur senza definirla tale infatti il medico Staurenghi, che all'inizio del '900 condusse un prezioso lavoro di ricerca sulla dell'Annunciata e sui suoi sepolcri, riporta che i corpi una volta sepolti, non andavano incontro (come ci si sarebbe aspettato) ad una veloce scheletrizzazione: le acque della falda acquifera, comunicante attraverso le tinne, e le continue gettate di calce e terra avevano preservato i tessuti molli.

Altri frammenti mostrano invece un aspetto più coerente con quello dato dal subentrare di fenomeni quali mummificazione o corificazione, il tessuto assume aspetto simile al cuoio; pur non essendo state, ad oggi, realizzate indagini istologiche finalizzate a discriminare i due fenomeni; tuttavia,

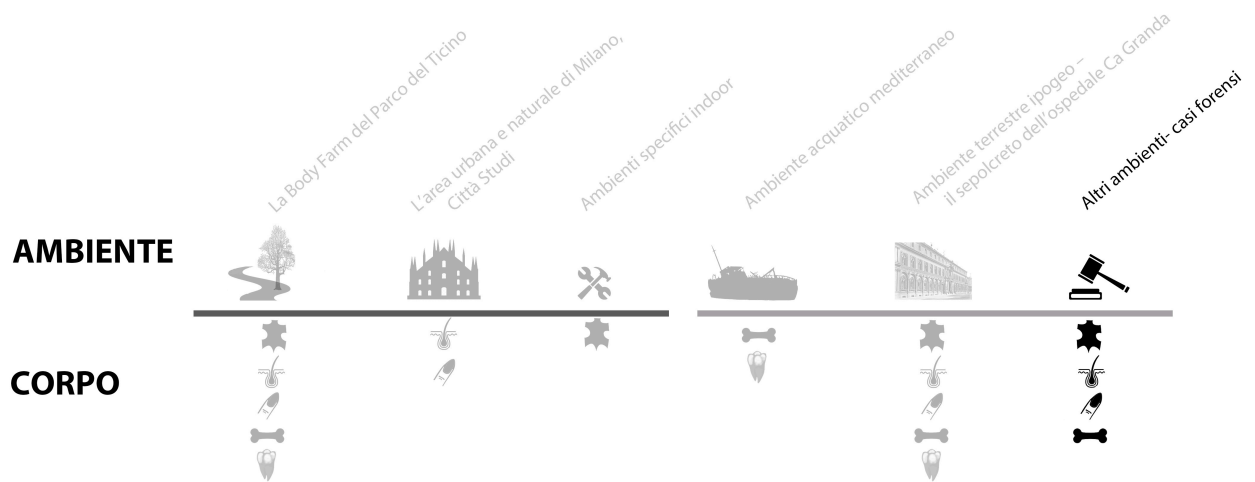
sembra la corificazione quella più coerente con il contesto ambientale di rinvenimento, data la forte umidità che lo caratterizza.

Per quanto riguarda il materiale merceologico, se la presenza di fibre di origine animale non deve stupire trovando della struttura delle stesse, estremamente simile per composizione a quella delle formazioni pilifere umane, la ragione della loro persistenza, più insolita e la persistenza delle fibre vegetali. Le fibre vegetali, infatti, sono solite andare incontro ad un rapido deterioramento in articolare il cotone particolarmente suscettibile alla degradazione a causa del suo alto contenuto in cellulosa, tuttavia condizioni di anaerobiosi, che potrebbero essersi verificate in ambienti così ricchi di acqua e periodicamente inondati potrebbero averne favorito la persistenza. Anche la presenza e il contatto con particolari metalli può inibire l'attività batterica e favorire il preservarsi di questo materiale, è il caso delle leghe di rame e dei metalli ferrosi, noti per coesistere in questo sito con i resti.

Per quanto riguarda gli aspetti tafonomici della componente entomologica, i residui chitinosi costituiti da pupari e porzioni di insetti adulti sono presenti in grande quantità coerentemente con la buona persistenza di questa proteina. Appare evidente altresì la collocazione preferenziale di questo materiale nell'US1, quella più recente e superficiale e quindi meno soggetta a disturbi e azione meccanica data dagli strati sovrastanti, ad ogni modo, anche qui evidenti sono i danni meccanici che il contesto commisto e dinamico ha causato di questi resti.

Infine, il materiale vegetale risulta quantitativamente ridotto, soprattutto per quanto riguarda foglie e semi che si collocano anche in questo caso prevalentemente in US1. Anche per gli elementi vegetali la distribuzione preferenziale può essere giustificata dal minore intervallo post mortale, dal minor stress meccanico al quale questi resti sono sottoposti ma anche potenzialmente dalla contaminazione esterna, tali fattori dovranno essere in futuro valutati per meglio comprendere il significato di tali resti. Per fare ciò sarà in primo luogo necessaria la determinazione di tali materiali, determinazione che non è stata oggetto di questa fase e che necessiterà di indagini specifiche.

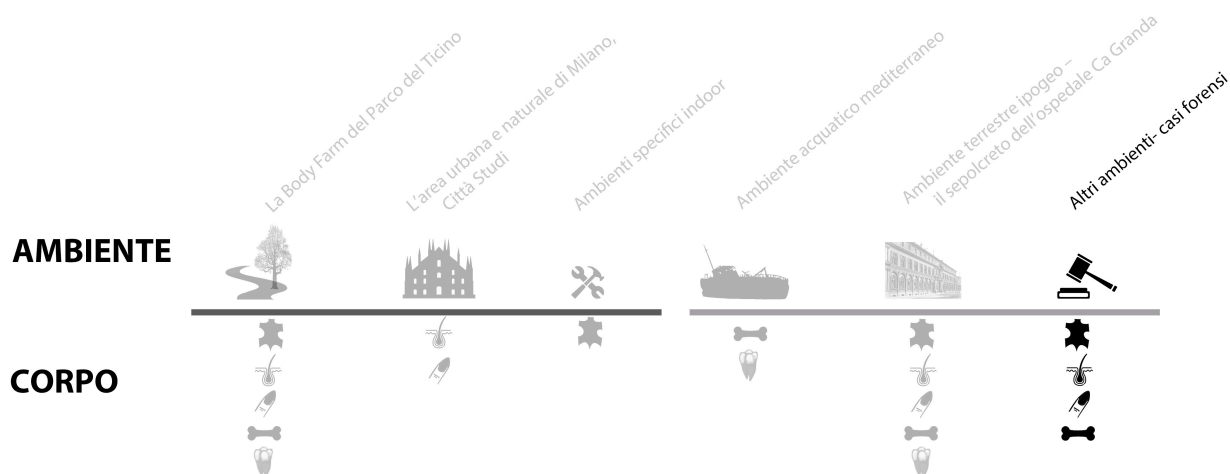
3.6 Ambienti specifici – casi forensi



Questo capitolo vuole mostrare e discutere l'applicazione pratica delle linee di ricerca oggetto delle pagine precedenti, il caso giudiziario è infatti spesso, nel contesto forense, ciò che dà l'opportunità di vedere messe in atto ricerche sperimentali di anni. Tuttavia, è innegabile che esso giochi altrettanto spesso il ruolo di innesco per nuove sperimentazioni, può infatti far sorgere l'esigenza di un ampliamento delle conoscenze in un determinato ambito, si veda tra le altre la famosa vicenda del Colonnello Shy che diede al Professor Bass la spinta per fondare la prima *body farm* al mondo (Bass, 1984). L'ultima sezione di questo lavoro vede quindi la raccolta e rilettura di diciassette casi giudiziari, differenti tra loro per ambiente così come per substrato corporeo ma accomunati dalla rilevanza che in essi ha avuto l'ambiente nel duplice ruolo di produttore di tracce ambientali, nei casi della prima sezione di questo capitolo, e fattore di alterazione tafonomica su tracce e corpo, nella seconda sezione del capitolo. I casi coinvolti coprono un arco temporale di quasi 20 anni, dal 2011 al 2019 durante ai quali sono stati oggetto di studio da parte del laboratorio Labanof e del Dipartimento di Scienze Biomediche per la Salute a cui afferisce, del dipartimento di Bioscienze e del Dipartimento di Scienze della Terra dell'Università degli Studi di Milano.

3.6 Ambienti specifici – casi forensi

3.6.1 Tracce ambientali, ed in particolare botaniche, su cadavere in diverso stato di conservazione



Il presente lavoro si era posto i seguenti obiettivi:

- Dimostrare il potere informativo di tracce ambientali su cadavere, specialmente in contesti difficili quali cadaveri in avanzato stato di decomposizione o scheletrizzati
- Dimostrare il potere probatorio di tracce ambientali particolari, comunemente trascurate, nel ricostruire in particolare dinamiche e luoghi di un evento delittuoso
- Valutare limiti e potenzialità dell'applicazione del test delle diatomee per la diagnosi di annegamento in contesti difficili

Tali ricerche sono confluite in due pubblicazioni attualmente disponibili ai seguenti riferimenti bibliografici:

Caccianiga M, Caccia G, Mazzarelli D, Caccia G, Mazzarelli M, Salsarola S, Poppa P, Gaudio G, Cappella C, Franceschetti L, Tambuzzi S, Maggioni L, Cattaneo C (2020) Common and much less common scenarios in which botany is crucial for forensic pathologist and anthropologists: a series of eight case studies. *Int J Legal Med* 135: 1067–1077. <https://doi.org/10.1007/s00414-020-02456-0>

Caccianiga M, Compostella C, Caccia G, Cattaneo C (2020) Contribution of plant anatomy to forensic investigation: tree bark morphology. *Forensic Sci Int* 318: 110598. <http://dx.doi.org/10.1016/j.forsciint.2020.110598>

3.6.1.1 Materiali e metodi

Dodici casi di rinvenimento di cadavere a seguito di omicidio ma anche di morte accidentale o “naturale” sono stati raccolti in questo progetto. Si trattava di casi forensi giunti al laboratorio Labanof dell’Università di Milano tra il 2011 e il 2018 e studiati in sinergia con il Dipartimento di Bioscienze della medesima università. I casi sotto riportati hanno visto in parte un lavoro anche pratico realizzato in corso di studio ed in parte la raccolta del materiale di archivio a disposizione sempre seguendo il filo rosso dell’ambiente quale generatore di tracce. La raccolta sotto proposta nel complesso ha permesso di mostrare una molteplicità di applicazioni delle tracce botaniche in contesto forense a partire da quelle più tradizionali fino a quelle più innovative.

3.6.1.2 Risultati

Fusti e foglie aiutano ad individuare un sito di occultamento

Nell’ottobre del 2011, in una valle prealpina del nord Italia, alcuni resti ossei vengono rinvenuti per caso lungo le rive di un fiume, all’interno di un cespuglio, durante lavori di manutenzione ordinaria del verde. Fin da subito vennero messi in atto protocolli archeologico-forensi che potessero garantire il più conservativo approccio possibile ai resti e alle loro interconnessioni e con l’ambiente circostante, l’area di interesse è stata suddivisa in quadrati e ogni evidenza è stata repertata tenendo traccia della sua originaria posizione da parte di un antropologo e un medico legale. Numerose evidenze vegetali sono state trovate a vario titolo associate ai resti (Figura 3.6.1 a, b). Durante il sopralluogo, la vegetazione spontanea dell’area è stata attentamente analizzata e campionata in vista del futuro confronto con il materiale rinvenuto associato al corpo.

I resti, che alla fine sono stati identificati come quelli di una donna scomparsa 3 mesi prima, non presentavano traumi *peri-mortem* che potessero essere chiaramente diagnostici per quanto riguarda la causa e le modalità di morte. Nel mentre, prove circostanziali individuano il marito della donna è come sospetto del delitto. I resti vegetali recuperati in associazione con la vittima sono stati sottoposti ad analisi in laboratorio macroscopicamente e con l’uso di un microscopio episcopico (Leica zoom 2000), e la morfologia delle foglie e degli steli è stata confrontata con il materiale di riferimento e le chiavi dicotomiche. Questa strategia di analisi ha permesso di identificare foglie e rami potati, rinvenuti al di sopra dei resti, come *Prunus laurocerasus*, una specie arbustiva non presente tra la vegetazione spontanea campionata nell’area di ritrovamento (Figura 3.6.1 b, c). Tuttavia, un accumulo di rami tagliati e foglie è stato identificato a circa 100 metri dal luogo del ritrovamento dei resti e, benché non si trattasse della stessa specie di quelli trovati sopra la vittima, tale scoperta ha portato gli specialisti a identificare l’area come una discarica clandestina, utilizzata per lo smaltimento di residui di potatura. Gli esperti hanno concluso che il reo aveva probabilmente tentato di occultare il cadavere della donna in un cespuglio che cresceva nella zona e lo aveva ulteriormente nascosto coprendolo con fusti potati di piante di *Prunus laurocerasus*, recuperati dal vicino sito di smaltimento. Grazie anche al supporto delle prove botaniche sopra esposte, l’indagato è stato condannato dalla Corte d’Appello e successivamente dalla Corte di Cassazione per l’omicidio della moglie con l’aggravante dell’occultamento di cadavere.



Figura 3.6.1 Resti umani parzialmente coperti da componenti vegetali (a), le foglie e i rami di *Prunus laurocerasus* raccolti durante l'ispezione in loco (b) primo piano delle estremità recise di due rami (c)

Frammenti di legno suggeriscono l'arma del delitto

Nel giugno 2010, in un'area boschiva impervia del Canton Ticino (Svizzera), sono stati trovati dei resti scheletrici umani. In seguito ad analisi antropologiche e genetiche, questi sono stati attribuiti ad una ragazza, scomparsa l'anno precedente, poche ore dopo aver avuto appuntamento con un ragazzo. Per meglio comprendere la dinamica dell'accaduto e per ottenere informazioni sull'eventuale trasferimento del cadavere da un sito primario al luogo di rinvenimento, sono state eseguite indagini botaniche. La scena è stata ispezionata da un botanico forense che ha campionato e identificato le specie predominanti e la lettiera del luogo di ritrovamento. Gli esemplari direttamente associati ai resti umani sono stati analizzati attraverso l'uso di un microscopio episcopico (Leica zoom 2000) e, dove necessario, di un microscopio ottico (Leitz). Tutto il materiale recuperato è stato poi fotografato e identificato grazie all'uso di collezioni di confronto e chiavi dicotomiche. Tutti gli esemplari esaminati erano coerenti con la vegetazione che costituiva il luogo del rinvenimento. Inoltre, l'analisi di dettaglio delle ossa della vittima ha rivelato tracce botaniche coerenti con le specie della lettiera più prossime a ciascuna area anatomica, indicando così un movimento limitato dei resti durante la decomposizione.

Di particolare importanza sono risultati alcuni frammenti di legno trovati all'interno di una rima di frattura cranica in regione frontale (Figura 3.6.2 a); tuttavia, tali frammenti erano di dimensioni troppo ridotte per portare avanti una classica analisi microscopica del legno, come tipicamente si fa disponendo di sezioni trasversali, radiali e tangenziali, è stata quindi realizzata un'analisi comparativa in microscopia episcopica e ottica che è stata tuttavia in grado di fornire la compatibilità diagnostica di tali schegge con la specie *Castanea sativa* (castagno) (Figura 3.6.2 b).

L'analisi antropologica dei frammenti cranici recuperati ha permesso di determinare che la frattura era il risultato di una lesione traumatica causata da un oggetto contundente con una ridotta superficie d'impatto. La presenza di schegge di legno all'interno della frattura cranica e la determinazione, da un punto di vista antropologico, del tipo di lesione, concorrevano nel complesso a suggerire l'uso di un oggetto di legno, come un bastone, come arma del delitto.

Pur non potendo escludere che le schegge nella frattura al cranio provenissero dalla lettiera, la successiva analisi comparativa con una vicina catasta di legna di castagno, probabilmente tagliata dagli alberi circostanti, ha fornito piena compatibilità con la sospetta arma del delitto.

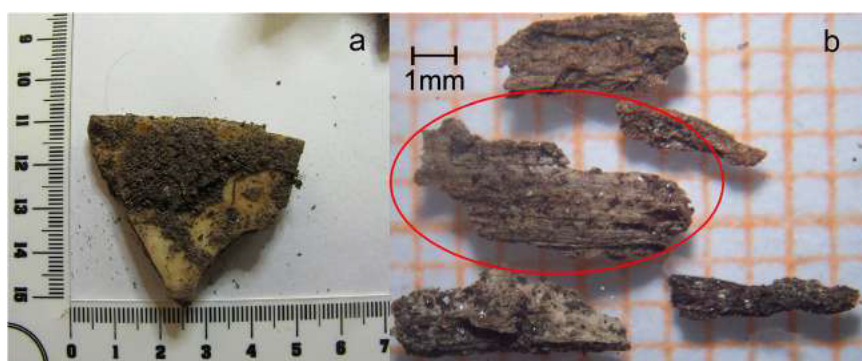


Figura 3.6.2 Frammento osseo della regione frontale del cranio della vittima (a) schegge di legno associate alla frattura del cranio; il frammento cerchiato in rosso è stato analizzato al microscopio e identificato come *Castanea sativa* (b)

L'analisi dendrocronologica fornisce un minimo PMI

Nel luglio del 2011, durante alcuni lavori di manutenzione della strada, in un'area incolta adiacente vengono scoperti dei resti scheletrici umani. Durante l'ispezione della scena del crimine appare subito evidente la complessa interazione tra elementi vegetali, in particolare sistemi radicali, e resti umani. Consci della potenziale utilità del dato si decise di avvalersi fin da subito della competenza di un botanico forense sulla scena. In primo luogo, lo specialista realizza un campionamento della vegetazione del sito in vista della successiva analisi comparativa con i campioni vegetali associati ai resti.

Il cranio della vittima presentava un evidente radice penetrante il meato acustico destro (Figura 3.6.3 a). Inoltre, la scarpa sinistra, che conteneva ancora le ossa del piede, era profondamente interessata da un fitto sistema di radici sottili appartenenti ad un esemplare di rovo, *Rubus* sp. Allo stesso modo, la scarpa destra, anch'essa contenente ossa della vittima, presentava una radice di *Phytolacca americana* che si era sviluppata attraverso gli occhielli della scarpa e circondava strettamente l'intero elemento (Figura 3.6.3 b).

Questi elementi costituivano indizi preziosi per la stima dell'intervallo post deposizionale, l'analisi dendrocronologica infatti poteva fornire un dato *ante quem* all'arrivo del corpo nel luogo del rinvenimento. Vennero quindi analizzate quelle radici che più risultavano associate ai resti: le radici nel meato acustico e quelle associate ad una vertebra hanno fornito un'età di un anno, le radici nella scarpa sinistra invece hanno dato un intervallo di 3 anni, infine quelle nella scarpa destra fornirono un'età di 6 anni (Figura 3.6.3 c). Pertanto, è stato possibile determinare un *terminus post quem non* relativamente preciso, fissando il momento in cui la vittima è giunta nel luogo del rinvenimento ad una data sicuramente anteriore al 2006.

Un termine massimo meno certo ma probabile è stato anch'esso fornito dall'analisi botanica che ha permesso agli specialisti di restringere l'intervallo temporale della morte della vittima a pochi anni. Una fitta siepe composta da *Ligustrum* sp. misto a specie di piante invasive come *Sambucus nigra* era adiacente al luogo di rinvenimento. La presenza combinata della siepe, a cui è stata attribuita un'età massima di 20 anni e il *Sambucus nigra* estremamente invasivo, risalente al 1999, suggerisce che la siepe non era stata soggetta ad alcuna manutenzione almeno negli ultimi 10 anni. Incrociando i dati dendrocronologici con il fatto che qualsiasi potatura o lavoro di manutenzione sulla siepe avrebbe portato al ritrovamento dei resti, è stato stabilito che il corpo doveva essere giunto in quel luogo tra la fine degli anni '90 (termine indicativo), quando il *Sambucus nigra* ha iniziato a crescere e il 2006 (termine certo), quando gli apparati radicali hanno iniziato a svilupparsi.

La stima che i due esami botanici hanno fornito è stata pienamente confermata, dopo l'identificazione antropologica della vittima, identificata come un uomo scomparso nel 2003. Inoltre, grazie all'analisi botanica basata sul rapporto tra i resti scheletrici della vittima e gli elementi vegetali circostanti, è stato anche possibile dimostrare che non vi era stato tentativo di occultamento del cadavere ma che esso era andato incontro ad un naturale, lento seppellimento. La mancanza, inoltre, di qualsiasi prova botanica che indicasse altri luoghi ha portato a corroborare il fatto che non vi era stato trasferimento della vittima da una precedente localizzazione, ma che quella di rinvenimento coincideva con la localizzazione primaria del cadavere.



Figura 3.6.3 Lato destro del cranio mostrante una radice che penetra il meato acustico (a), scarpa destra contenente resti scheletrici e circondata da una radice di *Phytolacca americana* (b), dettaglio della radice campionata (c)

Analisi dei muschi fornisce un minimo PMI

Nell'aprile del 2013, viene rinvenuto un cranio sulle rive di un fiume di una valle alpina nel nord Italia. L'indagine viene da subito gestita da un team interdisciplinare di specialisti che comprendeva sia antropologi forensi che archeologi, i quali, facendo uso delle tecniche proprie dell'archeologia, hanno ispezionato e repertato il luogo di ritrovamento. Durante le operazioni di pulizia della superficie, viene individuata una depressione naturale contenente numerosi elementi ossei del post cranio. A causa della complessa interazione tra i resti umani, il suolo e la vegetazione, si optò per il trasferimento dell'intera scena in laboratorio, così che fosse possibile procedere ad un attento scavo micro stratigrafico che consentisse l'individuazione dei rapporti tra ciascun elemento e l'ambiente circostante. Al botanico forense che ha preso parte all'analisi del materiale recuperato è stato chiesto di fare luce su tre questioni distinte: se il sito di rinvenimento coincidesse con la scena primaria, se si potesse quindi escludere lo spostamento del cadavere, quale fosse l'intervallo post mortale o più propriamente post deposizionale della vittima ed infine se fosse possibile individuare prova dell'occultamento del corpo.

L'esame antropologico dei resti scheletrici non ha individuato alcun trauma *peri-mortem* che avvalorasse l'ipotesi di una morte violenta.

L'analisi odontologica, tuttavia, ha fornito prove conclusive sull'identità del soggetto portando all'identificazione di un individuo di sesso maschile scomparso nella stessa zona del rinvenimento 16 anni prima. Tutti gli elementi botanici recuperati sono stati identificati con successo. L'esame ha rivelato che tutti gli elementi erano coerenti con l'ambiente di rinvenimento; concludendo quindi, che nessun'evidenza botanica supportava l'ipotesi del trasferimento del corpo.

La seconda parte dell'esame botanico, orientata alla determinazione del minimo PMI, è stata realizzata attraverso l'analisi delle radici e del muschio. Gli esemplari di muschio, che colonizzavano ampiamente il cranio e i vestiti della vittima, sono stati identificati come *Hygrohypnum luridum*

(Figura 3.6.4 a). Il campione di muschio presentava tre ordini di ramificazioni, considerando un anno di crescita per ogni ordine e un altro anno di crescita per i rami decomposti ancora visibili, è stato possibile attribuire al campione un'età di 4 anni (Figura 3.6.4 b). Questi dati concordano con l'analisi dendrocronologica eseguita su radici di arbusti intrinsecamente associate ai resti scheletrici ed il cui insediamento era stato datato tra il 2002 e il 2011. Considerando il tempo necessario alla colonizzazione dei resti, questo intervallo potrebbe essere marginalmente esteso. Sulla base dell'intervallo *post quem non*, è stato possibile collocare l'arrivo del corpo nel luogo del rinvenimento e la probabile morte della vittima tra la fine degli anni '90 e l'inizio degli anni 2000.

Considerata la morfologia della zona, la sua idrologia e il fatto che il sottile strato di terreno depositato sopra i resti (massimo 10 cm) presentava, diffusi su tutta la superficie, fusti vivi sull'intero spessore, la presenza di una densa vegetazione, depositi colluviali e alluvionali, si è concluso che tutto era coerente con un accumulo progressivo di suolo ed elementi botanici durante l'intervallo post deposizionale. La presenza di frammenti minerali arrotondati e la presenza di frequenti diatomee d'acqua dolce sui vestiti del soggetto (Figura 3.6.4 c) ma non sui campioni di osso, evidenziate dall'analisi in microscopia elettronica (SEM), hanno ulteriormente confermato l'ipotesi che il sito di ritrovamento fosse periodicamente interessato dalle inondazioni di un fiume che scorreva a pochi metri sotto il luogo di rinvenimento.

Questo è stato ulteriormente corroborato dai dati storici relativi al livello del fiume, disponibili grazie alle stazioni ARPA.

La crescita del ricoprimento ha potuto essere registrata anche attraverso l'altezza del colletto degli arbusti cresciuti sopra i resti, i quali hanno confermato una crescita lenta e graduale. Stante le evidenze riportate è stato possibile concludere che il corpo non aveva subito tentativi di occultamento e sepoltura ma solo il naturale accumulo del suolo.

L'analisi botanica insieme a considerazioni antropologiche e medicolegali hanno concluso che i resti umani appartenevano a un soggetto maschile morto per cause sconosciute tra la fine degli anni '90 e i primi anni 2000 il cui corpo, dopo la morte, era probabilmente rimasto indisturbato nel luogo di rinvenimento.



Figura 3.6.4 Porzione inferiormente sinistra del cranio colonizzata dal muschio (a), dettaglio di un campione del muschio che ha colonizzato la porzione sinistra del cranio (b), e immagine SEM del maglione della vittima in cui sono visibili due diatomee (c)

Macro resti vegetali e vegetazione sulla scena aiutano a comprendere dinamica e PMI

Alla fine di febbraio 2011, il cadavere parzialmente scheletrizzato di una ragazza scomparsa nel novembre dell'anno precedente viene rinvenuto in un campo in una zona industriale scarsamente popolata dell'Italia settentrionale. Nei mesi precedenti il ritrovamento, le autorità avevano condotto

una vasta e prolungata campagna di ricerca su ampia scala, inclusa quella che poi sarebbe diventata l'area del rinvenimento. Cosicché quando la vittima, che presentava evidenti segni di lesioni, è stata rinvenuta le autorità hanno subito ipotizzato che quello del rinvenimento potesse essere solo una scena secondaria e che l'aggressione fosse avvenuta altrove.

Durante il primo sopralluogo, sia il medico legale che l'archeologo forense notarono una profonda interconnessione tra i resti umani e la vegetazione circostante. Cosicché, nei giorni successivi al recupero della vittima, venne coinvolto un botanico forense che effettuò un secondo sopralluogo al fine di attuare una strategia di campionamento per determinare le specie vegetali che occupavano l'area circostante la vittima, quella adiacente e l'area sottostante ad essa.

La determinazione delle specie ha dimostrato che il campo, luogo del rinvenimento, era dominato da *Buddleja davidii*, *Rubus* sp. e numerose piante erbacee di grandi dimensioni come *Epilobium hirsutum*, *Solidago gigantea* e graminacee come *Sorghum halepense* e *Panicum dichotomiflorum*.

Per quanto riguarda invece la vittima, il materiale vegetale stretto nel pugno destro è stato identificato come *Sorghum halepense* (specie prevalente), *Epilobium hirsutum* e *Rubus* sp.

Inoltre, è stato notato che sotto l'area precedentemente occupata dal corpo le piantine di *Epilobium hirsutum* erano assenti, in contrasto con quanto accadeva invece nelle aree adiacenti in cui crescevano estensivamente (Figura 3.6.5 a). Infine, una foglia di *Solidago gigantea* venne rinvenuta sotto il cranio della vittima.

L'assenza di prove botaniche che indicassero ambienti diversi da quello del rinvenimento, insieme alla mancanza di qualsiasi altra prova ambientale in questo senso supporta la teoria che il campo in cui la vittima è stata trovata era effettivamente la scena del crimine primaria, e che la vittima non aveva subito alcun trasferimento *post mortem* (Figura 3.6.5 b).

La stima dell'intervallo post-deposizionale è stata fatta invece sulla base delle piantine di *Epilobium hirsutum*, del tutto assenti nell'area occupata dal corpo della vittima ad indicare che il cadavere era arrivato in quel luogo ed era rimasto in quella posizione prima che le piantine germogliassero. Poiché le temperature adatte alla germinazione di queste piantine sono state raggiunte in quell'area solo all'inizio di febbraio, l'intervallo minimo di deposizione potrebbe essere stimato in 25-30 giorni prima della scoperta della vittima.

Per quanto riguarda l'intervallo deposizionale massimo e in questo caso, l'intervallo *post mortem* certo, la stima è stata ottenuta attraverso l'analisi della foglia di *Solidago gigantea* recuperata da sotto il cranio della ragazza. Essendo particolarmente ben conservata e liscia, a differenza di quelle esposte agli agenti atmosferici che apparivano accartocciate e danneggiate, si è ipotizzato che la protezione offerta dal cadavere direttamente sopra di essa abbia consentito alla foglia di rimanere distesa e ben idratata. Poiché *Solidago gigantea* è una specie a fioritura tardo estivo-autunnale, le cui foglie e steli si seccano gradualmente tra settembre e novembre, si è concluso che il cadavere era arrivato a coprire la foglia dal tardo autunno. La determinazione della catena di eventi e il dato cronologico erano perfettamente coerenti, non solo con la data della scomparsa della vittima, ma anche con l'ipotesi che il campo fosse da considerarsi la scena primaria del delitto.

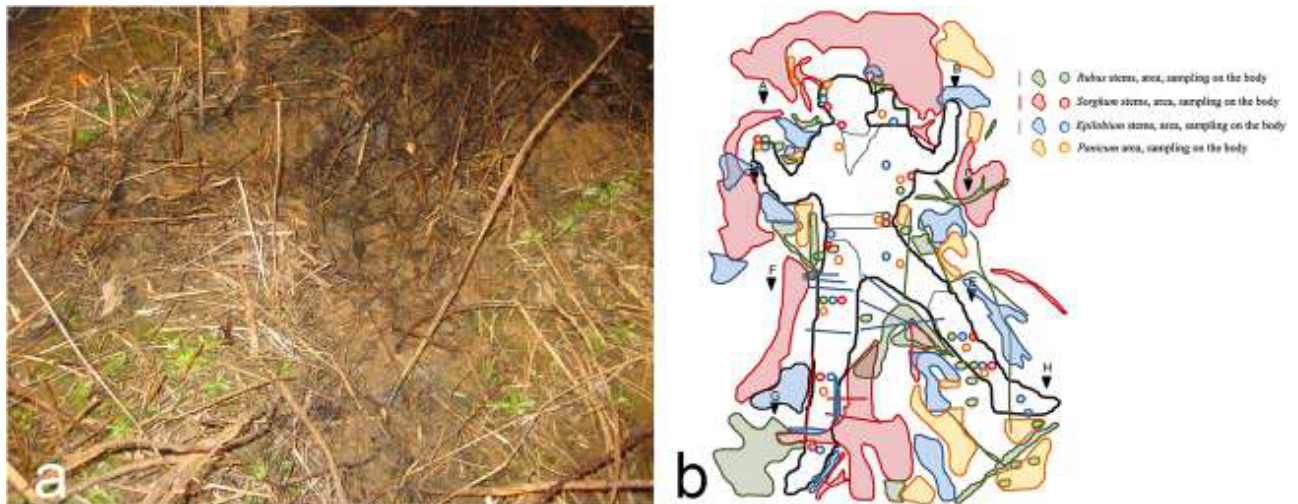


Figura 3.6.5 Immagine della superficie sotto il corpo della vittima: in contrasto con le aree adiacenti, le piantine di *Epilobium hirsutum* erano assenti (a). A destra, diagramma che illustra l'analisi dettagliata della distribuzione degli elementi botanici associati alla vittima e all'area circostante (b)

Analisi dei macroresti (foglie, frutti e fusti) e degli ambienti individua il luogo del depezzamento

Nel settembre del 2017 viene rinvenuto il cadavere parzialmente scheletrizzato di una donna, scomparsa circa 1 mese prima. La vittima era stata decapitata e successivamente sepolta in una fossa poco profonda all'interno di un orto privato. Dopo la scoperta il proprietario diventa immediatamente il principale sospettato per il delitto, viene condotta una perquisizione nella sua abitazione dove vengono recuperati abiti maschili sporchi di sangue. Le analisi genetiche dimostrano che il sangue effettivamente è quello della donna scomparsa.

Mentre il post cranio della vittima viene recuperato nel frutteto facendo uso dell'approccio archeologico-forense, la testa risulta ancora mancante. Il cranio della vittima, infatti, verrà trovato alcuni giorni dopo, chiuso in un sacco di plastica nera, in un'area boschiva non lontano dall'abitazione del sospettato (Figura 3.6.6 a).

L'analisi botanico-forense, in questo caso, aveva l'obiettivo di identificare il luogo di depezzamento della vittima. Per fare ciò viene fatto, da parte del botanico forense, un sopralluogo nelle tre aree coinvolte: l'abitazione del sospettato (ambiente n. 1), il luogo di rinvenimento del cranio (ambiente n. 2) e il frutteto dove era stato rinvenuto il corpo (Figura 3.6.6 b, c, d).

Sulla superficie esterna del sacco che conteneva il cranio, vengono identificati elementi botanici riconducibili a due specie: *Phytolacca americana* e *Rubus* sp, l'interno del sacco conteneva invece una serie di altri elementi, alcuni dei quali sono stati attribuiti a *Robinia pseudoacacia*, *Poaceae bambusoideae* (bambù) e *Malus domestica*. Per prima cosa, è stata quindi valutata la compatibilità tra gli elementi associati al sacco e l'ambiente di rinvenimento dello stesso (ambiente n.2 Figura 3.6.6 c) tuttavia non tutte le specie risultavano compatibili con l'ambiente di provenienza, infatti, *Poaceae bambusoideae* e *Malus domestica* non erano presenti nell'ambiente n. 2. Si è quindi andato a valutare la compatibilità tra le specie associate al sacco e gli altri due ambienti coinvolti nell'evento delittuoso, come possibili fonti di quegli elementi vegetali non presenti nell'ambiente di rinvenimento. Il giardino del sospetto (ambiente n. 1 Figura 3.6.6 b) presentava solo due specie, per di più non esclusive, in comune con il contenuto botanico del sacco, *Rubus* sp. e *Poaceae bambusoideae*, mentre il frutteto (ambiente n. 3 Figura 3.6.6 d) presentava quattro specie in comune, tra cui le tre trovate

all'interno del sacchetto di plastica: *Rubus* sp., *Poaceae bambusoideae*, *Robinia pseudoacacia* e *Malus domestica*, di cui quest'ultima esclusiva di questo luogo.

Sulla base delle evidenze botaniche, il frutteto è risultato essere l'ambiente che meglio rappresentava tutti gli elementi botanici associati al cranio della vittima. Il frutteto è stato quindi identificato come probabile luogo del depezzamento, fatto poi confermato dalle dichiarazioni fornite dallo stesso sospettato.

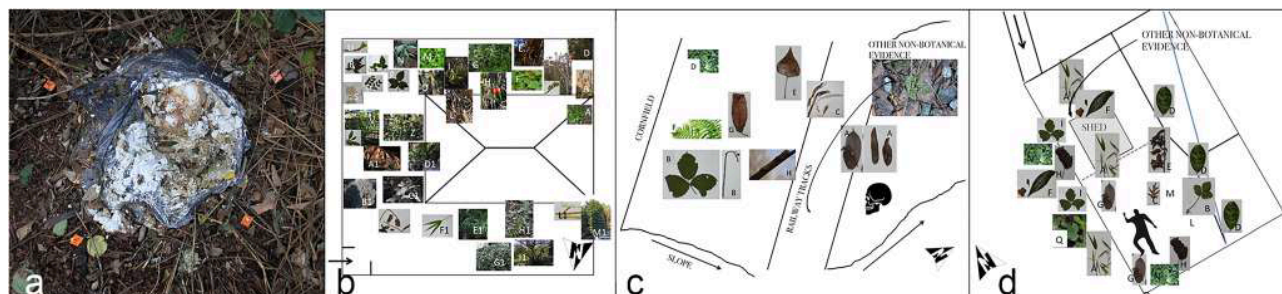


Figura 3.6.6 Immagine del cranio della vittima trovato in un sacco di plastica nero (a), a destra diagramma che illustra i tre possibili luoghi di depezzamento: ambiente n. 1 (b), n. 2 (c) e n. 3 (d)

Analisi comparativa di legno e carbone individua il luogo dell'occultamento

Nel novembre 2012, viene rinvenuto un sacco di plastica contenente resti ossei umani all'interno di uno dei serbatoi di una centrale idroelettrica in provincia di Gorizia, nel nord Italia. I resti appartengono ad un individuo di sesso maschile identificato poi tramite analisi genetica, si tratta di una persona scomparsa circa 20 mesi prima, in coincidenza con lo sfratto da parte del padrone di casa. Il sacco di plastica conteneva diversi frammenti di ossa carbonizzate e alcuni elementi botanici, inclusi frammenti di legno anch'esso carbonizzato, e legno parzialmente bruciato, riferibile a pino mediterraneo (*Pinus halepensis*, *P. pinaster*, *P. pinea*) o abete rosso (*Picea*), e altri piccoli frammenti carbonizzati attribuibili a due distinte specie di latifoglie (*Phyladelphus* sp., *Staphylea* sp.) (Figura 3.6.7 a).

Stante quanto rinvenuto nel sacco e il fatto che pochi giorni dopo la scomparsa della vittima, una colonna di fumo è stata vista salire dal cortile della sua vecchia abitazione, si decise di procedere con un sopralluogo dell'abitazione in presenza delle forze dell'ordine e di un botanico forense che eseguì il campionamento e l'identificazione delle specie presenti. Sul luogo vennero rinvenuti anche frammenti di legno combusto.

Contestualmente l'esame della terra contenuta nel sacco di plastica, eseguito tramite setacciatura, ha permesso di recuperare frammenti centimetrici di ossa umane carbonizzate insieme a frammenti di legno carbonizzato e non.

I frammenti di osso erano troppo compromessi dal calore per sperare in un'identificazione genetica. Tuttavia, si optò per un'analisi botanica comparativa tra gli esemplari vegetali carbonizzati trovati all'interno del sacco, le specie di piante che crescevano nel cortile e gli esemplari carbonizzati in esso rinvenuti. Questa analisi ha preso in considerazione le caratteristiche macroscopiche dei frammenti di conifera associati ai frammenti di ossa, le loro ampiezze anulari così come il loro grado di carbonizzazione, e gli elementi diagnostici microscopici quali raggi midollari e canali resiniferi, tutti elementi che apparivano perfettamente coerenti nei due campioni (Figura 3.6.7 b, c). Allo stesso modo, gli esemplari carbonizzati di latifoglie che sono stati raccolti dal sacco di plastica presentavano anch'essi caratteristiche molto simili a quelle raccolti durante il sopralluogo. L'analisi botanica, quindi, ha rivelato una piena coerenza tra le evidenze carbonizzate associate ai resti umani e le specie

di piante che crescevano nel cortile del sospetto, collegando la vittima al sito in cui il suo cadavere è stato molto probabilmente bruciato.

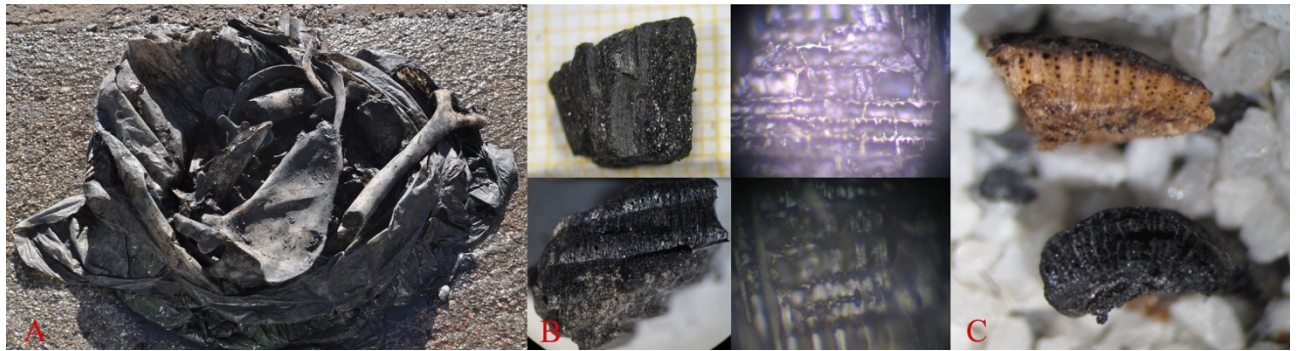


Figura 3.6.7 Sacco di plastica contenente sia diversi frammenti scheletrici umani che elementi botanici (a), il confronto tra le caratteristiche macroscopiche (a sinistra) e microscopiche a 400X (a destra) di un frammento carbonizzato trovato nel sacco di plastica (sopra) un frammento simile trovato durante l'ispezione in loco (sotto) (b), il confronto tra un frammento di ramo di latifolia che era stato esposto ad alte temperature e recuperato dal sacco di plastica e un frammento recuperato durante l'ispezione in loco (c)

Cuticole vegetali e macroresti forniscono il minimo PMI

Nel novembre del 2017, una valigia semichiusa contenente resti umani parzialmente scheletrizzati venne rinvenuta in un'area boschiva del nord Italia. Durante il sopralluogo il medico legale sulla scena procedette alla repertazione della vegetazione presente tramite immagini fotografiche e prelievo di campioni, poi l'intera valigia venne prelevata e portata in laboratorio.

Durante il successivo esame autoptico, alcuni campioni dalla morfologia laminare, simili a cuticole vegetali e dalla consistenza coriacea, vennero rinvenuti all'interno della valigia e più precisamente incorporati in una sostanza organica che è stata poi identificata come un tratto di colon della vittima (Figura 3.6.8 a). Data la localizzazione e la morfologia degli elementi si è ipotizzato che potesse trattarsi di residui alimentari.

L'analisi macroscopica di tale materiale lo identifica come appartenenti all'esocarpo di un frutto. La successiva analisi microscopica, basata sull'osservazione delle caratteristiche delle cellule vegetali, permise poi di circoscrivere le possibili specie di origine a pomodoro, *Solanum lycopersicum* (Figura 3.6.8 b) e caco (*Diospyros kaki*) (Figura 3.6.8 c). Mentre il primo, per la sua facile reperibilità in ogni periodo dell'anno, non poteva fornire particolari indicazioni per quanto riguarda il PMI, il secondo avrebbe potuto fornire informazioni preziose in questo senso. Data l'estrema somiglianza morfologica tra le due specie si decise di ricorrere all'identificazione per mezzo dell'analisi biomolecolare che tuttavia si rivelò inconcludente, si procedette quindi a un'analisi morfologica microscopica avvalendosi però della collaborazione di più botanici i quali conclusero che i resti del frutto erano attribuibili a *Solanum lycopersicum*. Nonostante le difficoltà incontrate durante l'identificazione di questi elementi e l'esito finale, il potenziale contributo che questo tipo di evidenza può fornire rimane indiscutibile, soprattutto se si considera l'estrema persistenza di questo tipo di elemento vegetale, che, unita alla protezione esercitata su di essi dal corpo, ne permette la conservazione anche in contesti estremamente sfavorevoli quale quello in esame, ma ancor più il caso di analoghe cuticole vegetali rinvenute ancora discretamente conservate su cadavere carbonizzato. In quest'ultimo caso tale elemento è stato in grado di fornire un dato temporale nonché di avvalorare una determinata ricostruzione dei fatti.

Per quanto riguarda l'analisi delle altre prove botaniche rinvenute associate ai resti e il confronto con i campioni raccolti nell'area durante il sopralluogo ne è emersa una generale coerenza. Questo ha portato alla conclusione che non vi erano evidenze a supporto di una precedente localizzazione dei resti. Per quanto riguarda l'intervallo post deposizionale, considerando il modello di crescita dei rovi e la loro assenza al di sotto della valigia, si è ipotizzato questa fosse stata abbandonata nel luogo del rinvenimento prima dell'inizio della stagione vegetativa, probabilmente durante la seconda metà del 2016.

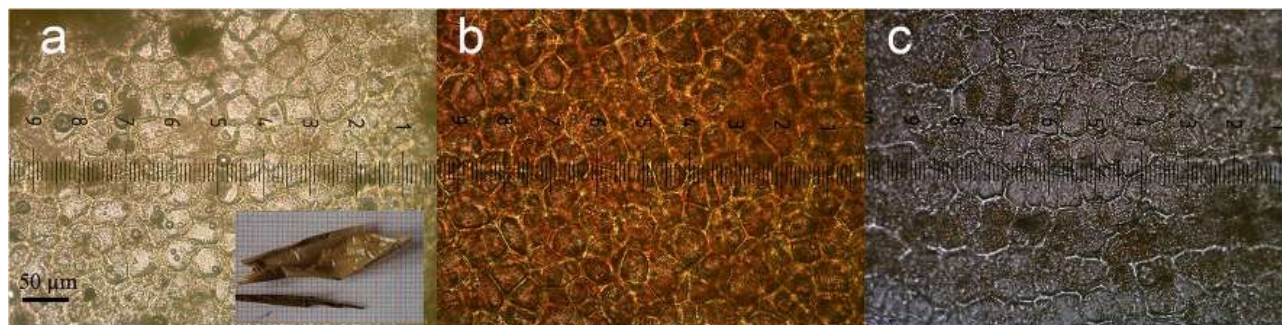


Figura 3.6.8 Confronto tra le caratteristiche cellulari appartenenti al frammento di cuticola trovato nel colon della vittima (a), quelle di un pomodoro (b) e di cacao (c)

Corteccia, strumento per comprendere la dinamica di un omicidio

Nell'agosto 2010 il corpo di un uomo di 20 anni viene trovato in un bosco, nel Nord Italia, con diverse ferite d'arma da fuoco alla testa e al torace. La vittima era il figlio di un noto capoclan mafioso, rapito la sera precedente da due uomini travestiti da poliziotti i quali gli avrebbero chiesto di entrare in auto. Il corpo viene trovato la mattina seguente vicino ad un albero, oltre alle ferite da arma da fuoco esso presenta abrasioni multiple al viso, ai polsi e agli avambracci. Più tardi un testimone dirà alle autorità che la vittima era stata ammanettata ad un albero, uccisa con diversi colpi di arma da fuoco ed infine abbandonata vicino all'albero. Il procuratore incaricato decide di verificare tale ricostruzione ed in particolare se effettivamente l'uomo sia stato ammanettato all'albero, dal momento che le manette non erano state rinvenute sul cadavere.

Tale dettaglio risultava allo stato dei fatti particolarmente importante per verificare l'affidabilità del testimone che sosteneva di essere stato presente e che in seguito decise di collaborare con la polizia. I polsi della vittima presentavano effettivamente alcune abrasioni lineari e lividi, riscontri che potrebbero essere coerenti con l'ammanettamento. Tuttavia, ciò che risultò maggiormente rilevante, furono una serie di piccole schegge vegetali in corrispondenza di alcune abrasioni sulla superficie ventrale degli avambracci (Figura 3.6.9).



Figura 3.6.9 A sinistra: frammento di corteccia raccolto all'autopsia sulla superficie interna dell'avambraccio sinistro della vittima. A destra: vista in microscopia episcopica del frammento di corteccia.

Tali elementi vengono rimossi e sottoposti ad analisi botanica per verificare se fossero compatibili con residui di corteccia dell'albero adiacente al corpo, allo scopo di verificare se tali schegge potessero essere esito dello sfregamento degli avambracci della vittima ammanettata strettamente all'albero. Per verificare la corrispondenza fu necessario costituire una piccola collezione di confronto di frammenti di corteccia mancando della valida letteratura in merito.

Vennero selezionate 16 specie arboree comuni nel Nord Italia, rappresentative delle principali forme macroscopiche della corteccia (*Acer campestre* L., *Alnus glutinosa* (L.) Gaertn., *Alnus incana* (L.) Moench., *Betula pendula* Roth, *Castanea sativa* Mill., *Quercus robur* L., *Fagus sylvatica* L., *Fraxinus excelsior* L., *Pinus sylvestris* L., *Populus nigra* L., *Sambucus nigra* L. native di foreste di pianura/montane e frequentemente piantate come specie ornamentali. *Prunus serotina* Ehrh, *Robinia pseudoacacia* L., specie invasive molto frequenti nelle foreste di pianura e, quest'ultima, anche specie dominante da esperienza pregressa in contesti di rinvenimento di cadaveri, infine *Ginkgo biloba* L., *Juglans nigra* L., *Juglans regia* L. spesso coltivate come specie ornamentali o alberi da frutto in parchi e giardini). I campioni sono stati ottenuti, da esemplari viventi, mediante un piccolo carotaggio con il quale è stato raccolto un cilindro di circa 4 mm di larghezza, campione esiguo ed insufficiente ad avere un'immagine completa della struttura ma coerente con quello che potrebbe essere l'entità del materiale distaccato dalla corteccia di un albero a seguito di un contatto occasionale o di un impatto con il fusto. In aggiunta sono state studiate sezioni complete di corteccia di ciascuna pianta così da implementare le informazioni con una panoramica a tutto tondo della struttura. I campioni sono stati osservati per mezzo di microscopio episcopico ricercando le principali caratteristiche della porzione più periferica del tronco (dal floema secondario alla superficie esterna). È stata così realizzata una chiave grafica e una vera e propria chiave dicotomica (per le chiavi dicotomiche si veda pubblicazione Caccianiga et al., 2021) basata principalmente sulle caratteristiche che potevano essere osservate sui campioni ottenuti da carotaggio, integrati, se necessario con quelle visibili sulle sezioni trasversali. Una prima chiave di identificazione è stata preparata sulla base di tutti i tratti anatomici osservabili con l'ausilio di stereomicroscopio. Una seconda è stata poi preparata considerando solo le caratteristiche della corteccia più esterna, che rappresenta la porzione che più probabilmente si può staccare da un tronco, come accaduto nel caso in esame.

L'identificazione delle schegge di corteccia raccolte dal corpo è stata eseguita sia attraverso le chiavi di identificazione che attraverso confronto visivo con campioni di corteccia esterna raccolti dagli alberi vicini (*Robinia pseudoacacia* L.).

I frammenti trovati sul corpo erano molto piccoli (tra 2 e 8 mm; Figura 3.6.9), tanto che non è stato possibile descrivere l'intera corteccia ma la sua porzione più esterna (rizoma). In questa porzione il floema non vitale mostrava fibre più chiare di forma rettangolare.

Le specie campionate hanno mostrato strutture della corteccia molto variabili (Figura 3.6.10). Le principali caratteristiche che differenziavano i campioni erano la presenza e il numero di peridermi, il loro aspetto (cioè, colore, spessore, disposizione, presenza di floema secondario non vitale e delle sue fibre), la morfologia del floema secondario nella corteccia interna (colore, presenza di anelli di crescita, presenza di fibre), la presenza e distribuzione del tessuto di espansione, la disposizione di fibre e degli elementi del tessuto di espansione nelle sclereidi, la presenza di tratti specifici (raggi, canali resiniferi).



Figura 3.6.10 Schema della diversa struttura della corteccia osservata nelle specie studiate.

Pur essendo atteso un certo grado di variabilità all'interno di una specie o di un individuo, in particolare in termini di spessore e aspetto della corteccia, la prima chiave di identificazione ha permesso la discriminazione di tutte le specie raccolte con una sola eccezione; solo *Juglans nigra* e *J. regia*, sebbene visivamente diverse, non potevano essere distinte sulla base di tratti inequivocabili. Un confronto con la corteccia di *Robinia pseudoacacia*, la specie arborea dominante sulla scena del crimine, ha mostrato caratteristiche quasi identiche della corteccia esterna, con floema secondario con fibre disposte radialmente, elemento dominante anche nella corteccia interna più chiara, alternata a peridermi interposti assenti, nelle schegge trovate sul corpo.

L'identificazione dei frammenti con la chiave completa, considerante l'intero spessore della corteccia, non è stata possibile, al contrario, la chiave semplificata, basata sulla sola corteccia esterna, ha permesso l'identificazione dei campioni.

Questo peculiare tipo di macro resto botanico è stato quindi in grado di corroborare la ricostruzione fornita dal testimone.

Le diatomee strumento nella diagnosi di annegamento

Infine, pare appropriato includere in questo capitolo alcuni casi, anch'essi frutto di lavoro pratico e di archivio, accomunati dal ruolo di una stessa tipologia di tracce ambientali ed in particolare vegetali, le diatomee. Queste alghe e la loro ricerca in contesto forense rappresentano l'analisi che prima di tutte è entrata nella pratica medicolegale in modo quasi routinario.

Quelli selezionati sono tre casi forensi di corpi rinvenuti in tre diversi bacini del nord Italia. Tre contesti quindi estremamente diversi, un lago lombardo di origine glaciale, un canale artificiale della Pianura Padana e un fiume che scorre in una valle alpina piemontese. Anche i corpi presentavano differenze in termini di stato di conservazione a causa sia del differente ambiente di permanenza che del diverso intervallo post mortale: 15 anni per il corpo nel lago, 11 giorni per quello nel canale artificiale e circa 10 mesi per quello nel fiume.

In particolare, il corpo nel lago presentava decomposizione avanzata (secondo la classificazione di Galloway, 1997) con un'estesa saponificazione interessante in particolar modo: braccia, torso, addome e cosce, avambracci e mani risultavano invece assenti mentre cranio, gambe e piedi apparivano parzialmente scheletrizzati (Figura 3.6.11). La cavità addominale presentava ancora organi relativamente conservati e la cavità nel suo complesso risultava ancora isolata dall'ambiente esterno. Stato coerente con un ambiente acquatico freddo e con scarsa ossigenazione come quelle di media profondità (80 metri) nel quale il corpo era situato.

Il corpo nel canale artificiale presentava iniziale decomposizione (secondo la classificazione di Galloway, 1997) con avanzati fenomeni trasformativi post-mortali, quali diffusa colorazione verde-putrefattiva del tegumento con colorazione rosso-nerastra del distretto cefalico, diffuse aree di epidermolisi putrefattiva, aree di macerazione cutanea, enfisema dei tessuti molli dello scroto ed assenza di rigidità cadaverica (Figura 3.6.11). Stato coerente con un'immersione di almeno una settimana.

Il corpo nel fiume infine presentava aree di completa scheletrizzazione come il capo, gli arti superiori la porzione anteriore del torace, ed aree con tessuto molle saponificato come il dorso, il bacino, la coscia destra ed i piedi oltre a sottili aree di tessuto presenti tra tibia e fibula bilateralmente (Figura 3.6.11). Stato coerente con un intervallo post mortale di almeno alcuni mesi e con un ambiente che implicava fasi di immersione in acqua fredda.

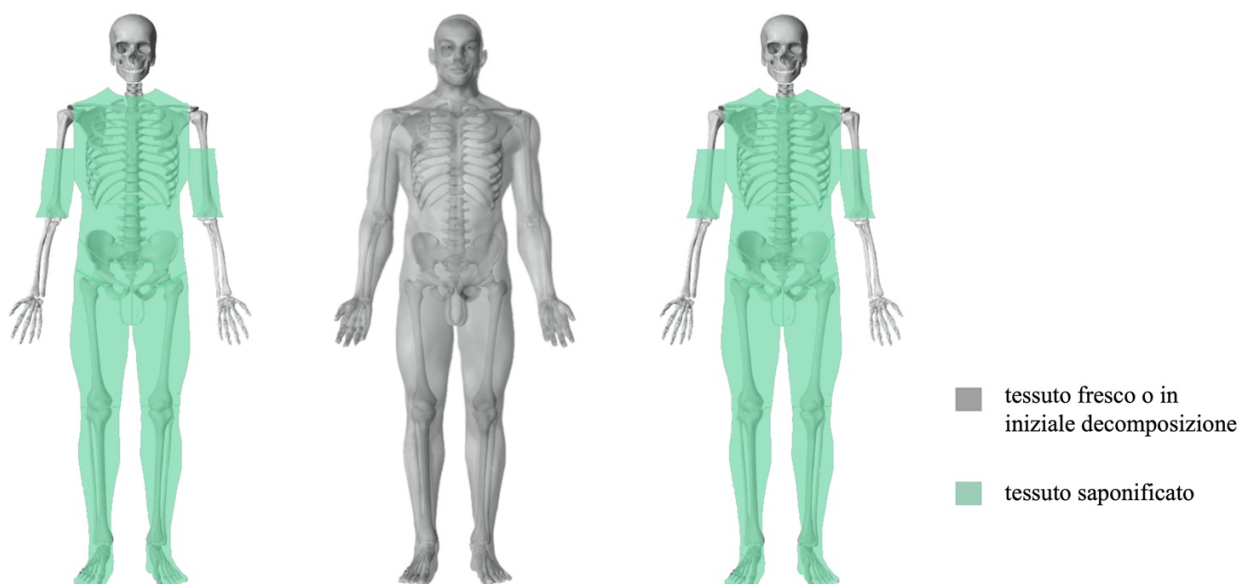


Figura 3.6.11 Rappresentazione schematica dello stato di conservazione dei tre corpi oggetto di studio: a sinistra il corpo rinvenuto nel lago, al centro il corpo rinvenuto nel canale artificiale, a destra il corpo rinvenuto nel fiume.

Considerando quindi il tessuto a disposizione e quello ottimale per eseguire il test in oggetto, considerati i possibili falsi positivi e lo stato di conservazione dei corpi, sono stati selezionati il midollo femorale ed il fegato quali campioni per il cadavere rinvenuto nel fiume. Tale scelta teneva conto dello stato di conservazione del corpo nel quale sussistevano soluzioni di continuità tali da aver causato la messa in continuità della cavità toracica con l'ambiente esterno così da rendere tutti gli organi in essa contenuti fortemente a rischio di ingresso passivo.

Nel caso del corpo nel canale artificiale sarebbe stato potenzialmente possibile realizzare l'analisi su qualsiasi organo se non per il fatto che l'analisi ha avuto luogo in epoca differita rispetto all'autopsia e si è quindi optato per l'utilizzo di campioni originariamente destinati all'indagine tossicologica e conservati in congelatore a -2°C fino a quel momento. Si è quindi campionato encefalo, fegato e rene. Infine, per il cadavere del fiume, non disponendo più di tessuti molli, eccetto il tessuto saponificato che per la posizione, era da attendersi contaminato, la scelta è necessariamente ricaduta sul midollo femorale.

A fungere da controllo sono stati utilizzati campioni di acqua prelevati in fase di sopralluogo, i dati ARPA e infine organi soggetti a contaminazione passiva quali i polmoni.

Per quanto riguarda le procedure di estrazione da organi sono stati utilizzati diversi protocolli:

- il trattamento con perossido di idrogeno concentrato, in accordo con Fucci et al. 2015
- il trattamento con HCl, in accordo con DiGiancamillo et al. 2011
- la digestione con acido nitrico, in accordo con Kaushin et al. 2017

Per la processazione del campione di acqua si è fatto uso del metodo proposto da ISPRA (Istituto Superiore per la Protezione e la Ricerca Ambientale), il metodo del perossido di idrogeno a freddo.

Analogamente anche gli esiti dell'indagine hanno fornito scenari diversi nei tre casi:

l'analisi dei campioni di fegato e midollo osseo dal cadavere rinvenuto nel lago hanno mostrato totale assenza di diatomee, al contrario numerose diatomee sono state rinvenute nel campione di controllo da tessuto polmonare, diatomee che descrivevano inoltre una popolazione algale compatibile, da un punto di vista quali e quantitativo, con quella del bacino di rinvenimento.

I campioni di encefalo, fegato e rene dal cadavere rinvenuto nel canale villoresi hanno invece mostrato un quantitativo estremamente scarso di diatomee che tuttavia apparivano coerenti con quelle presenti nell'acqua di controllo e negli elenchi di ISPRA per l'area in esame. Infine, il campione di midollo osseo del corpo rinvenuto nel fiume non ha mostrato diatomee.

L'esito dei tre test è quindi riassumibile come segue:

esito negativo per i campioni provenienti dal cadavere nel lago, l'analisi non ha rilevato infatti evidenze a favore di una morte per annegamento, tuttavia, tale dinamica non può essere del tutto esclusa stanti i casi, noti in letteratura, di falsa negatività.

Esito incerto per il caso del corpo rinvenuto nel canale artificiale, il numero esiguo di diatomee, seppur compatibili con il bacino di rinvenimento non è infatti sufficiente per un esito positivo. Si è fatto riferimento ai requisiti proposti da Ludes et al. (1999): più di 20 frustoli di diatomea per 100 microlitri di sedimento ottenuti da digestione enzimatica di 10 grammi di tessuto polmonare e più di 5 frustoli di diatomea per 100 microlitri di sedimento ottenuti da digestione enzimatica di 10 grammi di tessuto se proveniente da altri organi interni quali encefalo, fegato, reni, midollo osseo (Ludes et al. 1999).







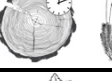















Rimane quindi, un esito suggestivo ma non dimostrativo di annegamento.

Esito negativo invece per il campione dal cadavere rinvenuto nel fiume il cui midollo non ha mostrato diatomee.

Si sottolinea che nel caso del corpo nel lago la presenza di abbondanti diatomee nel polmone, rispondenti ai requisiti di Ludes, non è stata considerata sufficiente per le sopra descritte condizioni del cadavere.

Per quanto riguarda il protocollo, lo scioglimento mediante acido nitrico è risultato efficace per eliminare il tessuto inglobante pur se piuttosto aggressivo, rispetto a quello con acido cloridrico, in accordo con DiGiancamillo e colleghi (2011). Quest'ultimo metodo, tuttavia, non ha soddisfatto in termini di scioglimento del campione. Il metodo del perossido di idrogeno invece è risultato sicuro ed efficace anche se penalizzato dai tempi piuttosto lunghi, soprattutto per alcuni tipi di tessuto. Quest'ultimo metodo inoltre necessita di alcuni accorgimenti se utilizzato su campioni freschi soprattutto per tessuti quali il fegato, in questo caso infatti il perossido reagendo con l'enzima catalasi delle cellule si scompone in acqua e ossigeno generando la schiuma che rischia di fuoriuscire dal contenitore compromettendo l'analisi. Questo può tuttavia essere evitato con diversi accorgimenti quali bollire il tessuto o utilizzare piccoli quantitativi di acido cloridrico, pH acido e calore, infatti, rallentano l'azione dell'enzima e lo denaturano rispettivamente. Non è ad oggi stato sperimentato il metodo del perossido di idrogeno a caldo proposto da Marezza (et al., 2021) che promette di migliorare la resa del precedente metodo a freddo.

Di seguito si riporta una tabella riassuntiva dei 10 casi descritti (Figura 3.6.12):

CASE	ISSUE	BOTANICAL ELEMENT	BODY PRESERVATION
1	Corpse's concealment place		
2	Identification of the weapon		
3	PMI		
4	PMI and dynamic		
5	Identification of the primary crime scene		
6	Identification of the place of victim's dismemberment		
7	Charred vegetal specimens-detection of the primary scene		
8	Ingested vegetal specimens, PMI		
9	Dynamics of the event		
10	Manner of death		  





















STATO DI CONSERVAZIONE DEL CORPO	ELEMENTI BOTANICI E TECNICHE
	
	
	
	
	
	
	
	
	
	
Corpo ben conservato	
Copro in stadio di iniziale decomposizione/saponificazione	
Resti scheletrizzati	
Analisi comparativa ed ecologica dei macroresti (foglie, frutti)	
Analisi comparativa ed ecologica di Bryofite	
Analisi comparativa ed ecologica del polline	
Analisi comparativa della morfologia microscopica del legno	
Analisi comparativa della morfologia microscopica delle alghe	
Analisi comparativa della struttura cellulare e di altre strutture microscopiche di foglie e frutti	
Dendrocronologia (analisi della crescita annuale nel tessuto legnoso) e altri metodi per la stima dell'età dagli organi vegetali (fusti legnosi ed	
Tasso di crescita delle briofite (analisi della crescita annuale del muschio)	
Analisi comparativa di corteccie	
Analisi comparativa di diatomee	

Figura 3.6.12 Tabella riassuntiva dei 10 casi descritti, in basso, legenda dei simboli

3.6.1.3 Discussione

Gli elementi botanici che diventano evidenze in contesto forense soffrono spesso di una cronica esiguità di materiale così come di un non ottimale stato di conservazione, elementi che sicuramente complicano il compito del botanico; tuttavia, i molteplici oggetti botanici protagonisti dei casi citati, hanno dimostrato il potere di questo tipo di traccia nel concorrere alla ricostruzione del quadro generale. Alcuni di questi elementi sono pressoché assenti nel panorama forense attuale, cuticole vegetali e cortecce sono così poco note e sfruttate in contesto giudiziario da aver necessitato la realizzazione di strumenti identificativi appositi pur essendo indiscutibile il loro potere informativo e le loro peculiari proprietà in termini di persistenza e frequenza potenziale, la corteccia infatti può essere considerata come il substrato di interazione diretta dell'albero. Altri elementi, quali le diatomee, pur se ampiamente noti, spesso risultano un oggetto ancora complesso nella processazione, i molteplici protocolli che ogni giorno vengono proposti e messi a confronto (per esempio Kakizaki e Yukawa, 2015; Kakizaki et al., 2019; Marezza et al., 2021) dimostrano la sentita necessità di un sistema di purificazione ottimale ancora assente ma anche di migliore comprensione delle modalità di analisi, soprattutto quando si abbia a che fare con corpi in cattivo stato di conservazione. Tuttavia, si tratta altresì di un'analisi con ampia applicabilità anche su prelievi già effettuati ad altri fini e quindi applicabile, come dimostrato, anche in differita rispetto all'autopsia beneficiando di campioni di routine quali quelli istologici o tossicologici anche se trattati con sostanze conservanti, come dimostrato da recenti studi (Takeichi e Kitamura 2009 a, b). Inoltre, scarsamente diffuso è il loro uso in applicazioni diverse dalla diagnosi di annegamento, come nella raccolta di dati temporali, come mostrato nel caso raccontato in precedenza, dove queste alghe, in sinergia con i dati delle stazioni idrologiche, sono state in grado di fornire un dato di minimo intervallo post deposizionale.

Spostando l'attenzione dalla traccia ambientale al substrato, il diverso stato di conservazione del corpo, che variava dal ben conservato al totalmente scheletrizzato ha necessitato di approcci specifici per ciascuna situazione tuttavia accomunati dalla molteplicità di professionalità coinvolte, archeologi antropologi medici legali e botanici che consapevoli del potere informativo dei propri e degli altri oggetti di studio sono stati in grado di preservarli e di ottimizzare il loro potere informativo.

Tuttavia, in contesti nazionali e internazionali, la botanica forense così come altre discipline forensi, afferenti all'ambito delle scienze naturali e non solo, sono spesso sottovalutate, soprattutto nelle prime fasi di indagine come il sopralluogo o l'autopsia, fasi iniziali ma anche fasi irripetibili spesso decisive per l'esito dell'intera indagine. Tutto ciò a causa di una generale mancanza di personale qualificato che sia in grado di riconoscere e campionare questo tipo di evidenze e alla diffusa mancanza di cultura nei confronti della disciplina e delle sue potenzialità (Margiotta et al., 2015; Coyle et al, 2005; Caccianiga et al., 2014; Coyle et al, 2001), invece ben note in una forse troppo ristretta cerchia di cultori della materia, che difficilmente si trovano sul campo in queste fasi dell'indagine.

Consapevoli della impossibilità e forse anche dell'effetto controproducente di un team troppo ampio sulla scena o in autopsia ci si auspica invece che specialisti della scena del crimine, non necessariamente botanici forensi, applichino un approccio interdisciplinare, alla vittima e alla scena del crimine con la consapevolezza del potere informativo di tracce di diversa origine; infatti, il vero potere delle scienze forensi sta nella loro sinergia.

Affinché la botanica forense metta a frutto tutto il suo potenziale, è essenziale che il campionamento botanico e le strategie di recupero riguardanti i resti umani e le scene del crimine soddisfino alcuni requisiti minimi: I luoghi esatti in cui i campioni botanici sono stati raccolti devono essere registrati attraverso fotografie e tecniche di posizionamento 3D. Questo è mirato non solo a documentare le

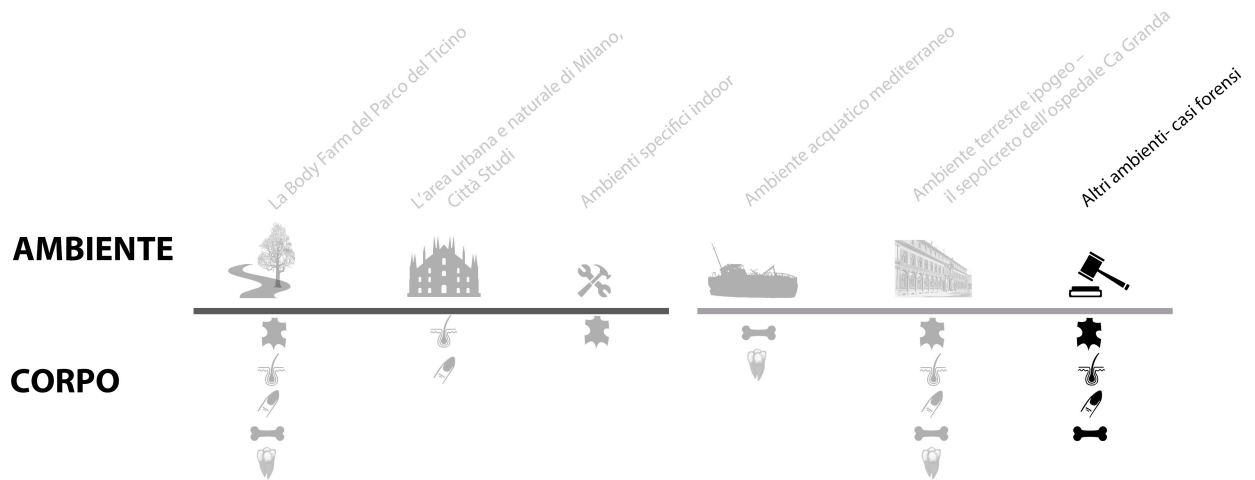
relazioni tra le evidenze botaniche e i resti della vittima, ma anche a stabilire con precisione il contesto ambientale. Inoltre, una corretta strategia di registrazione della scena dovrà precedere descrizioni scritte e tabelle, note audio, schizzi e registrazioni video. La registrazione topografica e fotografica di tutti gli elementi presenti sulla scena ha lo scopo di poter ricostruire in qualsiasi momento la scena originale, precedente a qualsiasi intervento, durante le operazioni e nel post recupero dei resti e delle prove. Inoltre, fornisce un'illustrazione completa ed estremamente precisa della morfologia tridimensionale della scena del crimine, dell'estensione e della posizione di ogni elemento botanico e di altra natura, raccolto. Anche per quanto riguarda il prelievo del materiale sarà necessario non concentrarsi esclusivamente sui resti umani ma ampliare il raggio di azione includendo il campionamento delle principali specie vegetali circostanti, al fine di fornire a coloro che analizzeranno i campioni associati ai resti un quadro completo dell'ambiente. Questo dovrebbe includere almeno le specie di piante predominanti dell'area, con particolare riferimento alle specie arboree che costituiscono la struttura e la biomassa principali dell'ecosistema di una scena. La loro identificazione fornirà informazioni ecologiche complessive e potrà fungere da elemento di confronto per le evidenze associate ai resti (Coyle, 2005). Nel caso di corpi rinvenuti in acqua o anche solo in luoghi potenzialmente inondati sarà importante prelevare un campione di acqua di confronto per l'eventuale diagnosi di annegamento ma anche considerare la possibilità di una ricerca di diatomee a scopi differenti quali la determinazione dell'intervallo post deposizionale. Infine, dove possibile, il recupero integrale e il trasporto di tutto, se non di una parte della scena al laboratorio può, in circostanze in cui l'importanza delle informazioni botaniche è ritenuta superiore a quella di altri specialisti, essere un'opzione praticabile che può garantire un recupero e una conservazione più completa dei dati botanici. Bisogna tuttavia ricordare che una decisione simile deve essere presa dal responsabile della ricerca e del recupero poiché questo tipo di operazione può compromettere le strategie di campionamento e recupero degli altri specialisti.

Come spesso accade durante attività operative, ci sono momenti in cui deve essere fatta una valutazione del valore dei diversi tipi di informazioni disponibili, e questo richiederà decisioni riguardanti ciò che può e non può essere sacrificato a beneficio dell'indagine. Bisogna comunque sottolineare che in ogni caso è previsto il recupero integrale e la conservazione di tutti gli elementi che hanno una qualsiasi relazione fisica diretta o indiretta o stratigrafica con una vittima saranno sempre recuperati, imbustati e conservati per eventuali analisi.

La scelta dell'approccio più adatto alla registrazione e al recupero delle prove botaniche può essere basata solo sull'esperienza del personale responsabile della strategia di campionamento poiché non ci sono mai due casi identici. Infatti, nessun manuale o linea guida può essere di aiuto nell'individuazione e nel recupero di tutti gli elementi rilevanti che sono pertinenti a uno specifico scenario forense (Margiotta et al., 2015; Coyle et al., 2005; Lane et al., 1990). La genesi di questo problema risiede nel fatto che ciò che non è rilevante sulla scena di oggi può essere rilevante domani (Coyle et al., 2005). Tuttavia, alcuni accorgimenti di base, come un'accurata registrazione del luogo di ritrovamento, sono spesso estremamente utili e in alcuni dei casi più semplici possono anche essere considerati sufficienti. Nei casi che richiedono una successiva ispezione botanica, un'ulteriore analisi può essere effettuata anche una volta che la vittima è già stata recuperata. Anche se bisogna considerare che gli elementi e gli ambienti botanici sono soggetti a rapide alterazioni e sono esposti a un alto rischio di dispersione ambientale (fauna e fenomeni meteorologici) che possono potenzialmente modificare interi schemi di distribuzione (Coyle et al., 2005).

3.6 Ambienti specifici – casi forensi

3.6.2 Il cadavere, approccio a substrati compromessi da tempo e ambiente



Il presente lavoro si era posto i seguenti obiettivi:

- Dimostrare l'importanza di un attento esame esterno e di un approccio multidisciplinare alla vittima specialmente in condizioni difficili, quando il cadavere diventa un substrato ostico e spesso trascurato proprio in ragione della sua complessità

Tali ricerche sono confluite in una pubblicazione attualmente disponibile al seguente riferimento bibliografico:

Mazzarelli D, Tambuzzi S, Maderna E, Caccia G, Poppa P, Merelli V, Terzi M, Rizzi A, Trombino L, Andreola S, Cattaneo C (2021) Look before washing and cleaning: A caveat to pathologists and anthropologists. *J Forensic Leg Med* 79: 102137. <https://doi.org/10.1016/j.jflm.2021.102137>

3.6.2.1 Materiali e metodi

Questo capitolo raccoglie una selezione di casi, estratta dalla casistica completa di tutti i casi forensi trattati dal Laboratorio di Antropologia e Odontologia forense dell'Istituto di Medicina Legale dell'Università di Milano negli ultimi 10 anni. Da questa sono stati estrapolati 5 casi in cui tracce miste a residuo vario, trovate su resti parzialmente o totalmente scheletrizzati (in due casi erano anche parzialmente carbonizzati), hanno avuto un ruolo forense fondamentale. Infatti, attraverso l'osservazione e l'analisi approfondita di alcuni residui, o l'analisi con metodiche specifiche di particelle invisibili all'occhio nudo, è stato possibile ottenere informazioni che nelle procedure di routine sarebbero facilmente andate perse.

Nei casi di resti umani parzialmente scheletrizzati con residui di tessuti molli in prossimità di aree interessate da lesioni, le indagini istologiche sono state effettuate su frammenti di tessuti molli decomposti fissati in formalina tamponata al 10% e successivamente inseriti in paraffina ad alto punto di fusione. I vetrini istologici ottenuti sono stati tutti sottoposti a colorazione standard con ematossilina ed eosina (H&E). Inoltre, quando ritenuto necessario, è stata effettuata un'analisi approfondita attraverso colorazione immunoistochimica finalizzata al rilevamento della glicoforina, proteina di membrana degli eritrociti (Tabata e Morita, 1997). Infatti, a seguito di una grave lesione traumatica ai tessuti vitali, si verifica una rottura dei capillari e dei vasi sanguigni con un massiccio stravasamento di globuli rossi e la formazione di un'ampia infiltrazione emorragica nei tessuti circostanti (Taborelli et al., 2011; Oehmichen, 2004). L'identificazione di globuli rossi o loro tracce dimostrano che la lesione era vitale. Al contrario, le lesioni *post mortem* mancano di reazione vitale (Vanezis, 2001). Nei corpi freschi, l'esame macroscopico dell'infiltrazione emorragica (o colorazione H&E standard) può essere sufficiente a rivelare la vitalità di una lesione ma nei cadaveri putrefatti o sui residui di tessuto molle intorno a fratture ossee perimortali la diagnosi di vitalità può essere molto più impegnativa (Taborelli et al., 2011).

Infatti, con l'inizio della putrefazione, i tessuti molli si scoloriscono e le lesioni si modificano nel loro aspetto, rendendo difficile la valutazione accurata (Vanezis, 2001). Inoltre, da una prospettiva microscopica, la semplice istologia può non essere dirimente a causa della degradazione dei tessuti e delle cellule. È stato dimostrato che la glicoforina A è un buon marcatore forense per i globuli rossi nei tessuti molli decomposti anche perché è resistente alla putrefazione all'aria per diverse settimane (Taborelli et al., 2011). In particolare, la reazione immunoistochimica con l'anticorpo antiglicoforina A, permette l'identificazione di residui di membrane eritrocitarie putrefatte che, a loro volta, permettono di distinguere aggregati altrimenti anonimi come globuli rossi. Ne deriva che, la presenza di residui di globuli rossi determinati grazie alla glicoforina A in particolare se concentrati in aree specifiche, e ovviamente al di fuori dei vasi sanguigni, può essere fortemente suggestiva di infiltrazione emorragica e rafforzare l'ipotesi di una ferita vitale quando si trova una frattura *perimortem* sull'osso vicino (Tabata e Morita, 1997; Taborelli et al., 2011). A questo scopo sono stati utilizzati gli anticorpi di topo anti-glicoforina umana A clone JC159 Dako-Dakopatts. Tutti i vetrini istologici sono stati analizzati utilizzando il microscopio ottico Zeiss Axio Scope A1 e le immagini sono state acquisite con il sistema di telecamere True Chrome Hd II.

Negli ultimi due casi, l'analisi al microscopio elettronico a scansione è stata eseguita utilizzando Cambridge Stereoscan 36 e programma di acquisizione delle immagini EDX (spettrometria a raggi X dispersiva di energia) con una soglia tra 138 eV e 5,9 KeV Oxford Link Pentafet.

Il SEM/EDX è un metodo analitico che sfrutta i raggi X generati da un fascio di elettroni accelerato, incidente sui campioni. Fornisce una visione tridimensionale ad alta risoluzione, nonché un'analisi

composizionale di tutte le particelle colpite dal fascio di elettroni (Nguyen e Harbison, 2017; Gentile et al., 2020).

In tutti e 5 i casi, dopo un attento esame dei resti umani e il campionamento di ogni elemento potenzialmente di interesse, la procedura di pulizia è stata effettuata attraverso la macerazione a freddo in acqua e la rimozione meccanica dei tessuti molli.

3.6.2.2 Risultati

Resti scheletrizzati, frammentati ed in parte carbonizzati con sporadici residui di tessuti molli consentono di comprendere la vitalità delle lesioni

Nel 2009, in una cava di una città del Nord Italia vengono rinvenuti resti umani parzialmente scheletrizzati. L'analisi antropologica ha permesso di attribuire i resti ad un singolo individuo di sesso maschile, successivamente identificato attraverso l'analisi genetica. Le operazioni di ricerca e recupero, che si sono protratte per diversi mesi, sono state effettuate utilizzando cani da cadavere, setacciatura manuale del terreno e tecniche di scavo proprie dell'archeologia forense; è stato inoltre effettuato uno studio stratigrafico dell'area di scavo (Figura 3.6.13 a). Alla fine della suddetta ricerca, sono stati recuperati 48 elementi ossei (Figura 3.6.13 b). La maggior parte dei resti erano caratterizzati da fratture con il tipico aspetto *perimortem* e segni di parziale carbonizzazione. Tra gli elementi recuperati sono stati osservati frammenti di ossa del cranio caratterizzati da fratture coerenti con un trauma da corpo contundente. L'attenta analisi di tutti questi resti, precedente qualsiasi fase di pulizia, ha permesso di individuare un frammento della piccola ala dello sfenoide. Tale elemento si presentava ampiamente coperto di terra, sabbia e materiale semi-solido residuo di tessuti molli putrefatti (Figura 3.6.14 a). Un'osservazione approfondita ha permesso di identificare, nel materiale imbrattante, una porzione ben conservata del nervo ottico destro, di 3 cm di lunghezza (Figura 3.6.14 b).

Considerato il peculiare quadro criminale e le manovre di occultamento messe in atto, era fondamentale capire se le lesioni fossero state inflitte quando la vittima era ancora viva o se fossero invece state inflitte *post mortem*. Infatti, la presenza di una frattura ossea *perimortem*, come è noto, è solo una prova del fatto che essa è riconducibile all'intorno della morte, ma non costituisce in alcun modo prova che sia stata prodotta quando la persona era ancora viva. A questo scopo, il frammento di nervo ottico è stato sottoposto ad analisi istologica standard mediante colorazione con H&E alla ricerca di evidenze di infiltrazione. Indagine simile è stata eseguita anche su un frammento di osso privo di lesioni e su un campione di suolo raccolto vicino a un frammento di osso parietale. La semplice colorazione con H&E eseguita sul frammento di nervo ottico, ha permesso di evidenziare un'area di infiltrazione emorragica (Figura 3.6.13 c). La glicoforina non è stata necessaria in questo caso in quanto il nervo era eccezionalmente ben conservato microscopicamente, indipendentemente dalla distruzione generale e dalla decomposizione dei tessuti molli in altre aree. Come menzionato, lo stravasamento dei globuli rossi è una delle prime conseguenze meccaniche di una lesione traumatica, ed è fortemente coerente con la vitalità della lesione (Oehmichen, 2004). Pertanto, è stato possibile concludere che la frattura *perimortem* e quindi il trauma da corpo contundente sulla porzione del cranio su cui è stato trovato il nervo ottico, era avvenuto quando la vittima era ancora in vita.



Figura 3.6.13 In a) l'area dove sono stati trovati i resti e dove hanno avuto luogo le operazioni di ricerca; in b) schema degli elementi ossei recuperati (colorati in blu).



Figura 3.6.14 In a) frammento di osso sfenoide coperto di terra, sabbia e tessuti molli putrefatti; in b) porzione del nervo ottico destro imbrattata di terra; in c) area di infiltrazione emorragica nei tessuti del nervo ottico dopo esame istologico (H&E, 10×).

Resti parzialmente scheletrizzati con sporadici tessuti molli permettono di comprendere vitalità e non vitalità di diversi tipi di lesività

Nel 2017, un corpo parzialmente scheletrizzato viene trovato sepolto in un orto privo del capo. In seguito all'analisi genetica effettuata da campione di osso, i resti umani sono stati identificati come appartenenti a una donna scomparsa pochi mesi prima. Il cranio parzialmente scheletrizzato della vittima viene trovato all'interno di una busta di plastica nera, in un'area boschiva vicino alla casa del sospettato e proprietario dell'orto dove era stato rinvenuto il corpo.

All'interno del sacco, il cranio si presentava ricoperto di cemento e diffusamente imbrattato da terra e materiale botanico (Figura 3.6.15 a). L'identificazione è stata effettuata attraverso analisi antropologiche e odontologico forensi. All'esame autoptico, le aree cutanee del capo in decomposizione, presentavano segni esito potenziale dell'azione di un'arma da taglio. Lo stato di

conservazione dei tessuti molli non ha permesso di stabilire con certezza la vitalità e la natura delle lesioni. Pertanto, i tessuti molli sono stati campionati per poi procedere con l'analisi delle ossa.

Il contenuto del sacco stato analizzato a fondo e attraverso tecniche di micro-scavo, durante il quale è stata rinvenuta una porzione di tessuto molle putrefatto. Questo è stato identificato come il cuoio capelluto della regione parietale e occipitale sinistra del cranio. Su di esso sono stati eseguiti tagli seriati per valutare la presenza di infiltrazione e sono stati prelevati campioni per l'esame istologico (Figura 3.6.15 b). Lo studio antropologico dei resti umani ha evidenziato multiple lesioni craniche coerenti con un trauma da corpo contundente, soprattutto nella regione parietale sinistra e diversi segni di trauma da corpo contundente alla regione cervicale (Figura 3.6.16 a) e alla testa omerale destra (Figura 3.6.16 b). Le lesioni al cranio sono state ritenute connesse alla causa della morte; quelle cervicali e omerali invece sono state rispettivamente attribuite alla decapitazione e al distacco dell'arto superiore destro. A questo punto, l'esame istologico dei residui di tessuto molle intorno all'osso lesionato sarebbe stato utile per valutare se il trauma da corpo contundente e lo depezzamento del corpo fossero avvenuti su un soggetto ancora vivo o, invece, *post mortem*. Per questo, tutti i campioni sono stati sottoposti ad analisi istologica e colorati con H&E seguita da immunoistochimica per la rilevazione della glicoforina.

La colorazione con H&E sui campioni di pelle del cuoio capelluto non è risultata dirimente (Figura 3.6.17 a), tuttavia, l'indagine immunoistochimica eseguita sugli stessi campioni e finalizzata all'individuazione della glicoforina è risultata positiva mostrando infiltrazione emorragica al di fuori dei vasi (Figura 3.6.17 b). Come precedentemente menzionato, l'infiltrazione da parte dei globuli rossi nei tessuti molli danneggiati è una delle prime conseguenze meccaniche di una lesione traumatica, ed è fortemente coerente con una vitalità del tessuto al momento della lesione (Oehmichen, 2004). Tuttavia, la colorazione H&E può mancare di specificità e sensibilità sui tessuti putrefatti (Tabata e Morita, 1997). Al contrario, è stato dimostrato che la glicoforina A è un buon marcatore forense per la presenza di globuli rossi ed è resistente alla putrefazione per diverse settimane (Taborelli et al., 2011). Pertanto, è stato possibile concludere, grazie al trauma osseo *perimortem* e ai vicini segni di agglomerazione extravascolare di glicoforina in aree specifiche del cuoio capelluto in corrispondenza delle fratture, che il trauma da corpo contundente sul cranio era avvenuto quando il soggetto era ancora vivo. D'altra parte, sia la colorazione H&E che l'indagine immunoistochimica sono risultate negative per qualsiasi infiltrazione emorragica nei campioni di pelle della zona cervicale e ascellare destra. Per questo motivo, è stato presupposto che lo depezzamento del corpo fosse avvenuto *post mortem* (o che la vitalità non poteva essere provata). Vale la pena notare che tali risultati sono pienamente coerenti con ciò che è tipicamente osservato in casi di depezzamento, ossia che il depezzamento avviene di solito *post mortem* (Porta et al., 2016). Tuttavia, ci possono essere alcune eccezioni in cui esso inizia immediatamente, quando la vittima è ancora viva (Amadasi et al., 2019).

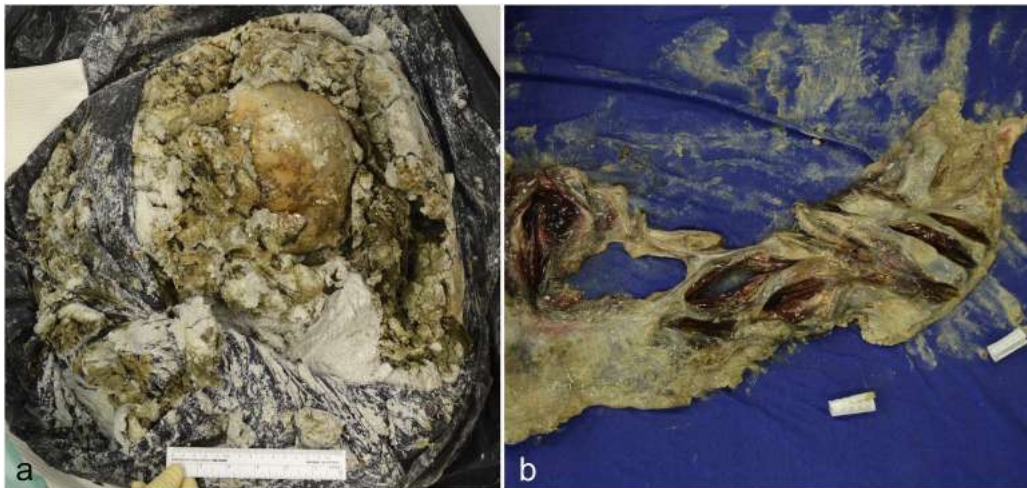


Figura 3.6.15 In a) vista del sacco aperto e del cranio coperto di cemento, terra e materiale botanico; in b) porzione di tessuto molle putrefatto identificato come il cuoio capelluto della vittima (regione parietale e occipitale sinistra del cranio) su cui sono stati eseguiti tagli seriali e campionamenti.

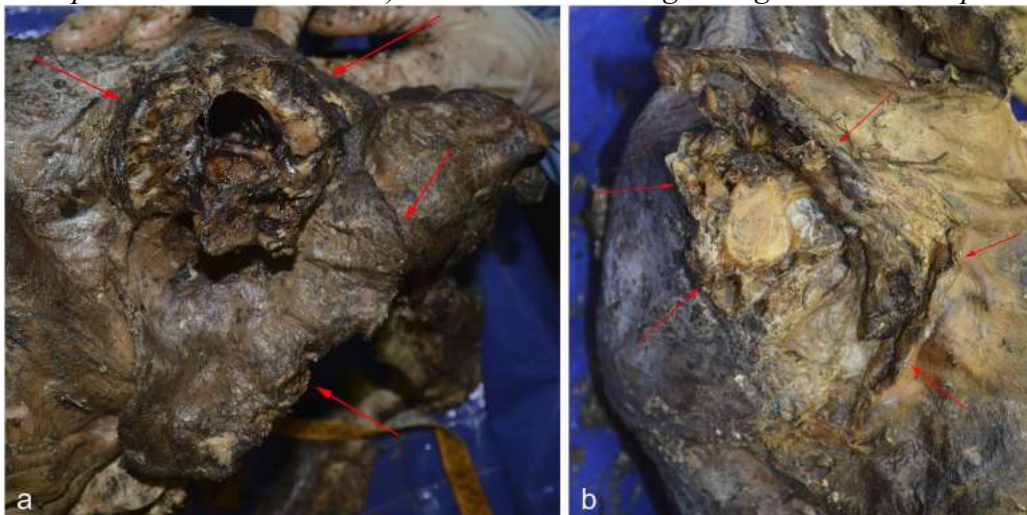


Figura 3.6.16 In a) vista della colonna vertebrale, tratto cervicale, con evidenza di un arco vertebrale tagliato; in b) vista della fossa glenoidea destra e dell'acromion con segni di trauma da arma da taglio nella zona ascellare destra.

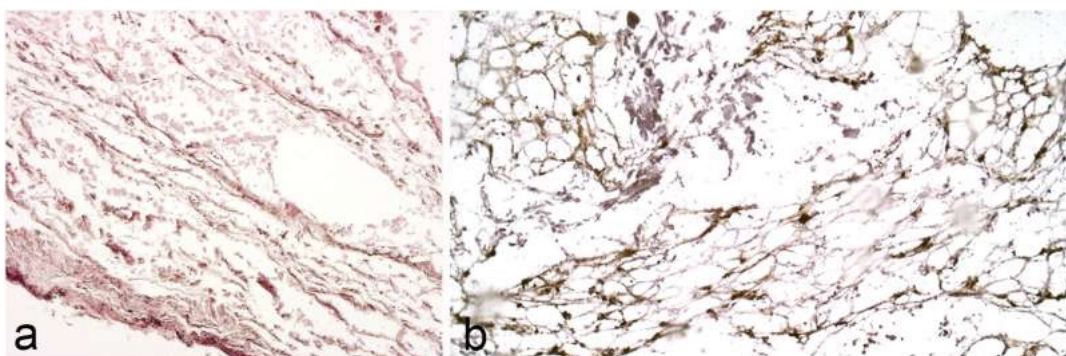


Figura 3.6.17 In a) vista al microscopio di un campione di cuoio capelluto della regione parietale sinistra privo di chiara infiltrazione emorragica (H&E 10×); in b) tessuti ipodermici dello stesso campione con evidenza di infiltrazione emorragica evidenziata dalla colorazione con glicoforina-A (20×).

Resti umani scheletrizzati e parzialmente carbonizzati nascondono piccoli dispositivi protesici che agevolano l'identificazione

Nel novembre 2019, resti umani scheletrizzati e parzialmente carbonizzati vengono rinvenuti in una grotta nel Nord Italia. In quell'occasione, non viene richiesto alcun sopralluogo giudiziario, i resti vengono prelevati dalla polizia e portati all'attenzione di medicolegale ed antropologo.

La prima questione che si pone in fase di studio è quella relativa all'identità della vittima, data la mancanza di informazioni. Nella medesima zona risulta un uomo scomparso qualche mese prima, viene quindi fatta richiesta per le informazioni cliniche così da poter procedere ad un esame comparativo.

I resti scheletrici si presentavano imbrattati di fango, terra e materiale carbonizzato, apparendo quindi estremamente sporchi e difficili da valutare. Tuttavia, prima di procedere alla loro pulizia, tutti gli elementi ossei sono stati isolati e osservati attentamente, contestualmente è stato eseguito un attento campionamento del materiale di interesse. Durante l'esame del cranio, all'interno dell'orbita sinistra, priva ormai di qualsiasi tessuto molle, è stato trovato un piccolo oggetto di plastica trasparente (2 cm × 1 cm) aderente alla parete mediale (Figura 3.6.18) e coperto di terra, riconosciuto in seguito come un cristallino artificiale. In generale, il valore identificativo di un tale oggetto da solo è piuttosto scarso, ma nel caso in esame, essendo noto dalle cartelle cliniche che l'uomo scomparso aveva subito un'operazione di cataratta all'occhio sinistro qualche anno prima, tale evidenza poteva assumere una certa rilevanza. Questa scoperta, infatti, combinata con le informazioni fornite dal profilo biologico della vittima (etnia, età, sesso e statura), ha permesso di avvalorare l'ipotesi che i resti umani potessero appartenere all'uomo scomparso. Alcuni mesi dopo, quando sono state recuperate le immagini radiografiche antemortem del cranio della vittima, è stato possibile confermare questo sospetto di identità.



Figura 3.6.18 In a) cranio parzialmente carbonizzato e imbrattato; in b) dettaglio dell'orbita sinistra all'interno della quale si può osservare un cristallino artificiale; in c) dettaglio dell'oggetto recuperato.

Un cadavere parzialmente scheletrizzato conserva su cute e indumenti tracce inorganiche del suo aggressore

All'inizio del 2011, il cadavere parzialmente scheletrizzato di una ragazza scomparsa 3 mesi prima è stato trovato in un campo di una città del Nord Italia. Dal momento che le ricerche avevano già interessato l'area del ritrovamento nei mesi precedenti, si sospettò che la vittima potesse essere stata

uccisa altrove e solo successivamente portata nel luogo del rinvenimento. Per chiarire questo punto vengono portate avanti diverse indagini volte a studiare l'interazione tra il cadavere e l'ambiente.

Stante la necessità di chiarire inoltre quale fosse l'arma del delitto, durante l'autopsia vengono prelevati diversi campioni. In particolare, prima di procedere alla pulizia del cadavere, sono stati prelevati i residui cutanei mediante coltelli con lame in ceramica al fine di evitare contaminazioni da parte di particelle metalliche iatrogene (derivanti dalle lame della strumentazione autoptica) che avrebbero potuto alterare il particolato originario potenzialmente derivante dall'arma del delitto (Figura 3.6.19). Inoltre, sono stati raccolti campioni di particolato da tutti gli indumenti mediante nastro in grafite, *stub* (similmente a quanto descritto nel progetto sperimentale del capitolo 3.3 che proprio da questo caso ha preso ispirazione) per essere poi analizzati mediante SEM/EDX.

L'analisi rivela la presenza, sulla cute di zona cervicale, mammaria e dorsale, così come su polsi e mani bilateralmente (Figura 3.6.20 a), di materiale putrefatto e colonizzazione botanica, ma anche di polvere di calcio (ossido di calcio, CaO) e numerose sfere metalliche di ferro (Fe), cromo (Cr), e/o nichel (Ni). La presenza di queste microtracce è stata ampiamente documentata anche sui vestiti della vittima (Figura 3.6.20 b).

Il luogo di provenienza di questi materiali è stato ricercato in tutti gli ambienti frequentati dalla vittima (casa, scuola, palestra), così come nel luogo in cui il corpo è stato rinvenuto. Tuttavia, tutte le analisi sono risultate negative. Questo esito ha rafforzato l'ipotesi che le microtracce rilevate sulla vittima potessero essere connesse alla scena del crimine primaria. Un geologo forense ed un ingegnere meccanico, coinvolti nel caso, suggerirono un cantiere o un altro luogo legato comunque alla carpenteria come ambiente di provenienza. In particolare, la polvere di calcio (CaO) è stata ritenuta suggestiva di calce e le sfere metalliche di residui prodotti dalla lavorazione e dal taglio del metallo ad alte temperature. Pertanto, si è deciso di ricercare e campionare gli ambienti locali legati all'industria delle costruzioni. Tali confronti hanno dato un risultato positivo. Infatti, il particolato rinvenuto sulla vittima era coerente con quello presente in un cantiere situato nelle vicinanze. Infine, il principale sospettato è stato identificato come un uomo che lavorava come carpentiere e operaio edile. Questa scoperta era pienamente coerente con le microtracce rilevate e analizzate in precedenza.



Figura 3.6.19 In a) residui di cute in regione cervicale destra che sono stati campionati per l'analisi SEM/EDX; in b) polso e mano destra con probabili segni di trauma da arma da taglio da cui sono stati raccolti campioni di cute per l'analisi SEM/EDX; in c) arto inferiore sinistro in stato di parziale scheletrizzazione con residui di tessuto molle putrefatto, che sono stati campionati per l'analisi SEM/EDX.

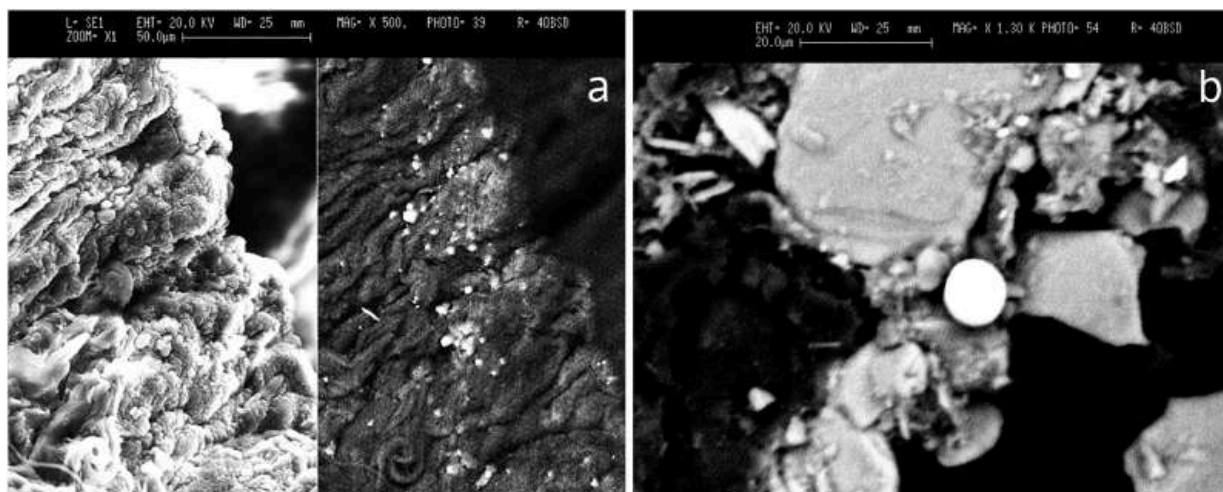


Figura 3.6.20 In a) microtracce di polvere di calcio rilevate sulla superficie della cute in regione cervicale; in b), una delle numerose sfere metalliche trovate sparse sui vestiti della vittima.

Un corpo parzialmente scheletrizzato conserva su cute e ossa tracce dell'arma del delitto, al contempo tuttavia la cute in decomposizione cela parte della lesività

Nell'estate del 2015, il corpo parzialmente scheletrizzato di un soggetto non identificato viene rinvenuto all'interno di un edificio abbandonato nell'hinterland di Milano. A seguito delle indagini antropologiche condotte sui resti, la vittima viene identificata.

All'esame autoptico vengono rilevate diverse lesioni che interessano la cute ormai in avanzato stato di decomposizione. Le ossa erano interessate da fratture coerenti con un trauma da corpo contundente. Tutte le lesioni cutanee sono state campionate attraverso l'uso di un nastro di grafite, così come le aree di cute non correlate alle ferite, come controllo negativo. Tutti i campioni sono stati sottoposti ad analisi SEM/EDX. Allo stesso tempo, il cranio e le vertebre cervicali (dalla prima alla settima) sono state prelevate e sottoposte a macerazione per il successivo esame antropologico, che ha necessitato della preliminare operazione di ricostruzione dello stesso.

L'esame ha evidenziato non solo la presenza di molteplici aree di impatto, compatibili con un corpo contundente, situate nella regione frontale e parietale destra (Figura 3.6.21) ma anche diverse ferite da taglio che non erano state viste all'autopsia.

Il pattern di frattura risultava morfologicamente coerente con l'azione di uno strumento tubolare pesante, mentre le ferite da taglio con l'azione di un coltello a lama liscia, come quelli da cucina.

L'analisi SEM/EDX eseguita su campioni di cute e su osso ha permesso l'individuazione di microtracce metalliche costituite da più elementi chimici. La maggior parte di questi residui erano costituiti da ferro (Fe), con aggiunta di zinco (Zn) e manganese (Mn); inoltre sono stati rilevati pochissimi residui di bario (Ba) e piombo (Pb) (Figura 3.6.22). Le caratteristiche qualitative e quantitative di tali residui erano suggestive di un contatto con un oggetto metallico composto principalmente da ferro. Al momento dell'ispezione giudiziaria della scena del crimine, è stato trovato e sequestrato un tubo metallico coerente con l'oggetto ricercato. Per verificarne l'effettiva composizione e valutare se fosse compatibile con le microtracce trovate nelle lesioni craniche, è stato prelevato un campione per l'analisi SEM/EDX utilizzando una punta di diamante (uno strumento in grado di graffiare i metalli senza lasciare residui contaminanti). L'indagine microscopica eseguita sui frammenti prelevati dal tubo ha permesso di identificare la presenza di ferro (Fe) con manganese (Mn) e zinco (Zn) in tracce (Figura 3.6.23). Pertanto, il campionamento mediante nastro in grafite su cute e frammenti di ossa del cranio eseguito prima delle operazioni di lavaggio, ha permesso di dimostrare l'ipotesi che il tubo

trovato sulla scena del crimine fosse coerente con l'arma del delitto. D'altra parte, purtroppo, non è stato possibile effettuare l'analisi SEM/EDX su campioni di ossa interessati da lesioni da taglio in quanto questo tipo di traumatismo non era stato riconosciuto all'autopsia e tutti i resti erano stati lavati e puliti. Infatti, è stato chiaramente affermato in letteratura che per un risultato corretto dell'analisi SEM/EDX, è essenziale evitare il lavaggio preliminare del corpo per preservare qualsiasi residuo di materiale esogeno. Tale cautela fondamentale è stata anche riaffermata da una recente revisione sull'uso del SEM/EDX nella medicina forense (Gentile et al., 2020 a). Inoltre, la rimozione dei tessuti molli dovrebbe essere eseguita solo attraverso strumenti a lama di ceramica, per evitare la possibile contaminazione da microtracce metalliche derivanti dagli strumenti di campionamento (Gentile et al., 2020 a, b, c). Infine, la contaminazione potrebbe derivare anche dall'acqua (Amadasi et al., 2015). Nel caso specifico, la testa è stata sottoposta a una macerazione prolungata in acqua e la rimozione dei tessuti molli non era stata eseguita con strumenti in ceramica. Pertanto, sulla base della letteratura forense disponibile, si è deciso di non effettuare un'analisi SEM/EDX, poiché i risultati non sarebbero stati rilevanti.

Per questo motivo è stato realizzato esclusivamente un confronto morfologico con un coltello da cucina recuperato nell'appartamento dell'assassino. Preme ribadire che se le lesioni da taglio fossero state notate all'autopsia, la procedura sarebbe stata differente.

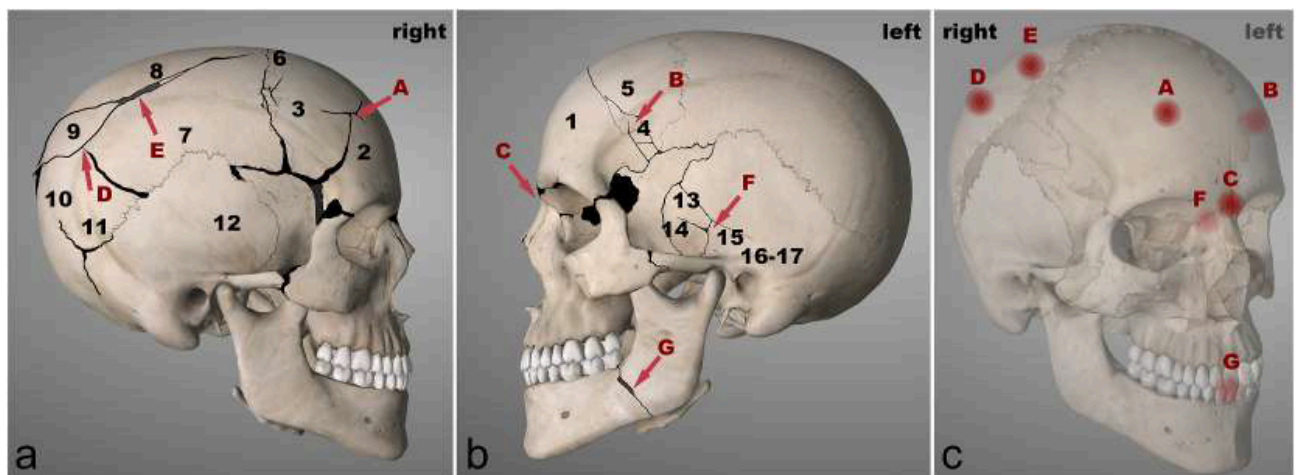


Figura 3.6.21 Diagrammi delle fratture craniche rilevate dopo la macerazione e lo studio antropologico: in a) il lato destro del cranio; in b) il lato sinistro del cranio; in c) sintesi di tutte le aree di impatto rilevate.

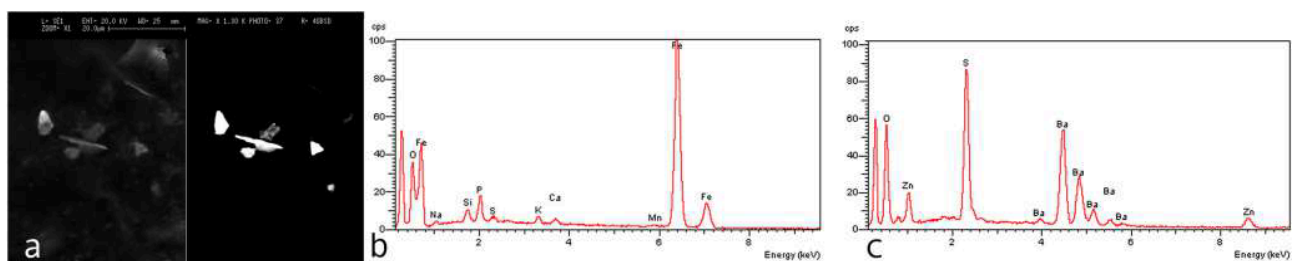


Figura 3.6.22 In a) particelle metalliche trovate nelle lesioni cutanee in regione cranica; in b) e c), microanalisi composizionale di tali particelle, principalmente costituite da Fe, Zn e Mn.

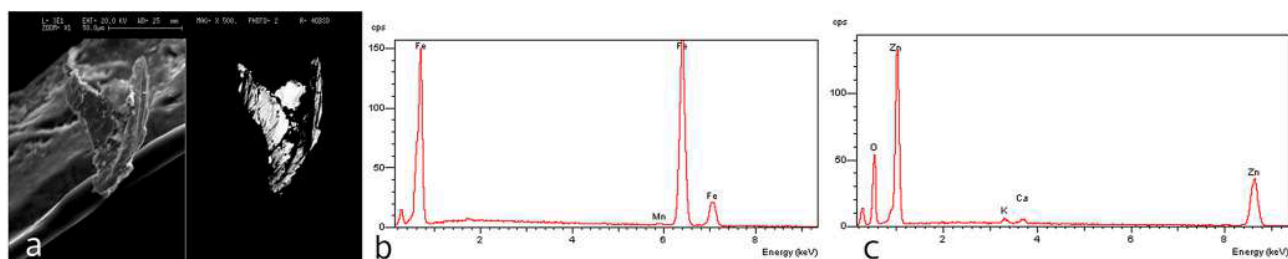


Figura 3.6.23 In a), frammenti metallici campionati dal tubo; in b) e c), microanalisi composizionale di tali frammenti, principalmente costituiti da Fe, Zn e Mn.

I 5 casi presentati sono riassunti nella tabella sottostante (Figura 3.6.24).

CASO	STATO DI CONSERVAZIONE	DI RITROVAMENTO	ANALISI ESEGUITA	EVIDENZA	UTILITÀ
1		Una porzione del nervo ottico destro all'interno di un frammento dell'osso sfenoide interessato da traumatismo da corpo contundente	Analisi istologica e colorazione con ematossiline eosina	Foci di infiltrazione emorragica	La lesione era <i>ante mortem</i>
2		- Una porzione putrefatta di cuoio capelluto - elementi ossei della regione cervicale e ascellare destra interessati da traumatismo da corpo contundente	-Analisi istologica e colorazione con ematossiline eosina -analisi immunistochemica con glicoforina	- Sui campioni di cuoio capelluto, colorazione con H&E non è risultata conclusiva. L'immunistochemica ha mostrato foci di infiltrazione emorragica - Sui campioni di cute cervicale e ascellare destra entrambe le indagini sono risultate negative	- le lesioni craniche erano Evvenute <i>ante mortem</i> - Il depezzamento era avvenuto <i>post mortem</i>
3		Un oggetto di plastica trasparente aderente alla parete mediale dell'orbita sinistra	Osservazione macroscopica	Cristallino artificiale	Supporto nell'identificazione
4		Porzione di cute apparentemente intatta	Analisi SEM/EDX	Ritrovamento di micro-tracce di polveri di calcio (ossido di calcio, CaO) e sfere metalliche di Fe, Cr e/o Ni	Collegamento tra un sospetto e la vittima
5		Diverse lesioni cutanee e ossee al capo	Analisi SEM/EDX	Coerenza tra le particelle metalliche rilevate nelle lesioni della cute e la composizione di un tubo metallico trovato sulla scena	Identificazione dell'arma del delitto

Figura 3.6.24 Tabella riassuntiva dei 5 casi sopra descritti

3.6.2.3 Discussioni

I casi presentati mostrano l'importanza di un esame esterno estremamente attento e minuzioso soprattutto quando si abbia a che fare con corpi parzialmente o totalmente scheletrizzati. In queste situazioni, infatti, data la loro intrinseca complessità, sarebbe necessario portare avanti fin da subito un approccio multidisciplinare che veda la partecipazione di medici legali ma anche di antropologi. Infatti, nonostante le somiglianze tra queste due discipline, esse rimangono spesso, purtroppo, separate: gli antropologi forensi spesso trascurano ciò che riguarda "i tessuti molli" così come i medici legali non si occupano, di solito, dei traumi sulle ossa secche (Oehmichen, 2004). Tuttavia, il ritrovamento di cadaveri parzialmente scheletrizzati richiede necessariamente una forte collaborazione tra almeno queste due discipline. Inoltre, sarebbe auspicabile, come dimostrato, il contributo di altre scienze forensi come l'entomologia, l'archeologia e la botanica, almeno nelle fasi di indagine in laboratorio se non in fase di autopsia (Caccianiga et al., 2020). Questo, naturalmente, a patto che durante questa fase ed in quella di sopralluogo vengano fatti tutti i campionamenti opportuni.

Il passo preliminare essenziale per lo studio degli elementi ossei ma anche dei tessuti molli quali la cute, consiste nella loro pulizia. Questa procedura può essere effettuata utilizzando diversi metodi più o meno aggressivi, ma, in ogni caso, si tratta di procedure irreversibili poiché alterano il reperto originale, causando la potenziale perdita di tracce ed al contempo l'apporto di elementi contaminanti dovuti agli strumenti (Silverman, 2018).

Ogni corpo, anche se in avanzato stato di decomposizione o pressoché scheletrizzato deve essere approcciato con la massima cautela per preservare e rilevare le possibili tracce sopravvissute al processo di decomposizione (Cocks et al., 2015). In verità, la stessa cautela dovrebbe essere applicata anche ai corpi ben conservati, poiché il rischio di perdere o trascurare prove forensi rilevanti, esiste anche in quelle circostanze. Tuttavia, la valutazione di resti umani parzialmente o totalmente scheletrizzati è molto più insidiosa (Ambade et al., 2011). Pertanto, prima di lavorare sulle ossa, è essenziale campionare il sedimento a contatto con le ossa stesse, eventuali residui (cioè fibre, capelli, ecc.), così come gli elementi entomologici e botanici. Inoltre, la presenza di frammenti di tessuti molli, anche se putrefatti, associati alle ossa non è assolutamente da considerarsi come un ostacolo ai fini dell'analisi, poiché potrebbe fornire comunque informazioni preziose. Pertanto, è fortemente consigliata un'ampia campionatura dei residui di tessuti molli per indagini istologiche (Oehmichen, 2004).

È noto che l'esame istologico valutato sui tessuti molli putrefatti spesso non è in grado di fornire informazioni certe sulla vitalità della ferita e sul tempo di sopravvivenza dopo il trauma, a causa dei fenomeni postmortali che alterano i tessuti durante la decomposizione (Tabata e Morita, 1997). Tuttavia, tale indagine con H&E standard non può essere ritenuta inefficace a priori in quanto può ancora evidenziare infiltrazione emorragica in scenari di tessuti relativamente ben conservati, come mostrato nel caso n. 1. A volte, tuttavia, la colorazione con H&E standard può non essere conclusiva su tessuti in avanzato stato di decomposizione, in tali casi, l'indagine immunoistochimica mirata all'individuazione della glicoforina diventa un'analisi obbligatoria. Infatti, evidenziando i frammenti di membrana dei globuli rossi, permette di identificare i focolai di infiltrazione emorragica, (Tabata e Morita, 1997; Taborelli et al., 2011) come mostrato nel caso n. 2. Un'ulteriore dimostrazione di quanto sia importante un'osservazione approfondita degli elementi ossei e della "sporcizia" o *debris*, è fornito dal caso n. 3, in cui un piccolo dispositivo protesico è stato trovato nell'orbita sinistra del cranio. Ad un esame meno attento questo reperto sarebbe stato probabilmente perso e con esso un

prezioso pezzo di informazioni utile alla ricostruzione del profilo biologico e da ultimo all'identificazione.

Tuttavia, anche in scenari di corpi mal conservati, i resti di tessuto molle e gli oggetti che sono macroscopicamente visibili sono facili da campionare, una volta identificati; lo stesso non vale per residui invisibili all'occhio nudo ma che altresì possono essere cruciali per scopi forensi e dove spesso il campionamento deve prescindere dall'identificazione. Infatti, le micro-tracce lasciate dall'aggressore sulla vittima o derivate dall'arma del delitto, così come da un determinato ambiente, possono essere identificate solo ricorrendo ad un approfondito campionamento "in cieco", seguito da esami specifici, come l'analisi in microscopia elettronica a scansione e spettroscopia (SEM/EDX). Questo è oggi uno strumento sempre più utilizzato per identificare i residui esogeni su diversi substrati cadaverici. Queste microtracce esogene possono aderire alla superficie esterna del tessuto o infiltrarsi in profondità in esso. L'analisi SEM/EDX ha dimostrato di essere estremamente versatile per scopi forensi come nei casi n. 4 e 5. Infatti, l'analisi SEM/EDX può essere sfruttata con successo per individuare residui di sparo (Merli et al., 2019; Gentile et al., 2020 a; Romolo e Margot, 2001; Wallace, 2018; Kage et al., 2001; Reid et al., 2010; Taudte et al., 2016; Amadasi et al., 2013) e microtracce dovute a ferite da corpo contundente e da taglio (Pechnikov'a et al., 2012; Gibelli et al., 2012; Gentile et al., 2020 a; Vermeij et al., 2012; Palazzo et al., 2018; Bai et al., 2007; Muccino et al., 2016) così come dovuti a elettrocuzione e strangolamento (Gentile et al., 2020 a; Boracchi et al., 2019; Maghin et al., 2018). Inoltre, può essere impiegato anche per l'analisi comparativa su residui inorganici (Croft et al., 2004; Fitzpatrick et al., 2009; Pirrie, 2018; Pirrie et al., 2019). Tuttavia, soprattutto nel caso di cadaveri in cattivo stato di conservazione, i risultati ottenuti con l'analisi SEM/EDX devono essere valutati in modo critico. Infatti, altri fattori devono essere sempre presi in considerazione, come la contaminazione ambientale o le possibili diverse fonti delle particelle rilevate (Amadasi et al., 2015). Questo vale indubbiamente per i residui di armi da fuoco (Dalby et al., 2010), ma ancor più per i traumi da corpo contundente e da taglio (Gentile et al., 2020a), poiché in questi casi le particelle coinvolte non sono spesso così specifiche come lo sono invece nelle ferite da arma da fuoco (Zadora e Brozek-Mucha, 2003). Poiché i risultati del SEM/EDX possono fornire informazioni preziose solo se correttamente valutati, potrebbe essere un approccio saggio richiedere sempre la consulenza di un esperto nella composizione chimica dei materiali.

Tuttavia, la valutazione può ancora essere impegnativa, come nel nostro caso n. 4, e il rischio di sottostimare il potenziale valore forense può essere elevato.

A prescindere tuttavia da qualsiasi difficoltà interpretativa, quando si tratta di particolato invisibile ad occhio nudo, la prima necessità è quella di agire in funzione della possibile presenza di microtracce esogene e di mettere in atto i campionamenti e le analisi del caso, prima di procedere alla pulizia dei resti (o del cadavere). Tuttavia, questo compito non è sempre facile da realizzare, come nel caso n. 5, dove, ci si è accorti delle ferite da taglio solo dopo aver lavato e pulito le ossa e quindi troppo tardi per eseguire campionamenti per l'analisi SEM/EDX.

Infine, ogni volta che i patologi o gli antropologi forensi hanno a che fare con resti umani parzialmente o totalmente scheletrizzati, prima di procedere con la loro pulizia, devono esaminare accuratamente l'intero scheletro per campionare qualsiasi prova potenzialmente utile a fini forensi.

In particolare, eventuali residui di tessuti molli, anche se putrefatti e apparentemente non informativi, dovrebbero essere campionati per essere sottoposti a indagini istologiche. Poi, si dovrebbe considerare se microtracce esogene possano essersi depositate sui resti in esame, senza dare nulla per scontato o escludere alcuna ipotesi. Per queste ragioni, i patologi forensi e gli antropologi dovrebbero avere l'accortezza di prelevare campioni da qualsiasi zona di interesse per essere analizzati a fondo.

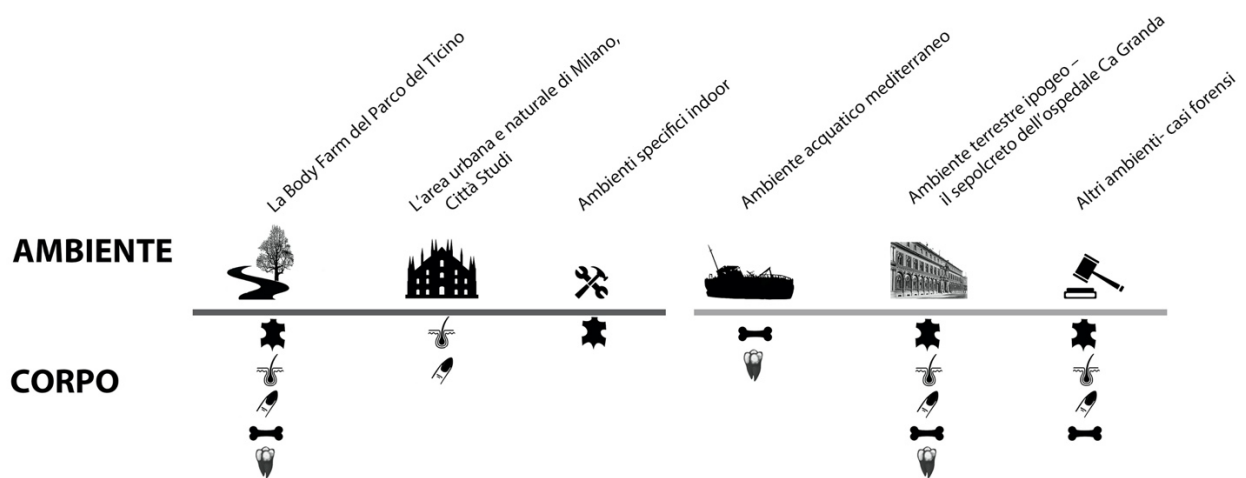
Solo dopo aver preso tutte queste precauzioni, le ossa possono essere pulite e lavate per valutare in dettaglio le loro caratteristiche ed eventuali segni di trauma. Tali criticità, sebbene presenti nella pratica forense quotidiana, sono scarsamente affrontate in letteratura.

Questi cinque casi dimostrano chiaramente che informazioni cruciali per le successive indagini possono essere ottenute attraverso l'analisi di substrati corporei estremamente compromessi, come tessuti molli parzialmente decomposti o ossa imbrattate di materiale di varia natura possono conservare tracce esogene, come il micro particolato ambientale inorganico, ed endogene, come le infiltrazioni in corrispondenza di una lesione, in grado di far luce su ambienti, dinamica e soggetti coinvolti in un evento violento. L'eliminazione incauta e inconsapevole di tali prove significherebbe inevitabilmente perdere informazioni preziose.

4. Riflessioni conclusive sulle sei linee di ricerca esposte

L'obiettivo di questo progetto di dottorato era di indagare l'interazione corpo-ambiente in contesto forense, nel suo diverso declinarsi in funzione dell'ambiente stesso e del substrato corporeo, attraverso lo studio delle tracce che questa interazione genera quale inevitabile esito, in accordo con il Principio di Interscambio di Locard (1934).

Sono state sviluppate sei linee di ricerca, tre in contesto controllato e tre in contesto non noto; in ciascuna di esse il corpo è stato indagato quale accettore di tracce mediante lo studio di uno o più dei suoi substrati, parimenti è stato indagato l'ambiente quale generatore di tracce e/o fattore di alterazione. Ambienti terrestri naturali epigei, ipogei, ambienti antropizzati specifici indoor e outdoor nonché l'ambiente acquatico marino, sono stati oggetto del presente studio. Parallelamente cute, capelli, unghie, denti e ossa sono stati indagati quali ricettori di tracce in funzione delle loro intrinseche caratteristiche, nonché dell'ambiente di permanenza. In alcuni casi lo studio ha potuto beneficiare di condizioni di partenza note e di un monitoraggio in itinere di ambiente e corpo, in altri invece, le condizioni iniziali erano ignote cosicché ambiente e corpo sono stati indagati solo a posteriori. Se le cinque linee di ricerca sono state quindi l'occasione di raccogliere informazioni e di ampliare le conoscenze in merito all'interazione corpo ambiente la sesta e ultima è stata l'occasione di mostrare l'applicazione di tali sperimentazioni in contesto reale. Nelle pagine che seguono verranno riportate le considerazioni finali e le prospettive future di ciascuna linea trattata, inoltre verrà discussa nel suo complesso la macro tematica che le vede connesse.



Ambienti noti: La body farm del Parco del Ticino

La prima linea di ricerca, la piccola *body farm* con corpi animali, ha rappresentato un ottimo controllo per quanto riguarda la persistenza dei substrati corporei e l'effetto che su di essi hanno le diverse variabili esogene ed endogene. Uno dei fattori ambientali che ha dimostrato di giocare un ruolo dominante nella persistenza del corpo e dei suoi substrati è la temperatura; in accordo con la letteratura (Mann, 1990; Campobasso et al., 2001), temperature più basse, soprattutto nei primi intervalli post mortali, rallentano il processo decompositivo. Esse, infatti, da un lato decelerano i fenomeni putrefattivi, ostacolando lo sviluppo dei batteri e dall'altro risultano ostili per la maggior parte dell'entomofauna e quindi determinano una minore colonizzazione del cadavere da parte della stessa (Brock et al., 1988; Campobasso et al., 2001; Byers, 2017; Pokines, 2013), al contempo però

è stata osservata un'eccezione a questo trend generale, basse temperature sembrano essere responsabili, infatti, anche di comportamenti distruttivi verso il cadavere messi in atto da alcuni animali per far fronte alle condizioni climatiche ostili; è il caso della scomparsa precoce dei capelli, altrimenti estremamente persistenti, nella serie di campioni messi in ambiente in febbraio (Allsopp e Seal 1986; Rodriguez, 1997). La generale migliore conservazione del cadavere nella stagione invernale è messa bene in evidenza dall'analisi comparata tra l'indice TBS delle due serie, ma anche dalla valutazione dello stato di degradazione della cute, substrato deteriorabile che tuttavia si conserva maggiormente nei campioni posti in ambiente durante il periodo invernale.

Se grandi variazioni nel luogo di permanenza hanno ragionevolmente un effetto sull'iter di decomposizione modificando condizioni ambientali quali la sopracitata temperatura, spostamenti nell'ordine di pochi metri, come quelli esistenti tra i diversi campioni oggetto di questo studio, non sembrano modificarlo in maniera significativa e risultano un fattore secondario a caratteristiche endogene quali leggere differenze di peso e intervallo post mortale. È stato notato ad esempio come la maggiore o minore quantità di massa grassa sembri influire sul tasso di colonizzazione da parte dell'entomofauna; i campioni con minore massa grassa sembravano più appetibili per gli insetti, in particolare i ditteri.

Agenti chimici quali variazioni di pH, in accordo con la letteratura, hanno generato rari casi di alterazione cromatica su alcuni campioni di capelli; tuttavia, la sporadica apparizione porta a ipotizzare che anche in questo caso fattori endogeni quali alterazioni pregresse del capello possano aver giocato un ruolo fondamentale lasciando all'ambiente il ruolo di fattore scatenante (Wilson, 2017).

Considerando quindi il rapporto tra tracce e substrati, alla luce di quanto visto finora emerge come la cute sia il principale substrato accettore di tracce soprattutto nei primi intervalli post mortali. Tuttavia, la relativa deteriorabilità della cute tende a penalizzarla su intervalli post mortali più lunghi, superiori al mese, in favore dei capelli, i quali, pur meno efficaci come trattenitori di tracce, beneficiano di un'elevata persistenza (Horvath, 2009; Velasco et al., 2009; Wilson et al., 2010; Mazzarelli et al., 2015; Sguazza et al., 2016). I capelli, infatti, si sono dimostrati un substrato selettivo nei confronti delle tracce, prediligendo, per le loro caratteristiche fisiche, elementi più leggeri e di dimensioni ridotte. Come osservato altresì, tanto la deteriorabilità della cute quanto la persistenza dei capelli possono subire gli effetti della stagione e delle caratteristiche peculiari dell'ambiente che in alcuni casi possono perfino invertire questi rapporti di forza.

Per quanto riguarda le tracce biologiche di origine umana la determinazione, che in questo caso era esclusivamente di tipo morfologico, è risultata strettamente correlata al colore del substrato e della traccia cosicché la combinazione sangue-cute come quella sperma-capelli, risultano più favorevoli alla visualizzazione, rispetto a quella sangue-capelli e sperma-cute. Questo dato risulta coerente con quanto osservato in letteratura su tecniche che, pur con l'ausilio di strumentazioni quali luci forensi, sono tuttavia legate all'osservazione morfologica (Wee-Chuen e Bee-Ee, 2010; Sterzik et al., 2016). Riguardo ai fattori esogeni, sicuramente le piogge risultano elemento determinante; la loro presenza e abbondanza, soprattutto nei primi intervalli temporali, può compromettere infatti la persistenza della traccia; tale evidenza, desunta dalla semplice osservazione macroscopica, risulta coerente con quanto verificato in letteratura attraverso tecniche di determinazione specifica (Hall et al., 2004; Burger et al., 1999; Gates, 2009; Lindahl, 1993).

Per quanto riguarda le tracce botaniche è possibile osservare come l'interazione tra il corpo e l'ambiente si concretizzi molto rapidamente, nel corso di massimo 24 ore, in tracce macroscopiche e microscopiche di natura botanica. Tali tracce sono in grado fin da subito ed indipendentemente dalla

stagione di dare informazioni sulle caratteristiche ecologiche dell'ambiente di provenienza di un corpo. L'analisi quindi delle tracce botaniche presenti sul corpo sarà in grado tanto di delineare, da un punto di vista ecologico, l'ambiente di provenienza, quanto di evidenziare eventuali incompatibilità, come dimostrato dai campioni sottoposti a spostamento; tali tracce risultano tuttavia poco persistenti nelle condizioni testate. Va sottolineato che, questo risultato è strettamente condizionato dal tipo di evidenza e alla sua persistenza, estremamente variabile in funzione dell'oggetto considerato, per esempio una foglia rispetto ad un seme; al contempo però, più un elemento è soggetto a rapido deterioramento maggiore sarà la sua attendibilità di traccia poiché raramente potrà essere esito di contatti datati e non pertinenti il fatto in esame.

Le tracce botaniche inoltre sono in grado di fornire informazioni di tipo temporale consentendo di determinare quello che viene definito il minimo *post mortem interval*, questo dato, ben noto in letteratura, è stato confermato dalle osservazioni dello studio in esame. Sulla maggior parte dei campioni, infatti, sono stati rinvenuti elementi in grado di fornire un dato temporale con risoluzione stagionale o anche sub stagionale.

Ambienti noti: L'area urbana e naturale di Milano Città Studi

Le analisi, condotte su campioni di capelli contaminati con sangue e sperma, hanno confermato la persistenza dei capelli, che infatti sono apparsi macroscopicamente inalterati per tutto l'intervallo sperimentale; essi possono fungere dunque da substrato per tracce di varia natura nei primi intervalli post mortali, ma anche in quelli più avanzati (Wilson, 2017). Parimenti, l'unghia è un substrato estremamente persistente data la medesima composizione cheratinica, cosicché, anch'essa può costituire un substrato di interazione diretta verso il quale rivolgere l'attenzione anche sul lungo periodo (Wilson, 2017). Entrambi i substrati, al contempo, per la loro morfologia e localizzazione, risultano luogo di ricerca preferenziale per tracce esito di dinamiche specifiche, è il caso della violenza sessuale per i capelli, durante la quale la vittima è spesso a terra, cosicché i capelli più facilmente entrano in contatto con i fluidi biologici dell'aggressore (Enos, 1981). Allo stesso modo, l'iponichio cattura tracce esito generalmente di dinamiche di azione o difesa che la vittima mette in atto nei confronti di una persona (ISTAT, 2017) o anche di un oggetto, quale l'arma del delitto, ma che può coinvolgere anche l'ambiente, qualora la vittima tenti di aggrapparsi o di afferrare qualcosa. Entrambi i substrati hanno quindi un'azione selettiva sulle tracce per la dinamica che li vede coinvolti ma anche per la loro stessa morfologia, è il caso della distribuzione dei fluidi sui capelli o della alterazione morfologica esercitata sul particolato ambientale dall'unghia in termini di aggregazione, dimensione e morfologia prevalente del particolato raccolto; elementi che devono essere considerati nell'analisi e nell'interpretazione di questo tipo di tracce.

Le tracce di sangue e sperma, d'altro canto hanno dimostrato di essere identificabili attraverso diverse tecniche anche dopo 3 mesi. Tuttavia, è stato altresì osservato che, con l'aumentare del tempo di esposizione in ambiente aperto, la rilevabilità delle tracce diminuisce; al contrario, la durata del tempo trascorso in un ambiente controllato non sembra influenzare le caratteristiche strutturali del fluido e quindi inficiarne l'identificabilità. Per quanto riguarda le tracce da iponichio, un residuo almeno parzialmente compatibile con il materiale di origine è stato osservato anche diverse ore dopo il campionamento. In entrambi i progetti quindi oltre all'elevata persistenza del substrato è stata mostrata la persistenza del reperto; tuttavia, se per i fluidi biologici da capelli sono state condotte analisi a vari gradi di specificità fino all'indagine genetica, nel caso delle tracce ambientali e merceologiche da unghia sono state condotte solo indagini esplorative volte a valutare la compatibilità

del campione con il materiale di origine ma non in grado di realizzare una determinazione univoca dello stesso. Le tecniche utilizzate per la determinazione dei fluidi biologici, selezionate tra le comuni tecniche presenti nei protocolli in uso alle forze dell'ordine, sono risultate efficaci e idonee al substrato selezionato tanto da consentire di suggerire, per i due fluidi considerati, protocolli di indagine specifica. Per quanto riguarda il residuo iponichiale, si è dimostrato come un primo e attento screening morfologico mediante microscopio episcopico e ottico può essere un valido strumento non invasivo e non distruttivo per l'analisi di questo materiale, che poi sarebbe auspicabile sottoporre ad indagini specialistiche, mediante per esempio analisi spettroscopica, genetica o morfologica di dettaglio mediante microscopia elettronica.

Ambienti noti: Ambienti specifici indoor

L'analisi del micro particolato presente su cute ha permesso di identificare un pool di elementi chimici ubiquitari e onnipresenti, una sorta di "rumore di fondo", composto da elementi la cui presenza, avulsa da un dato di frequenza, non è in grado di fornire utili informazioni sull'ambiente d'origine del soggetto. Al contempo si è osservato che non sempre vi è una corrispondenza tra i residui organici e inorganici nell'ambiente e i residui sulla cute. Tuttavia, è stato altresì possibile identificare alcuni elementi chimici caratteristici, da un punto di vista quali o quantitativo, di determinati ambienti e della cute dei relativi lavoratori, in particolare sembrerebbe che ambienti la cui natura implichi la presenza e la dispersione di abbondante particolato omogeneo, come la panetteria o la fonderia, lascino tracce riconoscibili sulla cute.

Per quanto riguarda il rapporto tra cute coperta e scoperta, sembra che i normali indumenti non siano in grado di costituire una barriera efficace per il particolato, cosicché cute coperta e scoperta risultano contaminate dai medesimi elementi esogeni, pur se con differenze quantitative, discorso diverso naturalmente per elementi endogeni, quali il cloro, che risulta più presente su cute coperta.

Considerando poi la variabile contatto vs esposizione, il particolato è risultato generalmente più abbondante sui campioni posti a contatto, differenza particolarmente evidente sui campioni osservati ad occhio nudo ma meno marcata quando si utilizzano tecniche di indagine più approfondite. Quindi, il contatto diretto tra il corpo e l'ambiente sembra essere un elemento importante per il ritrovamento di particolato macroscopicamente visibile ma anche un elemento estremamente favorevole al rinvenimento di particolati microscopico, anche se non indispensabile, soprattutto nel momento in cui sono coinvolti ambienti in cui vengono eseguite lavorazioni che implicano grande dispersione di particolato, nonché non indispensabile per l'individuazione di particolato qualora si faccia uso di tecniche quali il SEM-EDX. Mentre, la presenza di peli non sembra influenzare significativamente la ritenzione del particolato.

In merito alle tecniche, lo studio ha dimostrato l'efficacia del campionamento tramite *stub* in grafite (come tipicamente utilizzato per il campionamento dei residui di sparo per esempio: Wallace, 2018, Kage et al., 2001; Taudte et al., 2016) per la raccolta di micro particolato organico e inorganico, senza che si evidenzino un effetto significativo dato dalle differenze tra cute vitale e non vitale. Quest'ultima, infatti, va incontro a fenomeni trasformativi fin dai primi intervalli post mortali (Shedge et al., 2020; AMBOSS, 2020), tuttavia, nessuno di questi fenomeni sembra inficiare il campionamento tramite *stub*. Anche la relativa analisi mediante SEM-EDX è risultata estremamente efficace consentendo una simultanea analisi chimica e morfologica di estremo dettaglio, seppur limitata al tipo di elemento; tuttavia, la sperimentazione su cute animale ha visto l'utilizzo di un protocollo più conservativo, che contemplava in successione l'utilizzo di tecniche di screening quali osservazione macroscopica e in microscopia episcopica, l'analisi in spettroscopia XRF, e, solo secondariamente, l'analisi distruttiva

mediante SEM-EDX. Tale protocollo beneficia per l'appunto di una maggiore conservatività verso le tracce ed anche di una maggiore economicità, riservando alle analisi di estremo dettaglio solo i campioni più promettenti. Tale approccio conservativo implica tuttavia l'analisi diretta del particolato dalla cute senza rimozione dello stesso, analisi che potrebbe essere complicata dall'alterarsi della cute stessa. In merito a questo, al momento è stato dimostrato che la cute ha mantenuto le sue caratteristiche sufficientemente da non inficiare l'analisi almeno per i 30 giorni della sperimentazione; in ambiente controllato, tuttavia, non è ancora stato valutato l'effetto del tempo combinato a quello di un ambiente aperto soggetto a piogge, variazioni di temperatura ed altri fattori di disturbo.

La ricerca ha dimostrato quindi come cute integra, anche apparentemente pulita, può trattenere tracce che, se correttamente interpretate, possono fornire utili informazioni sull'ambiente di provenienza di un corpo. Le tracce raccolte possono conservarsi anche per un discreto intervallo di tempo, in condizioni controllate, così come il loro substrato, la cute. Tuttavia, per la verifica dell'efficacia del protocollo conservativo proposto, in condizioni critiche, la persistenza di tracce e substrato andrebbe esaminata con intervalli sperimentali più lunghi ed ambienti maggiormente "aggressivi" ma anche su campioni più completi, come piccole carcasse animali, che quindi riproducano in modo più coerente i processi decompositivi dell'intero cadavere. Inoltre sarebbe auspicabile una volta testatane l'efficacia in questo contesto, inserire nel protocollo tecniche altrettanto non distruttive e in grado di andare oltre la composizione elementare determinando i composti chimici possibilmente sia organici che inorganici come la spettroscopia Raman, tecnica ormai considerata dalla letteratura di genere come la nuova frontiera di molte indagini o l'E-SEM (Environmental-SEM) più precisa e pratica della tecnica tradizionale (Doty et al., 2016; Thompson et al., 2009).

Ambienti non noti: ambiente acquatico mediterraneo - il naufragio del 18 aprile 2015

L'analisi tafonomica su resti ossei riveste una grande importanza in contesto forense sotto diversi aspetti, la comprensione dei fenomeni post mortali che hanno agito su un elemento può essere determinante per comprendere il luogo nel quale questo ha trascorso in toto o in parte l'intervallo post mortale, così come le dinamiche che in quel luogo hanno avuto atto, ma può essere di aiuto anche per comprendere la durata dello stesso intervallo post deposizionale e quindi un minimo intervallo post mortale. Ancora, l'indagine tafonomica può essere fondamentale per interpretare correttamente le tracce a disposizione consentendo di discriminare un segno tafonomico da uno di lesività o patologico (Labbè et al., 2021).

Il campione indagato in questo progetto ha fornito la possibilità di condurre un'indagine tafonomica dettagliata sugli effetti della permanenza in ambiente marino Mediterraneo, un sito ad oggi poco noto e indagato dalla letteratura di genere. Un sito tuttavia noto, purtroppo, per essere la tomba di migliaia di vittime dell'immigrazione (IOM, 2021), fatto che ne rende lo studio di primaria importanza per poter comprendere al meglio le tracce che queste vittime portano su di sé, contribuendo anche a dare risposta alla questione identificativa, primaria per queste vittime ed estremamente complessa, dove quindi la multidisciplinarietà dell'analisi può essere, a medio lungo termine, decisiva.

Indagini tafonomiche di dettaglio infatti possono contribuire alla riassociazione di elementi commisti, costituenti una parte importante dei resti delle vittime del naufragio del 18 aprile 2015. Inoltre, come accennato, può agevolare la corretta interpretazione di alcune tracce evitando ad esempio di attribuire ad un soggetto una patologia dove invece i segni potevano avere un'origine post mortale. Attualmente sono state raccolte tracce tafonomiche di varia natura da oltre 550 elementi ossei riconducibili a 252

individui e tutte sono state descritte e classificate, per quanto riguarda le tracce biologiche ci si è attualmente limitati ad una classificazione per morfotipi e solo alcune tipologie sono state interpretate in termini di organismo responsabile: i tre tipi di tracce attribuiti al genere *Osedax* e le due, attribuite a lesioni da squalo. Sarebbe auspicabile infatti che, parallelamente alla fase di descrizione e classificazione delle tracce biologiche, venisse portata avanti un'analisi interpretativa multidisciplinare che vedesse la partecipazione di antropologi ma anche di biologi marini. La tafonomia di ambiente marino è infatti tutt'ora poco nota in contesto antropologico, quando si tratta di tracce biologiche, specialmente se imputabili a piccoli organismi necrofagi, uno studio sinergico potrebbe quindi costituire il modo per sanare questa lacuna conoscitiva ed allontanare i rischi di mala interpretazione quando si studino resti ossei provenienti da questo ambiente. Nel complesso comunque quello in esame è uno dei pochi, a conoscenza degli autori, studi di dettaglio sulla tafonomia di un così ampio pool di resti provenienti dal Mar Mediterraneo, le evidenze raccolte sono, nel complesso, risultate coerenti con quanto noto sull'ambiente di permanenza e nello specifico sui diversi micro ambienti dati dai settori della barca, dimostrando quindi che le tracce considerate sono piuttosto specifiche e correttamente interpretabili per comprendere il contesto di origine. Si è osservata anche una coerenza rispetto al dato temporale, il campione infatti presentava PMI noti e variabili, costituenti una sorta di linea temporale lungo la quale si è potuto osservare un aumento di quantità e varietà delle tracce biologiche ed in particolare di quelle attribuite ad *Osedax*, mostrando potenzialità per diventare uno strumento pur se ausiliario per la stima dell'intervallo post deposizionale in questo contesto. Il fattore tempo è risultato tuttavia subordinato al fattore ambiente, infatti ambienti semi chiusi, difficilmente accessibili, hanno mostrato una generale scarsità di tracce biologiche su tutto l'intervallo. Il microambiente è risultato avere un effetto anche sul quantitativo di tartaro dentale; l'ambiente mare, più aperto e soggetto agli agenti fisici e chimici rispetto agli altri settori della barca, infatti, presentava crani con quantitativi di tartaro inferiori ed evidenti segni di perdita recente del deposito. Uno studio tafonomico, almeno in questi ambienti, risulta quindi auspicabile come indagine preliminare per poter correttamente interpretare gli esiti anche di indagini diverse, come quella nutrizionale. Stante ciò, il quantitativo di tartaro nella popolazione è risultato mediamente abbondante in accordo con uno scarso accesso alle cure dentali. Per quanto riguarda il contenuto della placca ne è risultato complessivamente una dieta composta da cereali minori con prevalenza della sottoclasse "sorgo/mais". I cereali, costituiti da grano, segale e orzo, risultano relativamente poco abbondanti forse perché destinati prevalentemente all'esportazione oppure in quanto sostituiti con specie locali. I legumi sono risultati piuttosto scarsi mentre abbondante la categoria dell'indeterminato.

Quelli fin qui ottenuti dall'analisi del tartaro sono risultati ancora preliminari, estrapolati da un piccolo sottocampione, e sui quali pesa l'handicap di una collezione di confronto non ottimale. Tuttavia, anche questo frangente di studio del campione si è rivelato promettente soprattutto considerate le specificità dello stesso, un campione in cui dati a supporto per la determinazione dell'origine geografica potrebbero essere determinanti per la riuscita del processo identificativo. L'implementazione del campione e l'interpretazione dell'amido con una collezione specifica per quelle che si presume, da dati circostanziali, essere i paesi di origine delle vittime, è già in corso di svolgimento e si prevede potrà avere esiti interessanti. Va sottolineato inoltre che, a conoscenza degli autori, è uno studio pressoché unico nel panorama letterario attuale, dove questo tipo di indagini sono confinate al contesto archeologico ma che invece sembrano ben adattarsi anche a popolazioni attuali dove il difficile accesso alle cure dentarie e le diete ancora legate in parte al contesto locale,

riconducibili quindi a contesti rurali o comunque gravati da condizioni politico sociali complesse come quelle in oggetto, rendono la placca dentaria un deposito di preziose informazioni.

Ambienti non noti: ambiente terrestre ipogeo – il sepolcreto dell’ospedale Ca’ Granda

Il sito archeologico di Milano Ca’ Granda assomma un indubbio valore storico ed un valore ed un interesse tafonomico, giustificato, come si è visto, dalle peculiari caratteristiche ambientali.

In questo ambiente infatti, sono stati rinvenuti, oltre a reperti ossei, anche altri elementi di interesse antropologico come capelli, unghie e tessuti molli, elementi naturalistici, botanici ed entomologici e elementi merceologici; un pool di oggetti, potenziale prezioso archivio di informazioni per arricchire le conoscenze sulla popolazione in esame ed al contempo per ampliare le conoscenze sui processi tafonomici di questo peculiare ambiente. La presenza di elementi solitamente non abbastanza persistenti da sussistere in contesti archeologici ha permesso di arricchire le conoscenze in merito alla popolazione milanese dell’epoca, tuttavia l’indagine tafonomica degli stessi è risultata altresì indispensabile per la loro corretta interpretazione, è il caso delle alterazioni cromatiche e morfologiche che hanno afflitto le formazioni piliferi rinvenute ma anche della conservazione preferenziale di alcuni tessuti molli, dovuta al subentrare di fenomeni conservativi quali mummificazione e saponificazione. La comprensione di tali fenomeni post mortali inoltre ha permesso di implementare le conoscenze in merito alle dinamiche del sito e in più di un caso di confermare le fonti storiche, come quelle relative alle periodiche inondazioni delle camere sepolcrali. La catalogazione di materiale di origine naturalistica ha rappresentato una base di partenza per studi specialistici futuri che potranno fornire informazioni ulteriori sulle vicende che hanno interessato la popolazione.

Infine, l’indagine paleo nutrizionale sul tartaro dentale ha consentito di disporre di un dato scientifico a supporto delle informazioni di archivio relative alle abitudini alimentari della popolazione milanese dell’epoca e più in particolare dei degenti dell’ospedale (Castelvetto, 1614; Faas e Whiteside, 2005). Ne è emersa un’alimentazione basata sul consumo di cereali e legumi le cui tipologie, pur con qualche necessaria precisazione, ben si accordano con quella che era nota essere l’alimentazione delle classi meno agiate. Inoltre, ritrovamenti particolari, come l’equiseto, hanno portato ad interessanti sviluppi nel comprendere le difficoltà patite da questa popolazione ed avvalorate anche dalla presenza di molteplici segni di stress sull’osso.

Attualmente sia l’analisi tafonomica che la catalogazione del materiale non osseo sono ancora in corso di studio, ampliamenti del campione a approfondimenti nelle indagini, infatti, potranno arricchire le conoscenze e aiutare a comprendere le interazioni tra i cittadini milanesi dell’epoca e il loro ambiente di vita, nonché di morte.

Ambienti non noti: Ambienti specifici – casi forensi

L’ultima linea di ricerca ha mostrato, tramite l’analisi di molteplici casi forensi, alcune applicazioni delle precedenti linee sperimentali in contesti reali e non controllati; è il caso delle tracce botaniche mostrate nei primi 8 casi citati, con le relative informazioni spaziali e temporali, o del particolare su cute, mostrato nel penultimo e nell’ultimo caso citato, in grado di connettere vittima e reo o arma del delitto. Come è noto il “caso” può costituire il punto di arrivo ma anche, spesso, il punto di partenza per la sperimentazione scientifica, come mostrato nel caso del frammento di corteccia o delle cuticole vegetali.

Sono stati distinte due tematiche mediante le quali i 17 casi raccolti sono stati suddivisi: le evidenze botaniche nella loro molteplicità di forme e applicazioni forensi e l'approccio al substrato corporeo, nella sua molteplicità di stati di conservazione, e delle tracce che esso può nascondere. Se da un lato è ben noto come ogni caso sia diverso dal successivo e sia quindi del tutto utopistico ipotizzare di realizzare delle linee guida universali, tuttavia, si è voluto con questa raccolta mostrare come un approccio olistico alla scena possa essere decisivo al buon fine di un'indagine, rinnovando la raccomandazione fatta da Salvatore Ottolenghi (1910), a che il sopralluogo ma anche l'autopsia, che altro non è se non il sopralluogo del corpo, sia un "portrait parlé", "ritratto parlato" della scena stessa volto alla salvaguardia di tutti gli elementi in essa contenuti. Oggi, tecniche di indagine nuove, quali la spettroscopia, la microscopia elettronica, le indagini radiologiche ed immunoistochimiche, hanno aumentato esponenzialmente il potere informativo degli elementi; tuttavia, senza il corretto approccio ad essi tutto questo potenziale rimarrà inespresso. In alcuni casi, inoltre, come nel caso delle evidenze botaniche, spesso non è neanche necessario ricorrere a tecniche avveniristiche, benché genetica e indagini chimiche siano entrate anche in questo ambito, la casistica riportata ha mostrato come indagini tradizionali siano spesso sufficienti, tuttavia anche in questo caso, si tratterà di elementi dal potenziale inespresso, senza un corretto approccio ad essi ed alla scena. Approccio che, come descritto, non necessita obbligatoriamente di personale specialistico ma solo di alcuni accorgimenti minimi. In alcuni casi infatti, anche a fronte delle immense possibilità offerte dalla tecnologia moderna, l'approccio migliore alle prime fasi di indagine in contesto forense, è quello di rifarsi ai principi dei padri di queste discipline, Edmond Locard, con il suo principio di interscambio (Locard, 1930) o Ottolenghi con il suo ritratto parlato (Ottolenghi, 1910), avevano già colto l'essenzialità di una visione olistica in un mondo interconnesso ed in cui per ogni interconnessione vi sarà una o più tracce a testimoniarla.

5. Conclusioni

Comprendere le cause e la modalità della morte, comprendere l'epoca della morte, comprendere quale sia la scena del crimine ma anche chi è la vittima, queste sono le principali domande dell'indagine forense che veda un corpo o dei resti umani quali protagonisti. Così come le tracce che consentiranno di darvi risposta, anche le domande dell'indagine criminalistica sono interconnesse: la risposta ad una di esse agevolerà quella ad un'altra e così via. Di fronte a queste domande non si può prescindere dall'indagare la relazione corpo ambiente, relazione che si esplica, come si è visto, a molteplici livelli, generando tracce ed evidenze ma al contempo alterando e nascondendo evidenze pregresse, fornendo strumenti per rispondere ad alcune domande e complicando l'interpretazione di quelli necessari per la risoluzione di altre. Non fa eccezione il caso dell'identità della vittima: se in molti casi determinarla costituisce il punto di partenza che indirizzerà le successive ricerche, in altri essa risulta il fine ultimo dell'indagine. Esempio ne sono le vittime del naufragio del 18 aprile 2015, di cui si è discusso nel capitolo 3.5 e di molti altri disastri avvenuti in contesti analoghi. In quanto quindi fine ultimo di un lungo processo di indagine che passa anche per analisi tafonomiche, nutrizionali e naturalistiche, il resoconto di questi tre anni di ricerca si conclude con un brevissimo cenno ad alcuni studi condotti sulla tematica dell'identificazione in contesti difficili quali quello dei flussi migratori.

Questi studi, culminati in tre pubblicazioni ed in altri lavori ancora in corso, hanno affrontato la questione della strategia che l'Italia sta mettendo in atto per fronteggiare la problematica delle vittime senza identità (Cattaneo et al., 2020; Cattaneo et al., 2022). Questione che vede l'Italia in prima linea per la sua collocazione geografica e che non può essere ignorata senza ledere i diritti umani di coloro che queste vittime le cercheranno per anni rimanendo in un limbo giuridico ed emotivo che spesso dà adito a problematiche psichiche e fisiche gravi, come ampiamente descritto nella seconda pubblicazione riportata (Mazzarelli et al., 2021). Infine, si riporta un ultimo studio che si propone di rivalutare l'utilizzo di materiale, quali immagini e video, a supporto dell'identificazione, dimostrando il valore che questo può avere in contesti dove altri tipi di dati *ante mortem* possono essere estremamente scarsi o del tutto assenti, si fa riferimento in particolare a: cartelle cliniche, immagini radiografiche e DNA (Cappella et al., 2021).

La tematica dell'identificazione, relegata in queste ultime righe, è tuttavia pregnante tutto il lavoro del laboratorio dove i tre anni di ricerca sono stati condotti; per tale ragione non poteva essere assente nel presente elaborato quale sua fisiologica conclusione; in quanto, solo mantenendo le giuste finalità prospettive, è possibile operare al meglio per quello che è il fine ultimo: la ricerca di verità, dignità e giustizia, senza trasformare la scienza in mero esercizio di stile.

Riferimenti bibliografici

- Abdel-Fattah HM, Moubasher AH, Maghazy SM (1982) Keratinolytic fungi in Egyptian soils. *Mycopathologia* 79: 49–53.
- Adam D (2019) EXCLUSIVE: UK to open first ‘body farm’ for forensic research. *Nature news* 569:167-168. Disponibile a: 10.1038/d41586-019-01436-8 <https://www.nature.com/articles/d41586-019-01436-8>
- Adams DE, Presley LA, Baumstark AL, Hensley KW, Hill AL, Anoe KS, Campbell PA, McLaughlin CM, Budowle B, Giusti AM, Smerick J, Baechtel F (1991) Deoxyribonucleic Acid (DNA) Analysis by Restriction Fragment Length Polymorphisms of Blood and Other Body Fluid Stains Subjected to Contamination and Environmental Insults. *J Forensic Sci* 36 (5): 1284–1298.
- Agosti G, Stoppa J (2017) *La Ca’Granda: Da Ospedale a Università: Atlante Storico-Artistico*. Rome: Officina Libraria 6: 67–71
- AILF (2015) *Violenza Sessuale - Protocollo per Gli Adulti*. Disponibile a: http://www.ailf.eu/files/works/violenza_sessuale_protocollo.pdf
- Albini G (1993) *Città e Ospedali Nella Lombardia Medievale*. Clueb, Bologna.
- Alexander AJ (1956) Bone carrying by a porcupine. *S Afr J Sci* 52:257–258.
- Ali EM, Edwards HG, Hargreaves MD, Scowen IJ (2008) Raman spectroscopic investigation of cocaine hydrochloride on human nail in a forensic context. *Anal Bioanal Chem* 390(4):1159–1166.
- Ali EM, Edwards HG, Hargreaves MD, Scowen IJ (2009) Detection of explosives on human nail using confocal Raman microscopy. *J Raman Spectrosc* 40(2):144–149.
- Allaire MT, Manhein MH (2009) Shark-inflicted trauma on human skeletal remains. *Proceedings of the American Academy of Forensic Sciences* 15:317–318.
- Allaire MT, Manhein MH, Burgess GH (2012) Shark-inflicted trauma: A case study of unidentified remains recovered from the Gulf of Mexico. *J Forensic Sci* 57:1675–1678.
- Allison PA, Smith CR, Kukert H, Deming JW, Bennett BA (1991) Deep-water taphonomy of vertebrate carcasses: A whale skeleton in the bathyal Santa Catalina Basin. *Paleobiology* 17:78–89.
- Allsopp D, Seal KJ (1986) *Introduction to biodeterioration*. 2nd ed. Edward Arnold, London.
- Amadasi A, Gibelli D, Mazzarelli D, Porta D, Gaudio D, Salsarola D, Brandone A, Rizzi A, Cattaneo C (2015) Assets and pitfalls of chemical and microscopic analyses on gunshot residues in skeletonized bodies: a report of five cases. *Int J Leg Med* 129:819–824.
- Amadasi A, Mazzarelli D, Oneto C, Cappella A, Gentilomo A, Cattaneo C (2019) Dismemberment and tool mark analysis on bone. In: Ross AH, Cunha E (eds) *Dismemberments. Perspectives in Forensic Anthropology and Legal Medicine*. Academic Press, London, LDN, pp 113–131.
- Amadasi A, Merli D, Brandone A, Poppa P, Gibelli D, Cattaneo C (2013) The survival of gunshot residues in cremated bone: an inductively coupled plasma optical emission spectrometry study. *J Forensic Sci* 58: 964–966.
- Ambade VN, Keoliya AN, Deokar RB, Dixit PG (2011) Decomposed bodies—still an unrewarding autopsy? *J Forensic Leg Med* 18:101–106.
- AMBOSS: postmortem skin changes [Internet]. Cologne (Germany): 2020 AMBOSS. Disponibile a: https://www.amboss.com/us/knowledge/Postmortem_skin_changes
- Amendt J, Campobasso CP, Gaudry E, Reiter C, LeBlanc HN, Hall MJ (2007) Best practice in forensic entomology—standards and guidelines. *Int J Legal Med* 121(2): 90-104.

- Amendt J, Richards CS, Campobasso CP, Zehner R, Hall MJ (2011) Forensic entomology: applications and limitations. *Forensic Sci Med Pathol* 7(4): 379-392.
- Anderson Beck L (1995) Standards for Data Collection from Human Skeletal Remains. Buikstra JE, Ubelaker DH (eds) 272 pp. Fayetteville: Arkansas Archeological Survey Research Series No. 44, 1994, *Am J Hum Biol* 7(5): 672.
- Anderson GS (2010) Factors that influence insect succession on carrion. In: Byrd JH, Castner JJ (eds) *Forensic Entomology: The utility of arthropods in legal medicine*. CRC Press: Boca Raton, pp 201–250.
- Anderson GS, Byrd JH (2010) Factors that influence insect succession on carrion. *Forensic entomology: the utility of arthropods in legal investigations*, 2nd edn. CRC Press, Boca Raton.
- Aquila I, Ausania F, Di Nunzio C, Serra A, Boca S, Capelli A, Magni P, Ricci P (2014) The role of forensic botany in crime scene investigation: case report and review of literature. *J Forensic Sci* 59(3):820–824.
- Aquila I, Ausania F, Di Nunzio C, Serra A, Boca S, Capelli A, Magni P, Ricci P (2014) The role of forensic botany in crime scene investigation: case report and review of literature. *J Forensic Sci* 59(3):820–824.
- Aquila I, Ausania F, Di Nunzio C, Serra A, Boca S, Capelli A, Magni P, Ricci P (2014) The role of forensic botany in crime scene investigation: case report and review of literature. *J Forensic Sci* 59(3):820–824.
- Aquila I, Gratteri S, Sacco M, Ricci P (2018) The role of forensic botany in solving a case: scientific evidence on the falsification of a crime scene. *J Forensic Sci* 63(3):961–964.
- Aquila I, Sacco M, Ricci P, Gratteri S (2018) The role of forensic botany in reconstructing the dynamics of trauma from high falls. *J Forensic Sci* 64(3):920–924.
- Arena P (1985) Studio sulla possibilità di razionalizzare e rendere più produttiva la pesca a strascico nel Canale di Sicilia e nel Mediterraneo centro meridionale. Mimeo, Palermo
- Arena P, Li Greci F (1973) Indagini sulle condizioni faunistiche e sui rendimenti di pesca dei fondali batiali della Sicilia occidentale e della bordura settentrionale dei banchi della soglia Siculo-Tunisina. *Quad Lab Teen Pesca*. 1(5):157-201
- Arnaud G, Arnaud S, Ascenzi A, Bonucci E, Graziani G (1978) On the problem of the preservation of human bone in sea-water. *J Hum Evol* 7:409–420.
- ARPA Lombardia IT (2019) Azienda nazionale per la Protezione dell’Ambiente, Disponibile a: https://www.arpalombardia.it/Pages/ARPA_Home_Page.aspx
- Arráiz H, Barbarinb N, Pasturel M, Beaufort L, Domínguez-Rodrigo M, Barbonib D (2016) Starch granules identification and automatic classification based on an extended set of morphometric and optical measurements. *J Archaeol Sci Reports* 7: 169–179.
- Arthur C, Aufderheide C, Rodríguez-Martín C (1998) *The Cambridge Encyclopedia of Human Paleopathology*. Cambridge University Press, Cambridge.
- Arzani A, Ashraf M (2017) ‘Cultivated Ancient Wheats (*Triticum* spp.): A Potential Source of Health-Beneficial Food Products. *Compr Rev Food Sci Food Saf* 16(3): 477–488.
- Atlante di Istologia- Università di Genova Disponibile a: <http://www.istologia.unige.it/page13/page35/page42/>
- Avon SL, Wood RE (2005) Porcine skin as an in-vivo model for model for ageing of human bite marks. *J Forensic Odontostomatology* 23: 30-39.
- Bai R, Wan L, Li H, Zhang Z, Ma Z (2007) Identify the injury implements by SEM/EDX and ICP-AES. *Forensic Sci Int* 166:8–13.

- Baldiraghi R, Milanesi A, Palear R, Parco V, D'Agostino V, Arena A (2015) Rivalutazione idraulica e geoambientale del tratto di fiume Ticino dalla loc. "Tenuta Occhio" al Ponte di barche, tra i comuni di Zerbolò e Bereguardo (PV): Studio di Fattibilità. Pavia.
- Barbehenn RV, Constabel CP (2011) Tannins in plant-herbivore interactions. *Phytochemistry* 72:1551–1565.
- Bardale RV, Tumram NK, Dixit PG, Deshmukh AY (2012) Evaluation of histologic changes of the skin in postmortem period. *Am J Forensic Med Pathol* 33(4): 357-361.
- Barni F, Lewis SW, Berti A, Miskelly GM, Lago G (2007) Forensic application of the luminol reaction as a presumptive test for latent blood detection. *Talanta* 72 (3): 896–913.
- Barthelmess EL (2006) *Hystrix africaeaustralis*. *Mammalian Species* 788:1–7.
- Bass WM (1984) Chapter 11 in *Human Identification, Case Studies in Forensic Anthropology*. Rathbun TE, Buikstra JE, Thomas CC Publisher, pp 136-147.
- Bass WM (1984) Time interval since death: a difficult question. In Rathbun TA, Buikstra JE (eds) *Human Identification; Case Studies in Forensic Anthropology*. Charles C. Thomas, Springfield, 111, pp 136-147.
- Bass WM (1997) Outdoor decomposition rates in Tennessee. In aglund WD, Sorg MH (eds) *Forensic Taphonomy: The Postmortem Fate of Human Remains*, H CRC Press, Boca Raton, pp 181–186.
- Beary MO (2005) *Taphonomic Effects of UV Light on Bone Surface: An Experimental Approach*. Unpublished M.A. Thesis, Mercyhurst College, Erie, PA.
- Becker B, Reed CA (1993) Studies of the bone detritus of the striped hyena (*Hyaena hyaena*) at a site in Egyptian Nubia, and the interaction of the bone breakage by striped hyenas. In *Skeletons in her Cupboard* (eds) Clason A, Payne S, Uerpmann HP, Oxbow Monograph 34, Oxford, U.K., pp 157–182.
- Behrensmeyer AK (1978) Taphonomic and ecologic information from bone weathering. *Paleobiology* 4:150–162.
- Belaústegui Z, de Gibert JM, Domènech R, Muñoz F, Martinell J (2012) Clavate borings in a Miocene cetacean skeleton from Tarragona (NE Spain) and the fossil record of marine bone bioerosion. *Palaeogeogr Palaeoclimatol Palaeoecol* 323–325:68–74.
- Belcastro G, Rastelli E, Mariotti V, Consiglio C, Facchini F, Bonfiglioli B (2007) Continuity or discontinuity of the life-style in central Italy during the Roman imperial age-early middle ages transition: Diet, health, and behavior. *Am J Phys Anthropol* 132 (3): 381–394.
- Bell LS, Elkerton A (2008) Human skeletal material recovered from the medieval warship Mary Rose. *Int J Osteoarchaeol* 18:523–535.
- Benecke M (2001) A brief history of forensic entomology. *Forensic Sci Int* 120(1-2): 2-14.
- Benninger LA, Carter DO, Forbes SL (2008) The biochemical alteration of soil beneath a decomposing carcass. *Forensic Sci Int* 180:70–75.
- Berryman HE (2002) Disarticulation pattern and tooth mark artifacts associated with pig scavenging of human remains: A case study. In Haglund WD, Sorg MH (eds) *Advances in Forensic Taphonomy: Method, Theory, and Archaeological Perspectives*, CRC Press, Boca Raton, FL, pp 487–495.
- Berryman HE, Bass WM, Symes SA, Smith OC (1991) Recognition of cemetery remains in the forensic setting. *J Forensic Sci* 36:230–237.
- Berryman HE, Bass WM, Symes SA, Smith OC (1997) Recognition of cemetery remains in the forensic setting. In Haglund WD, Sorg MH (eds) *Forensic Taphonomy: The Postmortem Fate of Human Remains*, CRC Press, Boca Raton, FL. pp 165–170.

- Bertoft E (2017) Understanding Starch Structure: Recent Progress. *Agronomy* 7(3): 56.
- Betancourt JL, Van Devender TR, Martin PS (eds) (1990) *Packrat Middens: The Last 40,000 Years of Biotic Change*. University of Arizona Press, Tucson, AZ
- Blau S (2014) Taphonomy: Definition. In: Smith C (eds) *Encyclopedia of Global Archaeology*. Springer, New York, NY.
- Bolotin J, Hrs-Brenko M, Tutman P, Glavić N, Kožul V, Skaramuca B, Lučić D, Lučić J (2005) First record of *Idas simpsoni* (Mollusca: Bivalvia: Mytilidae) in the Adriatic Sea. *J Mar Biolog Assoc UK* 85(4): 977-978.
- Bonanno A, Placenti F, Basilone G, Mifsud R, Genovese S, Patti B, Mazzola S (2014) Variability of water mass properties in the Strait of Sicily in summer period of 1998–2013. *Ocean Science* 10(5): 759-770
- Bonjean AP, Angus WJ (2001) A history of wheat breeding. *The World Wheat Book*.
- Boracchi M, Crudele GDL, Gentile G, Maciocco F, Maghin F, Marchesi M, Muccino E, Zoja R (2019) Extensive study on electrocution at the Bureau of Legal Medicine of Milan (1993-2017): determination of the current mark with scanning electron microscope/energy-dispersive X-ray analysis on paraffinembedded samples. *Med Leg J* 87: 67–73.
- Borsani A (2013) *Relazione geologica generale: PGT*. Cassolnovo (PA).
- Bottoms E, Wyatt E, Comaish S (1972) Progressive changes in cuticular pattern along the shafts of human hair as seen by scanning electron microscopy. *Br J Dermatol* 86:379–384.
- Boumba VA, Ziavrou KS, Vougiouklakis T (2006) Hair as a biological indicator of drug use, drug abuse or chronic exposure to environmental toxicants. *Int J Toxicol* 25(3): 143-163.
- Braby CE, Rouse GW, Johnson SB, Jones WJ, Vrijenhoek RC (2007) Bathymetric and temporal variation among *Osedax* boneworms and associated megafauna on whale-falls in Monterey Bay, California. *Deep Sea Res Part I* 54:1773–1791.
- Braby CE, Rouse GW, Johnson SB, Jones WJ, Vrijenhoek RC (2007) Bathymetric and temporal variation among *Osedax* boneworms and associated megafauna on whale-falls in Monterey Bay, California. *Deep Sea Res Part I* 54:1773–1791.
- Braga GP, Ragni U (1969) Note illustrative della Carta Geologica d'Italia alla scala 1:1 000 000: foglio 44 Novara, Servizio Geologico d'Italia, Roma.
- Brandelli A, Daroit DJ, Riffel A (2010) Biochemical features of microbial keratinases and their production and applications. *Appl Microbiol Biotechnol* 85: 1735–1750.
- Breuning-Madsen H, Holst MK, Rasmussen M (2001) The chemical environment in a burial mound shortly after construction—An archaeological-pedological experiment. *J Archaeol Sci* 28:691–697.
- Brickley MB (2018) Cribra orbitalia and porotic hyperostosis: A biological approach to diagnosis. *Am. J. Phys. Anthropol* 167 (4): 896–902.
- Brickley MB, Mays S (2019) *Metabolic Disease in Buikstra, JE (ed) Ortner's Identification of Pathological Conditions in Human Skeletal Remains. (3rd edn) San Diego: Academic Press, pp. 531–566.*
- Brink JW (1997) Fat content in leg bones of Bison bison, and applications to archaeology. *J Archaeol Sci* 24:259–274.
- Brock TD, Madigan MT (1988) *Biology of microorganisms*. Prentice-Hall, Englewood Cliffs, NJ.
- Bromley RG (1994) The palaeoecology of bioerosion. In Donovan Sk (ed) *The Palaeobiology of Trace Fossils*. John Wiley & Sons, Chichester, UK, pp134-154

- Bromley RG, Heinberg C (2006) Attachment strategies of organisms on hard substrates: A palaeontological view, Seta S (1991) Microscopical study on estimation of time since death in skeletal remains. *Forensic Sci Int* 49:143–158.
- Brooks S, Brooks RH (1997) The taphonomic effects of flood waters on bone. In: Haglund WD, Sorg MH (eds) *Forensic Taphonomy: The postmortem fate of human remains*. CRC Press, Boca Raton, pp 553–558.
- Brothwell DR, Gottlieb B, Liversage D (1990) Radiographic and forensic aspects of the female Huldremose body. *J Dan Archaeol* 9:157–178.
- Brown A, Smith A, Elmhurst O (2002) The combined use of pollen and soil analyses in a search and subsequent murder investigation. *J Forensic Sci* 47(3):614–618.
- Brown AG (2006) The use of forensic botany and geology in war crimes investigations in NE Bosnia. *Forensic Sci Int* 163(3):204–210.
- Buckland-Wright JC (1977) Microradiographic and histological examination of the split-line formation in bone. *J Anat* 124:193–203.
- Buikstra JE (2019b) Ortner's identification of pathological conditions in human skeletal remains.
- Buikstra JE, Ubelaker DH (1994) *Standards for Data Collection from Human Skeletal Remains*. Arkansas Archeological Survey Research Series No. 44. Arkansas Archeological Survey, Fayetteville, AR.
- Buikstra JE, Ubelaker DH (eds) (1994) *Standards for Data Collection from Human Skeletal Remains*. Arkansas Archeological Survey Research Series No. 44, Fayetteville, AR.
- Buléon A, Colonna P, Planchot V, Ball S (1998) Starch granules: Structure and biosynthesis. *Int J Biol Macromol* 23(2): 85–112.
- Burger J, Hummel S, Herrmann B, Henke W (1999) DNA preservation: A microsatellite, DNA study on ancient skeletal remains. *Electrophoresis* 20(8):1722–1728.
- Burt TP, Chorley RJ, Brunson D, Cox NJ, Goudie AS (2008) *The History of the Study of Landforms of the Development of Geomorphology*. The Geological Society Publishing House: Bath.
- Busolo F (2016) I Prodotti Vernicianti e i Sistemi Tintometrici. Disponibile a: http://www.chimiciveneto.it/nuovosito/attachments/article/16/I_prodotti_vernicianti_e_i_sistemi_tintometrici_18nov2016.pdf. Accessed August 1, 2019.
- Butler J, Chaseling J, Wright K (2019) A Comparison of Four Presumptive Tests for the Detection of Blood on Dark Materials. *J Forensic Sci* 64 (6): 1838–1843.
- Butler JM (2005) *Forensic DNA typing*, Elsevier Academic Press, Burlington, pp 145–179.
- Butler JM (2010) *Fundamentals of Forensic DNA Typing*. Academic Press, London.
- Byard RW, Gilbert JD, Brown K (2000) Pathologic features of fatal shark attacks. *Am J Forensic Med Pathol* 21:225–229.
- Byard RW, James RA, Gilbert JD (2002) Diagnostic problems associated with cadaveric trauma from animal activity. *Am J Forensic Med Pathol* 23:238–244.
- Byers SN (2017) *Introduction of forensic anthropology*. Taylor & Francis, New York
- Byrd JH, Tomberlin JK (Eds) (2019) *Forensic entomology: the utility of arthropods in legal investigations*. CRC press.
- Caccia G, Mazzarelli D, Amadasi A, Rizzi A, Caccianiga M, Cattaneo C (2021) SEM-EDX analysis of microscopic surface debris collected from the skin - preliminary study. *Aust J Forensic Sci*.
- Caccianiga M, Bottacin S, Cattaneo C (2012) Vegetation dynamics as a tool for detecting clandestine graves. *J Forensic Sci* 57(4):983–988.

- Caccianiga M, Caccia G, Mazzarelli D, Salsarola D, Poppa P, Gaudio D, Cappella C, Franceschetti L, Tambuzzi S, Maggioni L, Cattaneo C (2020) Common and much less common scenarios in which botany is crucial for forensic pathologists and anthropologists: a series of eight case studies. *Int J Leg Med* (135): 1067–1077.
- Caccianiga M, Compostella C (2009) Botanica e zoologia forense. In: Intini A, Picozzi M (eds) *Scienze forensi: teoria e prassi dell'investigazione scientifica*. UTET, Torino, pp 230–257.
- Caccianiga M, Conforti F, Lancia M (2014) Forensic botany: the use of mosses in criminal investigations. In: Mohamed J (ed) *Moss: classification, development and growth and functional role in ecosystem*, Nova Science Publisher, New York, pp 221–232.
- Campobasso CP, Di Vella G, Introna F (2001) Factors affecting decomposition and Diptera colonization. *Forensic Sci Int* 15;120(1-2):18-27.
- Cappella A, De Angelis D, Mazzarelli D, Vitale A, Caccia G, Fracasso T, Cattaneo C (2021) Rediscovering the value of photographs in supporting personal identification in the dead migrant crisis: a descriptive study of antemortem photographic materials of missing migrants. *Legal Medicine* 54: 101985.
- Cappelle D, Yegles M, Neels H, van Nuijs ALN, Maudens K, Covaci A, Crunelle CL (2015) Nail analysis for the detection of drugs of abuse and pharmaceuticals: a review. *Forensic Toxicol* 33(1):12-36.
- Cardamone JM, Keister KM, Osareh AH (1991) Degradation and conservation of celluloses and esters. In: Allen NS, Edge M, Horis CV (eds) *Polymers in Conservation*, Royal Society of Chemistry, London, pp 108–124.
- Cardoso HF, Santos A, Dias R, Garcia C, Pinto M, Sergio C (2010) Establishing a minimum postmortem interval of human remains in an advanced state of skeletonization using the growth rate of bryophytes and plant roots. *Int J Legal Med* 124:451–456.
- Carlessi M, Kluzer A (2011) *Il Cuore Dell'antico Ospedale Maggiore Di Milano, I Luoghi Dell'Archivio e La Chiesa Della Beata Vergine Annunciata*, Silvana Editoriale, Milano.
- Carpinteri A, Manuello A (2011) Geomechanical and geochemical evidence of piezonuclear fission reactions in the Earth's crust. *Strain* ;47(Suppl.2):267–281.
- Carracedo A (2015) Forensic genetics: history. *Forensic Biology* 19.
- Caruso V, Sguazza E, Sassi F, Gibelli D, Mori AC, Cattaneo C (2013) Gli scheletri della fossa comune di viale Sabotino a Milano: le vittime della peste manzoniana? *FOLD&R FastiOnline documents & research* 2 (285), 1–11.
- Cash D, Yuegao H (2009) *Alfalfa management guide for ningxia*. Chapter 1: 1-110.
- Castell'ò A, Alvarez M, Verdu F (2002) Accuracy, reliability, and safety of luminol in bloodstain investigation. *J Can Soc Forensic Sci Journal* 35 (3): 113-121.
- Castelvetro G (1614) *Brieve racconto di tutte le radici, di tutte l'erbe e di tutti i frutti che crudi o cotti in Italia si mangiano*. OM Edizioni.
- Cattaneo C, De Angelis D, Mazzarelli D, Porta D, Poppa P, Caccia G, D'Amico ME, Siccardi C, Previderé C, Bertoglio B, Tidball Binz M, Ubelaker DM, Piscitelli V, Riccio S (2022) THE RIGHTS OF MIGRANTS TO THE IDENTIFICATION OF THEIR DEAD An attempt at an identification strategy from Italy. *Int J Legal Med* (in press).
- Cattaneo C, Mazzarelli D, Cappella A, Castoldi E, Mattia M, Poppa P, De Angelis D, Vitello A, Biehler-Gomez L (2018) A Modern Documented Italian Identified Skeletal Collection of 2127 Skeletons: The CAL Milano Cemetery Skeletal Collection. *Forensic Sci Int* 287: 219.e1–e5.

- Cattaneo C, Mazzarelli D, Olivieri L, De Angelis D, Cappella A, Vitale A, Caccia G, Piscitelli V, Iadicicco A (2020). The approach to unidentified dead migrants in Italy. In Parra RC, Zapico SC, Ubelaker DH (eds) *Forensic Science and Humanitarian Action*, Wiley Online Library.
- Catts EP, Goff ML (1992) Forensic entomology investigations. *Annu Rev Entomol* 37(1): 253-272.
- Caudullo G, Caruso V, Cappella A, Sguazza E, Mazzarelli D, Amadasi A, Cattaneo C (2017) Luminol testing in detecting modern human skeletal remains: a test on different types of bone tissue and a caveat for PMI interpretation. *Int J Legal Med* 131 (1): 287–292.
- Cavallaro D, Monaco C, Polonia A, Sulli A, Di Stefano A (2017) Evidence of positive tectonic inversion in the north-central sector of the Sicily Channel (Central Mediterranean). *Natural hazards* 86(S2): 233-251.
- Cazzaniga A, Cattabeni CM, Luvoni R, Zoja R (2018) *Compendio di medicina legale e delle assicurazioni*, quattordicesima edizione. UTET Giuridica, Torino.
- Cazzola F (1991) L'introduzione del mais in Italia e la sua utilizzazione alimentare (secoli XVI-XVIII), in: Fournier D., Sigaut F (eds.) *La préparation alimentaire des céréales*. Atti della Tavola Rotonda, Ravello, 11-14 aprile 1988, pp. 109-127.
- Chakraborty I, Pallen S, Shetty Y, Roy N, Mazumder N (2020) Advanced microscopy techniques for revealing molecular structure of starch granules, *Biophys Rev* 12(1): 105–122.
- Chen HL, Jakes KA, Foreman DW (1998) Preservation of archaeological textiles through fibre mineralisation. *J Archaeol Sci* 25: 1015–1021.
- Chermette R, Ferreiro L, Guillot J (2008) Dermatophytoses in animals. *Mycopathologia* 166: 385–405.
- Child AM (1995) Towards an understanding of the microbial decomposition of archaeological bone in the burial environment. *J Archaeol Sci* 22:165–174.
- Choi JY, Zaidem M, Gutaker R, Dorph K, Singh RK, Purugganan MD (2019) The complex geography of domestication of the African rice *Oryza glaberrima*. *PLoS Genet* 15(3): e1007414.
- Chorley RJ, Dunn AJ, Beckinsale RP (2009) *The History of the Study of Landforms or the Development of Geomorphology*. Routledge, Oxford.
- Christen AG, Christen JA (2003) The 1850 Webster/Parkman Trial: Dr. Keep's forensic evidence. *J Hist Dent* 51(1):5-12.
- Christian P, Winsey N, Whatmough M, Cornwell PA (2011) The effects of water on heat-styling damage. *J Cosmetic Sci* 62(1): 15.
- Cigala-Fulgosi F (1990) Predation (or possible scavenging) by a great white shark on an extinct species of bottlenose dolphin in the Italian Pliocene. *Tertiary Research* 12(1): 17–36.
- Cinelli F (1980) *Le Fanerogame marine: Problemi di trapianto e di riforestazione*. *Mem di Biol Mar e Oceanogr* 10:17-27.
- Cinelli F, Fresi E, Mazzella L, Ponticelli MP (1979) Deep algal vegetation of the western Mediterranean. *G Bot Ital [Internet]* 113(3):173-188.
- Cocks J, du Toit-Prinsloo L, Steffens F, Saayman G (2015) The application of imaging technologies in the detection of trace evidence in forensic medical investigation. *Forensic Sci Int.* 249:225-232.
- Cohen AC (2015) *Insect Diets: Science and Technology*. CRC Press, Boca Raton.
- Conard NJ, Walker SJ, Kandel AW (2008) How heating and cooling and wetting and drying can destroy dense faunal elements and lead to differential preservation. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* 266: 459–469.
- Cosmacini G (1999) *La Ca'Granda Dei Milanesi: Storia Dell'Ospedale Maggiore*. Laterza, Roma.

- Costantini EA (2007) Linee guida dei metodi di rilevamento e informatizzazione dei dati pedologici. CRA-ABP, Firenze.
- Costantini EA (2007) Linee guida dei metodi di rilevamento e informatizzazione dei dati pedologici. Disponibile a: http://soilmaps.entecra.it/download/pub-Linee_guida_2011.pdf.
- Coster ACF, Field JH (2015) What starch grain is that? - A geometric morphometric approach to determining plant species origin. *J Archaeol Sci* 58: 9–25.
- Cotton G, Aufderheide A, Goldschmidt V (1987) Preservation of human tissue immersed for five years in fresh water of known temperature. *J Forensic Sci* 32: 1125–1130.
- Courtin GM, Fairgrieve SL (2004) Estimation of postmortem interval (PMI) as revealed through the analysis of annual growth in woody tissue. *J Forensic Sci* 49(4):1–3.
- Coyle HM (2004) Plant diversity. In Coyle HM (ed) *Forensic Botany: Principles and Applications to Criminal Casework*, CRC Press, Boca Raton, FL, pp. 81–96.
- Coyle MH (2005) *Forensic botany: principles and applications to criminal casework*. CRC Press, Boca Raton, FL.
- Coyle MH, Ladd C, Palmbach T, Lee HC (2001) The Green Revolution: botanical contributions to forensic and drug enforcement. *Croat Med J* 42(3): 340–345.
- Coyle MH, Lee CL, Lin WY, Lee HC, Palmbach TM (2005) Forensic botany: using plant evidence to aid in forensic death investigation. *Croat Med J* 46(4): 606–612.
- Cristiani E, Radini A, Edinborough M, Borić D (2016) Dental calculus reveals Mesolithic foragers in the Balkans consumed domesticated plant foods. *Proc Natl Acad Sci USA*, 113(37):10298–10303.
- Croft DJ, Pye K Multi-technique comparison of source and primary transfer soil samples: an experimental investigation. *Sci Justice* 2004: 44:21–28.
- Cronyn JM (1990) *The Elements of Archaeological Conservation*. Routledge, London, UK.
- Cummings LS, Yost C, Sołtysiak A (2018) Plant microfossils in human dental calculus from Nemrik 9, a Pre-Pottery Neolithic site in Northern Iraq. *Archaeol Anthropol Sci*, 10(4): 883–891.
- Currey JD (2002) *Bones: Structure and Mechanics*, 2nd edn. Princeton University Press, Princeton, NJ.
- D'alessio D, Comolli R (1996) *I suoli del Parco del Ticino Settore Meridionale: progetto carta pedologica Ersal*, Milano.
- D'Andrea AC, Casey J (2002) Pearl millet and Kintampo subsistence. *Afr Archaeol Rev*, 19(3):147–173.
- Dahlgren TG, Glover AG, Baco A, Smith CR (2004) Fauna of whale falls: systematics and ecology of a new polychaete (Annelida: Chrysopetalidae) from the deep Pacific Ocean. *Deep-Sea Res. I Oceanogr Res Pap* 51: 1873–1887.
- Dahlgren TG, Wiklund H, Källstrom B, Lundälv T, Smith CR, Glover AG (2006) A shallow-water whale-fall experiment in the north Atlantic. *Cah Biol Mar* 47:385–389.
- Dalby O, Butler D, Birkett JW (2010) Analysis of gunshot residues and associated materials— a review. *J Forensic Sci* 55: 924–943.
- Damann FE (2010) *Human Decomposition Ecology at the University of Tennessee Anthropology Research Center*. Unpublished Ph.D. Dissertation, University of Tennessee, Knoxville, TN.
- Daniel CR, Piraccini BM, Tosti A (2004) The nail and hair in forensic science. *J Am Acad Dermatol* 50(2):258-261.
- Danise S, Higgs ND (2015) Bone-eating Osedax worms lived on Meso- zoic marine reptile deadfalls. *Biol Lett* 11: 20150072.

- Dautartas A, Kenyhercz MW, Vidoli GM, Jantz LM, Mundorff A, Steadman DW (2018) Differential Decomposition Among Pig, Rabbit and Human Remains. *J Forensic Sci* 63 (6): 1673-1683.
- Davis PG (1997) Bioerosion of bird bones. *Int J Osteoarchaeol* 7: 388–401.
- Dawber R (2002) Cosmetic and medical causes of hair weathering. *J Cosmet Dermatol* 1:196 – 201.
- Dayal MR, Spocter MA, Bidmos MA (2008) An assessment of sex using the skull of black South Africans by discriminant function analysis. *Homo* 59(3): 209–221.
- De Gelder J, Vandenabeele P, Govaert F, Moens L (2005) Forensic analysis of automotive paints by Raman spectroscopy. *J Raman Spectrosc* 36(1): 1059–1067.
- De Maio A, Moretti M, Sansone E, Bregant D (1972) *Idrologia del Canale di Sicilia*, Nave Dectra, ottobre 1969. Volume di Studi in onore di G. Aliverti. Napoli.
- De Vittori E, Barni F, Lewis SW, 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 Chem* 2: 63–74.
- De Wael K, Lepot L, Gason F, Gilbert B (2008) In search of blood detection of minute particles using spectroscopic methods. *Forensic Sci Int* 180 (1): 37–42.
- De Wet JMJ (1977) Domestication of African cereals. *African Economic History* 3: 15-32.
- De Wet JMJ, Brink DE, Rao KP, Mengesha MH (1983) Diversity in kodo millet, *Paspalum scrobiculatum*. *Econ Bot* 37(2): 159-163.
- Decreto del Ministro della salute 11 aprile 2008 – FNOPI, Aggiornamento del decreto del 22 agosto 1994, n.582 relativo al: “Regolamento recante le modalità per l’accertamento e la certificazione di morte” Disponibile a: <https://www.fnopi.it/wp-content/uploads/DM110408.pdf>
- DeGaetano DH, Kempton JB, Rowe WF (1992) Fungal tunneling of hair from a buried body. *J Forensic Sci* 37: 1048–1054.
- Delannoy Y, Colard T, Cannet C, Mesli V, Hédouin V, Penel G, Ludes B (2018). Characterization of bone diagenesis by histology in forensic contexts: a human taphonomic study. *Int J Legal Med* 132(1), 219-227.
- Deshmukh S, Verekar SA (2014) Isolation of keratinophilic fungi from selected soils of Sanjay Gandhi National Park. Mumbai (India) *J Mycol Med* 24: 319–327.
- Deshmukh SK, Agrawal SC (1982) In vitro degradation of human hair by some keratinophilic fungi. *Mykosen* 25: 454–458.
- Deshmukh SK, Agrawal SC (1985) Degradation of human hair by some dermatophytes and other keratinophilic fungi. *Mykosen* 28: 463–466.
- Di Giancamillo A, Domeneghini C, Gibelli D, Cattaneo C (2011) Diatom extraction with HCl from animal tissues: a technical note. *Legal medicine* 13(5): 268-271.
- Di Maggio RM (2018) Preventing Art and Antiquities Crimes Using Forensic Geology. In Barone PM, Groen WJM (eds) *Multidisciplinary Approaches to Forensic Archaeology*. Springer, Cham, pp 239-249.
- Dickinson GH, Vega IE, Wahl KJ, Orihuela B, Beyley V, Rodriguez EN, Everett RK, Bonaventura J, Rittschof D (2009) Barnacle cement: A polymerization model based on evolutionary concepts. *J Exp Biol* 212: 3499–3510.
- DiGiancamillo A, Domeneghini C, Gibelli D, Cattaneo C (2011) Diatom extraction with HCl from animal tissues: a technical note. *Legal Med* 13(5): 268-71.
- Dissing J, Sondervang A, Lund S (2010) Exploring the limits for the survival of DNA in blood stains, *J Forensic Leg Med* 17 (7): 392–396.

- DiZinno JA, Lord WD, Collins-Morton MB, Wilson MR, Goff ML (2002) Mitochondrial DNA sequencing of beetle larvae (Nitidulidae: Omosita) recovered from human bone. *J Forensic Sci* 47(6): 1337-1339.
- Dobney K, Brothwell D (1987) A method for evaluating the amount of dental calculus on teeth from archaeological sites. *J Archaeol Sci*, 14(4): 343–351.
- Dodson P (1973) The significance of small bones in paleoecological interpretation. *Contributions to Geology, University of Wyoming* 12:15–19.
- Doehne E (2002) Salt weathering: A selective review. *Geological Society Special Publication: Natural Stone, Weathering Phenomena, Conservation Strategies and Case Studies* 205:51–64.
- Dominicis ED, Arcudi G, Mauriello S, Marsella LT (2017) Spontaneous corification: a case of anomalous decomposition. *Minerva Medicolegale* 137(2):48-51.
- Donoghue ER, Minnigerode SC (1977) Human body buoyancy: A study of 98 men. *J Forensic Sci* 22:573–579.
- Doty KC, Muro CK, Bueno J, Halámková L, Lednev IK (2016) What can Raman spectroscopy do for criminalistics. *J Raman Spectrosc* 47: 39-50.
- Duda Y (2009) *The Archaeology of the Dead. Lectures in Archaeoethanatology*, Oxford.
- Earle R (2012) *The body of the conquistador: Food, race and the colonial experience in Spanish America*. Cambridge University Press, pp 1492–1700.
- Ebbesmeyer CC, Haglund WD (1994) Drift Trajectories of a Floating Human Body Simulated in a Hydraulic Model of Puget Sound. *J Forensic Sci* 39(1): 231–240.
- EFSA Panel on Dietetic Products, N. and A. (NDA) (2009) Scientific opinion on the substantiation of health claims related to Equisetum arvense L. and invigoration of the body (ID 2437), maintenance of skin (ID 2438), maintenance of hair (ID 2438), maintenance of bone (ID 2439), and maintenance or achievement of a normal body weight (ID 2783) pursuant to Article 13 of Regulation (EC) No 1924/2006 *EFSA Journal*, 7(9): 1289.
- Egeland CP, Pickering TR (2020) Cruel traces: bone surface modifications and their relevance to forensic science. *WIREs Forensic Sci*, e1400.
- El-Menif NT, Kefi FJ, Ramdani M, Flower R, Boumaiza M (2007) Habitat and associated fauna of Lithophaga lithophaga (Linné 1758) in the bay of Bizerta (Tunisia). *J Shellfish Res* 26(2): 569-574.
- Emmambux MN, Taylor JRN (2013) Morphology, physical, chemical, and functional properties of starches from cereals, legumes, and tubers cultivated in Africa: A review. *Starch-Stärke* 65:9-10; 715-729.
- English MP (1963) The saprophytic growth of keratinophilic fungi on keratin. *Sabouraudia* 2: 115–130.
- Enos FW, Beyer JC (1981) The Importance of Examining Skin and Hair for Semen in Sexual Assault Cases. *J Forensic Sci JFSCA* 26(3): 605-607.
- ERSAF (2013) Basi informative dei suoli.
- Ewell PT, Mutuura J (1991) Sweet potato in the food systems of eastern and southern Africa. *Symposium on Tropical Root Crops in a Developing Economy* 380.
- Ezell KC, Pearsall DM, Zeidler JA (2006) Root and tuber phytoliths and starch grains document manioc (*Manihot esculenta*) arrowroot (*Maranta arundinacea*) and llerén (*Calathea* sp.) at the real alto site Ecuador. *Econ Bot* 60: 103–120.
- Faas P, Whiteside S (2005) *Around the Roman Table: Food and Feasting in Ancient Rome*. University of Chicago Press, Disponibile a: <https://books.google.it/books?id=YXGIAr17oekC>.

- Fahad S, Bajwa A, Nazir U 3, Anjum AS, Farooq A, Zohaib A, Sadia S, Nasim W, Adkins S, Saud S, Ihsan MZ, Alharby H, Wu C, Wang D, Huang J (2017) Crop production under drought and heat stress: Plant responses and management options. *Frontiers in Plant Science*. Frontiers Media S.A., p 1147.
- Fallows C, Gallagher AJ, Hammerschlag N (2013) White Sharks (*Carcharodon carcharias*) Scavenging on Whales and Its Potential Role in Further Shaping the Ecology of an Apex Predator. *PLoS ONE* 8(4): e60797.
- Fanou N, Koreissi Y, Dossa R, Brouwer ID (2009) Consumption of, and beliefs about fonio (*Digitaria exilis*) in urban area in Mali. *African J Food Agric Nutr Dev* 9.9.
- FAO (2015) World reference base for soil resources 2014: international soil classification system for naming soils and creating legends for soil maps. Roma.
- Fasani M (2009) Relazione Tecnica: Studio Geologico del Territorio Comunale secondo la d.g.r. Lomb.N. 8/7374 del 28/05/2008 (Aggiornamento dei “criteri ed indirizzi per la definizione della componente geologica, idrogeologica e sismica del Piano di Governo del Territorio, in attuazione dell’art.57 comma 1, della l.r. 11 marzo 2005 n.12.) Vigevano (PA).
- Fatokun OT (2020) Micrometrics and Morphological Properties of Starch, in Emeje M (ed) *Chemical Properties of Starch*. IntechOpen, London.
- FBI (1999) Trace evidence recovery guidelines by SWGMAT. Evidence Committee. *Forensic Sci Commun* 1(3). Disponibile a: [https:// archives.fbi.gov/archives/about-us/lab/forensic-sciencecommunications/fsc/oct1999/trace.htm](https://archives.fbi.gov/archives/about-us/lab/forensic-sciencecommunications/fsc/oct1999/trace.htm).
- Fenichell S (1996) *Plastic: The making of a synthetic century*. Harper: New York.
- Fernández-Jalvo Y, Andrews P (2003) Experimental effects of water abrasion on bone fragments. *J Taphon* 1:147–163.
- Filipello Marchisio V, Curetti D, Cassinelli C, Bordese C (1991) Keratinolytic and keratinophilic fungi in the soils of Papua New Guinea. *Mycopathologia* 115: 113–119.
- Finzi R (1982) Quando e perchè fu sconfitta la pellagra in Italia. In Betri ML, Marchetti AG (eds) *Salute e classi lavoratrici in Italia dall’Unità al Fascismo*. Franco Angeli, pp 391–430.
- Fitzpatrick RW, Raven MD (2012) How pedology and mineralogy helped solve a double murder case: using forensics to inspire future generations of soil scientists. *Soil Horizons* 53(5): 14-29.
- Fitzpatrick RW, Raven MD, Forrester ST (2009) A Systematic approach to soil forensics: criminal case studies involving transference from crime scene to forensic evidence. In: Ritz K, Dawson L, Miller D (eds) *Criminal and Environmental Soil Forensics*, Springer London, pp 105–127.
- Foecke T, Maa L, Russell MA, Conlin DL, Murphy LE (2010) Investigating archaeological site formation processes on the battleship USS Arizona using finite element analysis. *J Archaeol Sci* 37:1090–1101.
- Fogny NF, Dembele YK, Moretti D, Brouwer ID (2016) Fonio as a staple food in West Africa: An approach to upgrade nutritional value. Fifth African Higher Education Week and RUFORUM Biennial Conference 2016, "Linking agricultural universities with civil society, the private sector, governments and other stakeholders in support of agricultural development in Africa, Cape Town", South Africa, 17-21 RUFORUM.
- Forbes SL, Perrault KA, Comstock JL (2017) Microscopic post-m changes: the chemistry of decomposition. In: Schotsmans EMJ, Márquez-Grant N, Forbes SL (eds) *Taphonomy of human remains: forensic analysis of the dead and the depositional environment*. Chichester, UK, John Wiley & Sons, pp 26–38.

- Forbes SL, Stuart BH, Dent BB (2005) The effect of method of burial on adipocere formation. *Forensic Sci Int* 154: 44–52.
- Forbes SL, Wilson MEA, Stuart BH (2011) Examination of adipocere formation in a cold water environment. *Int J Legal Med* 125: 643–650.
- Franklin D, O’Higgins P, Oxnard CE, Dadour I (2008) Discriminant function sexing of the mandible of Indigenous South Africans. *Forensic Sci Int* 179(1): 84.e1-84.e5.
- Fredj G, Maurin C (1987) Les poissons dans la banque de données Medifaune. Application à l’étude des caractéristiques de la faune ichtyologique méditerranéenne. *Cybium, J Ichthyol* 11(3):215-342.
- Fucci N, Pascali VL, Puccinelli C, Marcheggiani S, Mancini L, Marchetti D. (2015) Evaluation of two methods for the use of diatoms in drowning cases. *Forensic Sci Med Pathol* 11(4):601-5.
- Fujikura K, Fujiwara Y, Kawato M (2006) A new species of *Osedax* (Annelida: Siboglinidae) associated with whale carcasses off Kyushu, Japan. *Zool Sci* 23:733–740.
- Furlanetto D (2002) *Atlante della biodiversità del Parco del Ticino*, volume 1 Elenchi sistematici. Il Guado, Milano.
- Gabby T, Winkleby MA, Boyce WT, Fisher DL, Lancaster A, Sensabaugh GF (1992) Sexual abuse of children, The detection of semen on skin. *Am. J. Dis. Child* 146 (6): 700–703.
- Gabel R, Shimamoto S, Stene I, Adair T (2011) Detecting Blood in Soil after Six Years with Luminol. *The Journal of the Association for Crime Scene Reconstruction* 17: 11–14.
- Galloway A (1997) The Process of Decomposition: A Model from the Arizona-Sonoran Desert. In Haglund WD, Sorg MH (eds) *Forensic Taphonomy: The postmortem fate of human remains*. CRC Press: Boca Raton, pp 139-147.
- Galloway A, Birkby WH, Jones AM, Henry TE, Parks BO (1989) Decay rates of human remains in an arid environment. *J Forensic Sci* 34:607–616.
- Gascho D, Morf NV, Thali MJ, Schaerli S (2017) The use of immunochromatographic rapid test for soft tissue remains identification in order to distinguish between human and non-human origin. *Sci Justice* 57 (3): 165–168.
- Gates KS (2009) An overview of chemical processes that damage cellular DNA: Spontaneous hydrolysis, alkylation, and reactions with radicals. *Chem Res Toxicol* 22 (11):1747–1760.
- Gavazzoni Dias MF (2015) Hair Cosmetics: An Overview. *Int J Trichology* 7:2 - 15.
- GEFI (2013) *Linee Guida per La Repertazione Di Tracce Biologiche per Le Analisi Di Genetica Forense Nel Percorso Assistenziale Delle Vittime Di Violenza Sessuale e/o Maltrattamento*. Disponibile a: <http://www.gefi-isfg.org/temp/2202201374428.pdf>.
- Gentile G, Andreola S, Bailo P, Battistini A, Boracchi M, Tambuzzi S, Zoja R. (2020a) A brief review of Scanning Electron Microscopy with Energy-Dispersive X-ray use in forensic medicine. *Am J Forensic Med Pathol* 41: 280–286.
- Gentile G, Boracchi M, Gherardi M, Maciocco F, Muccino E, Tambuzzi S, Zoja R (2020b) Cutaneous wound metallic residues pattern analysis with SEM-EDX in a forensic case of overkill. *Med Leg J* 88:155–159.
- Gentile G, Tambuzzi S, Andreola S, Boracchi M, Gibelli L, Migliorini AS, Zoja R (2020c) Is it possible to detect lead derived from gunshot residues on decalcified human bone by means of a histochemical staining with sodium rhodizonate? *Forensic Sci Int* 316:110474.
- Gerola FM (1997) *Biologia Vegetale sistematica filogenetica*. UTET, Torino
- GFCM (1970) Living deep water resources of the Western Mediterranean and their exploitation. *Stud Rev Gen Fish Coun Mediterr.* 44: 38.

- Giaccone G (1972) Struttura, ecologia e corologia dei popolamenti a Laminarie dello Stretto di Messina e del Mare di Alboran. *Mem di Biol Mar e Oceanogr* 2: 37-59.
- Gibelli D, Di Giancamillo A, Taborelli A, Porta D, Andreola S, Ferro F, Vitari F, Domeneghini C, Grandi M, Cattaneo C (2013) Burial of piglet carcasses in cement: a study of macroscopic and microscopic alterations on an animal model. *Am J Forensic Med Pathol* 34(1): 43-9.
- Gibelli D, Mazzarelli D, Porta D, Rizzi A, Cattaneo C (2012) Detection of metal residues on bone using SEM-EDS-part II: Sharp force injury. *Forensic Sci Int* 223(1-3): 91-96.
- Gilbert R (1984) The movement of gravel by the alga *Fucus vesiculosus* (L.) on an arctic intertidal flat. *Journal of Sedimentary Petrology* 54: 463–468.
- Gill-King H (1997) Chemical and ultrastructural aspects of decomposition. In WD Haglund and Sorg MH (eds) *Forensic Taphonomy: The Postmortem Fate of Human Remains*. CRC Press, Boca Raton, FL, pp 93–108.
- Gismondi A, D’agostino A, Canuti L, Di Marco G, Basoli F, Canini A (2018) Starch granules: a data collection of 40 food species. *Plant Biosystems-An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology*, 153(2): 273–279.
- Gismondi A, D’Agostino A, Canuti L, Di Marco G, Martínez-Labarga C, Angle M, Rickards O, - Canini A (2018) Dental calculus reveals diet habits and medicinal plant use in the Early Medieval Italian population of Colonna. *J Archaeol Sci: Reports*, 20: 556–564.
- Glover AG, Källstrom B, Smith CR, Dahlgren TG (2005) World-wide whale worms? A new species of *Osedax* from the shallow north Atlantic. *Proc Royal Soc B* 272: 2587–2592.
- Glover AG, Kemp KM, Smith CR, Dahlgren TG (2008) On the role of bone-eating worms in the degradation of marine vertebrate remains. *Proc Royal Soc B* 275:1959–1961.
- Goff ML (1991) Comparison of insect species associated with decomposing remains recovered inside dwellings and outdoors on the island of Oahu. *Hawaii. J Forensic Sci* 36(3): 748-753.
- Goff ML, Brown WA, Omori AI, LaPointe DA (1993) Preliminary observations of the effects of amitriptyline in decomposing tissues on the development of *Parasarcophaga ruficornis* (Diptera: Sarcophagidae) and implications of this effect to estimation of postmortem interval. *J Forensic Sci* 38(2):316-22.
- Goffer Z (2007) *Archaeological Chemistry*. John Wiley and Sons, Hoboken.
- Goffredi SK, Paull C, Fulton-Bennett K, Hurtado L, Vrijenhoek R (2004) Unusual benthic fauna associated with a whale fall in Monterey Canyon. *California Deep-Sea Research Part I* 51:1295–1306.
- Gordon CC, Buikstra JE (1981) Soil pH, Bone Preservation, and Sampling Bias at Mortuary Sites. *Am Antiq* 46(3):566-571.
- Gorgy S, Shaheen AH (1963) Exploration des lieux de Pêche de la République Arabe Unie. Résultats hydrographiques de l’expédition du Shuyo-Maru dans la Mer Méditerranée et la Mer Rouge. *Proc gen Fish Coun Médit.* pp. 139-170.
- Graham S (1997) Anatomy of the Lindbergh Kidnapping. *J Forensic Sci* 42(3): 368-377.
- Greenberg B (1991) Flies as forensic indicators. *J Med Entomol* 28(5): 565-577.
- Grieve MC (1994) *Fibers and Forensic Science - New Ideas, Developments, and Techniques*. *Forensic Sci Rev* 6(1): 59-80.
- Grikpēdis M, Matuzevičiūtė GM (2016) The beginnings of rye (*Secale cereale*) cultivation in the East Baltics. *Veg Hist Archaeobot* 25(6): 601–610.

- Gupta R, Ramnani P (2006) Microbial keratinases and their prospective applications: an overview. *Appl Microbiol Biotechnol* 70: 21–33.
- Guthrie RD (1990) *Frozen Fauna of the Mammoth Steppe: The Story of Blue Babe*. University of Chicago Press, Chicago.
- Gyulai F (2014) Archaeobotanical overview of rye (*Secale cereale* L.) in the carpathian basin I. From the beginning until the Roman age. *25 Columella-J Agric Environ Sci* 1(2).
- Haefner JN, Wallace JR, Merritt RW (2004) Pig decomposition in lotic aquatic systems: The potential use of algal growth in establishing a postmortem submersion interval (PMSI). *J Forensic Sci* 49:330–336.
- Haglund WD (1991) *Applications of Taphonomic Models to Forensic Investigations*. Unpublished Ph.D, Dissertation, University of Washington, Seattle.
- Haglund WD (1997) *Forensic Taphonomy The Postmortem Fate of Human Remains*. Sorg MH (ed) CRC Press, Boca raton.
- Haglund WD, Sorg MH (eds) (2002) *Advances in Forensic Taphonomy: Method, theory and archaeological perspective*. CRC Press, Boca Raton, London, pp 133–150.
- Haglund WE (1993) Disappearance of Soft Tissue and the Disarticulation of Human Remains from Aqueous Environments. *J Forensic Sci* 38(4):806–815.
- Hall A, Ballantyne J (2004) Characterization of UVC-induced DNA damage in bloodstains: forensic implications, *Anal Bioanal Chem* 380 (1): 72–83.
- Hall K (1999) The role of thermal stress fatigue in the breakdown of rock in cold regions. *Geomorphology* 31:47–63.
- Harbison S, Fleming R (2016) Forensic body fluid identification: state of the art. *Forensic Medical Science* 6: 11–23.
- Hartl DL (2011) *Essential genetics: a genomics perspective*. Fifth edn. Sudbury (MA), Jones and Bartlett Publishers.
- Haszprunar G (1988) Anatomy and relationships of the bone-feeding limpets, *Cocculinella minutissima* (Smith) and *Osteopelta mirabilis* (Marshall) (Archaeogastropoda). *J Molluscan Stud* 54:1–20.
- Hauck MM (2005) Forensic Fiber Examination and Analysis. *Forensic Sci Rev* 17(1): 29-49.
- Hearle JWS, Schwaller D (2011) Fibres. Part 2: Structure. In: Elvers B (ed), *Ullmann's Encyclopaedia of Industrial Chemistry*, Wiley-VCH, Weinheim.
- Hedges REM, Millard AR, Pike AWG (1995) Measurements and relationships of diagenetic alteration of bone from three archaeological sites. *J Archaeol Sci* 22:201–211.
- Henderson J (1987) Factors determining the state of preservation of human remains. In Boddington A, Garland AN, Janaway RC (eds) *Death, Decay and Reconstruction: Approaches to Archaeology and Forensic Science*, Manchester University Press, Manchester, pp 43–54.
- Henry AG (2020) Starch Granules as Markers of Diet and Behavior, pp 97–116.
- Heywood D (2003) *Textile Finishing*. Society of Dyers and Colourists, Bradford.
- Higgs ND, Glover AG, Dahlgren TG, Little CT (2011) Bone-boring worms: characterizing the morphology, rate, and method of bioerosion by *Osedax mucofloris* (Annelida, Siboglinidae). *Biol Bull.* 221(3): 307-16.
- Higgs ND, Glover AG, Dahlgren TG, Little CTS (2010) Using computed-tomography to document borings by *Osedax mucofloris* in whale bone. *Cah Biol Mar* 51: 401–405.

- Higgs ND, Glover AG, Dahlgren TG, Little CTS (2011b) Bone-boring worms: Characterizing the morphology, rate, and method of bioerosion by *Osedax mucofloris* (Annelida, Siboglinidae). *Biological Bulletin, Marine Biological Laboratory, Woods Hole* 221:307–316.
- Higgs ND, Glover AG, Dahlgren TG, Smith CR, Fujiwara Y, Pradillon F, Johnson SB, Vrijenhoek RC, Little CT (2014). The morphological diversity of *Osedax* worm borings (Annelida: Siboglinidae). *J Mar Biol Assoc UK*, 94(7):1429-1439.
- Higgs ND, Little CTS, Glover AG, Dahlgren TG, Smith CR, Dominici S (2012) Evidence of *Osedax* worm borings in Pliocene (~ 3 Ma) whale bone from the Mediterranean. *Hist Biol* 24:269–277.
- Higgs ND, Pokines JT (2013) Marine environmental alterations to bone. In: Pokines JT, Symes SA (eds) *Manual of Forensic Taphonomy*. CRC Press, Boca Raton, pp 143–180.
- Hight LM, Wilker JJ (2007) Synergistic effects of metals and oxidants in the curing of marine mussel adhesive. *J Mater Sci* 42:8934–8942.
- Hillman G (1978) On the Origins of Domestic Rye— *Secale Cereale*: the Finds from Aceramic Can Hasan III in Turkey, *Anatolian Studies*, 28:157–174.
- Hillson S (2005) *Teeth*, (2nd edn) Cambridge university press.
- Hochmeister MN, Budowle B, Rudin O, Gehrig C, Borer U, Thali M, Dirnhofer R (1999) Evaluation of Prostate-Specific Antigen (PSA) Membrane Test Assays for the Forensic Identification of Seminal Fluid. *J Forensic Sci* 44 (5): 1057–1060.
- Hofmann E (1896) *Textbook of Legal Medicine*. 629.
- Hopkins TS (1985) Physics of the sea. In Margalef R (ed) *Western Mediterranean*. Pergamon, New York, pp 100-125.
- Horvath AL (2009) Solubility of structurally complicated materials: 3, Hair, *Sci World J* 9: 255–271.
- Houck MM, Budowle B (2002) Correlation of microscopic and mitochondrial DNA hair comparisons. *J Forensic Sci* 47(5): 964-7.
- Hoyoux C, Zbinden M, Samadi S, Gaill F, Compère P (2012) Diet and gut microorganisms of *Munidopsis* squat lobsters associated with natural woods and mesh-enclosed substrates in the deep South Pacific. *Mar Biol Res* 28: 28–47.
- Huchet JB, Pereira G, Gomy Y, Philips TK, Alatorre-Bracamontes CE, Vásquez-Bolaños M, Mansilla J (2013) Archaeoentomological study of a pre-Columbian funerary bundle (mortuary cave of Candelaria, Coahuila, Mexico). *Annales de la Société entomologique de France (N.S.)* 49(3): 277–290.
- Hughes E (2001) Skin: its structure, function and related pathology. In Hughes E, Van Onselen J (eds) *Dermatology Nursing: A Practical Guide*. Churchill Livingstone, Edinburgh.
- Hussein Were F, Njue W, Murungi J, Wanjau R (2008) Use of human nails as bio-indicators of heavy metals environmental exposure among school age children in Kenya. *Sci Total Environ* 393(2-3): 376-384.
- Ihama Y, Ninomiya K, Noguchi M, Fuke C, Miyazaki T (2009) Characteristic features of injuries due to shark attacks: A review of 12 cases. *Leg Med* 11: 219–225.
- Incze G (1942) Fremdkörper in Blutkreislauf Ertrunkener. *Zentralbl Allg Pathol Anat* 79: 176.
- Introna F, Campobasso CP, Goff ML (2001) Entomotoxicology. *Forensic Sci Int* 120(1): 42-47.
- Introna F, Di Vella G, Campobasso CP (2013) Migrant deaths and the Kater Radez I wreck: from recovery of the relict to marine taphonomic findings and identification of the victims. *Int J Legal Med* 127: 871–879.

- IOM (International Organization for Migration) (2021) Missing Migrant Project. International Organization for Migration, Geneva. Disponibile a: <http://missingmigrants.iom.int>
- İşcan MY, McCabe BQ (1995) Analysis of human remains recovered from a shark. *Forensic Sci Int* 72:15–23.
- Ismail SB, Schroeder K, Sammari C, Gasparini GP, Borghini M, Aleya L (2014) Interannual variability of water mass properties in the Tunisia–Sicily Channel. *J Mar Syst* 135: 14–28.
- ISPRA (2014) Metodi biologici per le acque superficiali interne. Disponibile a: https://www.isprambiente.gov.it/files/pubblicazioni/manuali-lineeguida/MLG__111_2014_Metodi_Biologici_acque.pdf
- ISTAT (2017) Le Vittime Di Omicidio. Disponibile a: https://www.istat.it/it/files/2018/11/Report_Vittime-omicidi.pdf
- Janaway RC (1987) The preservation of organic materials in association with metal artefacts deposited in inhumation graves. In: Boddington A, Garland AN, Janaway RC (eds) *Death, Decay and Reconstruction*. Manchester University Press, Manchester, pp 127–148.
- Janaway RC (1996) The decay of buried human remains and their associated materials. In: Hunter J, Roberts CA, Martin A (eds) *Studies in Crime: An introduction to forensic archaeology*. BT Batsford, London, pp 58–85.
- Janaway RC (2002) Degradation of clothing and other dress materials associated with buried bodies in both archaeological and forensic interest. In: Haglund WD, Sorg MH (eds) *Advances in Forensic Taphonomy: Method, theory and archaeological perspectives*. CRC Press, Boca Raton, pp 379–402.
- Janaway RC (2008) The decomposition of materials associated with buried cadavers. In: Tibbett M, Carter DO (eds) *Soil Analysis in Forensic Taphonomy: Chemical and biological effects of buried human remains*. CRC Press, Boca Raton, pp 153–202.
- Jangoux M (1982) Food and Feeding Mechanisms: Asteroidea. In Jangoux M, Lawrence JM (eds) *Echinoderm nutrition*. AA Balkema, Rotterdam. pp 117–159.
- Jans MME, Kars H, Nielsen-Marsh CM, Smith CI, Nord AG, Arthur P, Earl N (2002) In situ preservation of archaeological bone: A histological study within a multidisciplinary approach. *Archaeometry* 44: 343–352.
- Johnston E, Ames CE, Dagnall KE, Foster J, Daniel BE (2008) Comparison of presumptive blood test kits including hexagon OBTI. *J Forensic Sci* 53 (3): 687–689.
- Jones WJ, Johnson SB, Rouse GW, Vrijenhoek RC (2008) Marine worms (genus *Osedax*) colonize cow bones. *Proc R Soc Lond B* 275: 387–391.
- Juhola T, Etu-Sihvola HSK, Näreoja T, Ruohonen J (2014) Starch analysis reveals starchy foods and food processing from finnish archaeological artefacts. *Fennoscandia Archaeologica*, pp 79–100.
- Kadej M, Szleszkowski Ł, Thannhäuser A, Jurek T (2020) A mummified human corpse and associated insects of forensic importance in indoor conditions. *Int J Legal Med* 134(5): 1963–1971.
- Kage S, Kudo K, Kaizoji A, Ryumoto J, Ikeda H, Ikeda N (2001) A simple method for detection of gunshot residue particles from hands, hair, face, and clothing using scanning electron microscopy/wavelength (SEM/WDX). *J Forensic Sci* 46(4): 830–834.
- Kakizaki E, Sonoda A, Shinkawa N, Yukawa N (2019). A new enzymatic method for extracting diatoms from organs of suspected drowning cases using papain: Optimal digestion and first practical application. *Forensic Sci Int* 297: 204–216.
- Kakizaki E, Yukawa N (2015). Simple protocol for extracting diatoms from lung tissues of suspected drowning cases within 3 h: first practical application. *Forensic Sci Int* 251:179–185.

- Kamanna S, Henry J, Voelcker N, Linacre A, Kirkbride PK (2018) A complementary forensic 'proteo-genomic' approach for the direct identification of biological fluid traces under fingernails. *Anal Bioanal Chem* 410 (24): 6165–6175.
- Kamanna S, Henry J, Voelcker NH, Linacre A, Kirkbride PK (2017) A mass spectrometry-based forensic toolbox for imaging and detecting biological fluid evidence in finger marks and fingernail scrapings. *Int J Legal Med* 131 (5): 1413–1422.
- Kaul S, Sumbali G (1997) Keratinolysis by poultry farm soil fungi. *Mycopathologia* 139: 137–140.
- Kaushik N, Pal KS, Sharma A, Thakur G (2017) Role of diatoms in diagnosis of death due to drowning: case studies. *Medicine* 7(1): 59-65.
- Kaushik N, Pal SK, Sharma A, Thakur G (2017) Role of Diatoms in Diagnosis of Death Due to Drowning: Case Studies. *Int J Med Toxicol Forensic Med* 7(1): 5965.
- Keenleyside A (2008) Dental pathology and diet at Apollonia, a Greek colony on the Black Sea. *Int J Osteoarchaeol* 18(3): 262–279.
- Kellogg CE (1950) Soil. *Scientific American* 183(1): 30-39.
- Kelly JA, van der Linde TC, Anderson GS (2009) The influence of clothing and wrapping on carcass decomposition and arthropod succession during the warmer seasons in Central South Africa. *J Forensic Sci* 54: 1105–1112.
- Kelly S, Bromley R (1984) Ichnological nomenclature of clavate borings. *Palaeontology* 27: 793–807.
- Keough N, Myburgh J, Steyn M (2017) Scoring of Decomposition: A Proposed Amendment to the Method When Using a Pig Model for Human Studies. *J Forensic Sci* 62(4): 986-993.
- Kerbis Peterhans JC (1990) The Roles of Porcupines, Leopards, and Hyenas in Ungulate Carcass Dispersal: Implications for Paleoanthropology. Unpublished PhD Dissertation, Department of Anthropology, University of Chicago, Chicago.
- Khushbu K, Shalika N, Rashmi K (2017) Identification of blood stains under different environmental conditions. *Int J Biomed Sci* 8 (12) :707–710.
- Killgrove K (2015) These 6 'Body Farms' help forensic anthropologists learn to solve crimes. *Forbes Science*. Disponibile a: <https://www.forbes.com/sites/kristinakillgrove/2015/06/10/these-six-body-farms-help-forensic-anthropologists-learn-to-solve-crimes/?sh=20f51aa489fd>
- Kinaston R, Willis A, Miskiewicz JJ, Tromp M, Oxenham MF (2019) The Dentition: Development, Disturbances, Disease, Diet, and Chemistry', In Buikstra JE (ed) *Ortner's Identification of Pathological Conditions in Human Skeletal Remains*. Academic Press, pp 749-797.
- Kintz P, Villain M, Cirimele V (2006) Hair analysis for drug detection. *Ther Drug Monit* 28(3): 442-446.
- Kirkbride K, Tungol M (1999) Infrared microspectroscopy of fibres. In Robertson J, Grieve M (eds) *Forensic examination of fibres*, 2nd edn, CRC, New York, pp 179–222.
- Kishbaugh JM, Cielski S, Fatusky A, Lighthart S, Maguire K, Quarino L, Conte J (2019) Detection of prostate specific antigen and salivary amylase in vaginal swabs using SERATEC® immunochromatographic assays. *Forensic Sci Int* 304: 109899.
- Kite M, Thomson R (2006) *Conservation of Leather and Related Materials*. Butterworth-Heinemann, London.
- Knight B (ed) (2002) *The Estimation of the Time since Death in the Early Postmortem Period*. Edward Arnold, London.

- Koch SL, Michaud AL, Mikell CE (2013) Taphonomy of hair – a study of postmortem root banding. *J Forensic Sci* 58: S52–S59.
- Kolowski JC, Petraco N, Wallace MM, De Forest PR, Prinz M (2004) A comparison study of hair examination methodologies. *J Forensic Sci* 49(6): JFS2003430-3.
- Köppen W (1936) Das geographische System der Klimate, in Von Hann J (ed) *Handbuch der Klimatologie*, vol. 1, Nabu Press, Berlino, Borntraeger.
- Kornilowicz-Kowalska T, Bohacz J (2010) Dynamics of growth and succession of bacterial and fungal communities during composting of feather waste. *Bioresour Technol* 101: 1268–1276.
- Kornilowicz-Kowalska T, Bohacz J (2011) Biodegradation of keratin waste: theory and practical aspects. *Waste Management* 31: 1689–1701.
- Krüger GC, L'Abbé EN, Stull KE, Kenyhercz MW (2015) Sexual dimorphism in cranial morphology among modern South Africans. *Int J Legal Med* 129(4): 869–875.
- Kruuk H (1972) *The Spotted Hyaena*. University of Chicago Press, Chicago.
- Kruuk H (2002) *Hunter and Hunted: Relationships Between Carnivores and People*. Cambridge University Press, Cambridge.
- Kumar H, Haddish K, Lacerenza D, Aneli S, Di Gaetano C, Teweledmedhin G, Manukonda R, Futwi N, Alvarez-Iglesias V, de la Puente M, Fondevila M, Lareu MV, Phillips C, Robino C (2020) Characterization of ancestry informative markers in the Tigray population of Ethiopia: A contribution to the identification process of dead migrants in the Mediterranean Sea. *Forensic Sci Int Genet* 45:102207.
- Kunert J, Krajci D (1981) An electron microscopy study of keratin degradation by the fungus *Microsporium gypseum* in vitro. *Mykosen* 24: 485–496.
- L'Abbé EN, Symes SA, Stull KE, Lacroix M, Pokines JT (2021) Taphonomy and the Timing of Bone Fractures in Trauma Analysis. In Pokines JT, L'Abbé EN, Symes SA (eds) *Manual of Forensic Taphonomy*. CRC Press, Boca Raton, pp 473-502.
- L'Abbé EN, van Rooyen C, Nawrocki SP, Becker PJ (2011) An evaluation of non-metric cranial traits used to estimate ancestry in a South African sample. *Forensic Sci Int*, 209(1–3): 195.e1-195.e7.
- Lancia M, Conforti F, Aleffi M, Caccianiga M, Bacci M, Rossi R (2012) The use of *Leptodictium riparium* (Hedw.) Warnst in the estimation of minimum postmortem interval. *J Forensic Sci* 58(1): 239–242.
- Lane MA, Anderson LC, Barkley TM, Bock JH, Gifford EM, Hall DW, Norris DO, Rost TL, Stern WL (1990) Forensic botany: Plants, perpetrators, pests, poisons, and pot. *BioScience* 40(1): 3439.
- Lascaratatos A (1993) Estimation of deep and intermediate water mass formation rates in the Mediterranean Sea. *Deep Sea Res II, Top Stud Oceanogr* 40(6):1327-1332.
- Lawton S (2019) Skin 1: the structure and functions of the skin. *Nursing Times* 115(12): 30-33. Disponibile a: <https://www.nursingtimes.net/clinical-archive/dermatology/skin-1-the-structure-and-functions-of-the-skin-25-11-2019/>
- Legge 10/02/2020 n. 10, PROVVEDIMENTO Disposizione del proprio corpo post mortem a fini di studio e ricerca.
- Legge 29/12/1993 n. 578, Art. 1, diagnosi di morte, norme per l'accertamento e la certificazione di morte.
- Lentz AK, Burgess GH, Perrin K, Brown JA, Mazingo DW, Lottenberg L (2010) Mortality and management of 96 shark attacks and development of a shark bite severity scoring system. *Am Surg* 76:101–106.

- Lin AY, Hsieh HM, Tsai LC, Linacre A, Lee JI (2007) Forensic applications of infrared imaging for the detection and recording of latent evidence. *Forensic Sci Int* 52 (5): 1148–1150.
- Lin MC, Tsai TC, Yang YS (1992) Measurement of viscosity of human semen with a rotational viscometer. *Journal of the Formosan Medical Association= Taiwan yi zhi* 91(4): 419-423.
- Lincoln CA, McBride PM, Turbett GR, Garbin CD, MacDonald EJ (2006) The use of an alternative light source to detect semen in clinical forensic medical practice. *J Clin Forensic Med* 13 (4): 215–218.
- Lindahl T (1993) Instability and decay of the primary structure of DNA. *Nature* 362 (6422):709–715.
- Lippi MM et al. (2015) Multistep food plant processing at Grotta Paglicci (Southern Italy) around 32,600 cal B.P., *Proc Natl Acad Sci USA*, 112(39), pp 12075–12080.
- Lister DL, Jones H, Oliveira HR, Petrie CA, Liu X, Cockram J, Kneale CJ, Kovaleva O, Jones MK (2018) Barley heads east: Genetic analyses reveal routes of spread through diverse Eurasian landscapes, *PLoS ONE*, 13(7): e0196652.
- Locard E (1930) Analyses of dust traces parts I, II and III. *Am J Police Sci* 276–298, 401–418, 496–514.
- Locard E (1934) *La police et les méthodes scientifiques*. Editions Rieder, Paris.
- Lombardi G (1999) The contribution of forensic geology and other trace evidence analysis to the investigation of the killing of Italian Prime Minister Aldo Moro. *J Forensic Sci*, 44(3): 634-42.
- Lord WD, Stevenson JR (1986) *American Registered Professional Entomologists*. Chesapeake Chapter, Washington DC.
- Lowe GDO, Lee AJ, Rumley A, Price JF, Fowkes FGR (1997) Blood viscosity and risk of cardiovascular events: the Edinburgh Artery Study. *Bri J Haematol* 96(1): 168-173.
- Lu H, Lua H, Zhanga J, Liub K-B, Wua N, Lic Y, Zhoua K, Yed M, Zhange T, Zhange H, Yangf X, Shene L, Xua D, Lia Q (2009) Earliest domestication of common millet (*Panicum miliaceum*) in East Asia extended to 10,000 years ago. *Proc Natl Acad Sci USA*, 106(18): 7367–7372.
- Ludes B, Coste M, North N, Doray S, Tracqui A, Kintz P (1999) Diatom analysis in victim's tissues as an indicator of the site of drowning. *Int J Legal Med* 112(3): 163-166.
- Łukasz L, Pieroni A, Tardío J, Pardo-de-Santayana M, Soukand R, Svanberg I, Kalle R (2012) Wild food plant use in 21st century Europe: The disappearance of old traditions and the search for new cuisines involving wild edibles. *Acta Soc Bot Pol Pol Tow Bot* 81 (4): 359–370.
- Lunetta P (2016) *Autopsy Findings: Drowning and Submersion Deaths*. *Encyclopedia of Forensic and Legal Medicine*. 2 nd edn, Elsevier.
- Lupo KD (1998) Experimentally derived extraction rates for marrow: Implications for body part exploitation strategies of Plio-Pleistocene hominid scavengers. *J Archaeol Sci* 25: 657–675.
- Lynch MH (1840) Analysis of Madame Lafarge's Trial, with Remarks on the Medical Evidence. *Provincial Medical & Surgical Journal* 1(2): 17-19.
- Lynnerup N, Hjalgrim H, Eriksen B (1995) Routine use of ultraviolet light in medicolegal examinations to evaluate stains and skin trauma. *Med Sci Law* 35 (2): 165–168.
- Maass BL, Knox MR, Venkatesha SC, Angessa TT, Ramme S, Pengelly BC (2010) *Lablab purpureus*—A crop lost for Africa? *Trop Plant Biol* 3.3: 123-135.
- MacCrehan WA, Layman MJ, Secl JD (2003) Hair combing to collect organic gunshot residues (OGSR). *Forensic Sci Int* 135(2): 167-173.

- Madrigal TC, Holt JZ (2002) White-tailed deer meat and marrow return rates and their application to Eastern Woodlands archaeology. *American Antiquity* 67:745–759.
- Maghin F, Andreola SA, Boracchi M, Gentile G, Maciocco F, Zoja R (2018) Characterization with Scanning Electron Microscopy/Energy-Dispersive X-ray Spectrometry of microtraces from the ligature mean in hanging mechanical asphyxia: a series of forensic cases. *Am J Forensic Med Pathol* 39:1–7.
- Maitre M, Kirkbride KP, Horder M, Roux C, Beavis A (2017) Current perspectives in the interpretation of gunshot residues in forensic science: A review. *Forensic Sci Int* 270:1-11.
- Makino Y, Tachihara K, Ageda S, Arao T, Fuke C, Miyazaki T (2004) Peculiar circular and C-shaped injuries on a body from the sea. *Am J Forensic Med Pathol* 25:169–171.
- Mann RW, Bass WM, Meadows L (1990) Time Since Death and Decomposition of the Human Body: Variables and Observations in Case and Experimental Field Studies. *J Forensic Sci* 35 (1): 103–111.
- Manning K, Pelling R, Higham T, Schwenniger J-L, Fullerd DQ (2011) 4500-Year old domesticated pearl millet (*Pennisetum glaucum*) from the Tilemsi Valley, Mali: New insights into an alternative cereal domestication pathway. *J Archaeol Sci* 38(2): 312–322.
- Marangoni AG (2003) *Enzyme kinetics: a modern approach*. 1st edn, John Wiley & Sons Inc, Hoboken.
- Marezza F, Marchetti C, Lanzi G, Lusetti A, Bertani A, Cecchi R (2021) Diatom extraction: A new technique with heated H₂O₂. A technical note. *Legal Medicine*, 50, 101861.
- Margiotta G, Bacaro G, Carnevali E, Severini S, Bacci M, Gabrielli M (2015) Forensic botany as useful tool in the crime scene: report of a case. *J Forensic Leg Med* 34:24–28.
- Marshall BA (1987) Osteopeltidae (Mollusca: Gastropoda): A new family of limpets associated with whale bone in the deep sea. *J Molluscan Stud* 53:121–127.
- Massaquoi RCJ (2021) *Foods of Sierra Leone and Other West African Countries: A Cookbook*, New Publisher.
- Mather RR, Wardman RH (2011) *The Chemistry of Textile Fibres*. Royal Society of Chemistry, Cambridge.
- Matsuoka N, Merton J (2008) Frost weathering: Recent advances and future directions. *Permafrost and Periglacial Processes* 19:195–210.
- Matte M, Williams L, Frappier R, Newman J (2012) Prevalence and persistence of foreign DNA beneath fingernails. *Forensic Sci Int Genet* 6 (2): 236–243.
- Mayer RG (2012) *Embalming: history, theory, and practice*. McGraw Hill / Medical, New York.
- Mazzarelli D, Bertoglio B, Boscacci M, Caccia G, Ruffetta C, De Angelis D, Fracasso T, Baraybar JP, Riccio S, Marzagalia MM, Cattaneo C (2021) Ambiguous loss in the current migration crisis: A medico-legal, psychological, and psychiatric perspective. *Forensic Sci Int: Mind and Law*, 2, 100064.
- Mazzarelli D, Vanin S, Gibelli D, Maistrello L, Porta D, Rizzi A, Cattaneo C (2015) Splitting hairs: differentiating between entomological activity, taphonomy, and sharp force trauma on hair. *Forensic Sci Med Pathol* 11 (1): 104–110.
- Mc Rae S (1991) *Pedologia Pratica: come studiare i suoli sul campo*. Zanichelli, Bologna.
- McLaughlin G, Lednev IK (2015) In Situ Identification of Semen Stains on Common Substrates via Raman Spectroscopy. *J Forensic Sci* 60 (3): 595–604.
- McNally L, Shaler RC, Baird M, Balazs I, De Forest P, Kobilinsky L (1989) Evaluation of Deoxyribonucleic Acid (DNA) Isolated from Human Bloodstains Exposed to Ultraviolet Light, Heat, Humidity, and Soil Contamination. *J Forensic Sci* 34 (5): 1059–1069.

- Megnin JP (1894) La faune des cadavres. Application de l'Entomologie a la Medicine Legal. G. Masson: Gauthier-Villars et fils, Paris.
- Megyesi MS, Nawrocki SP, Haskell NH (2005) Using accumulated degree-days to estimate the postmortem interval from decomposed human remains. *J Forensic Sci.* May 50(3): 618-26.
- Meixner E, Kallapurackal V, Kratzer A, Voegeli P, Thali MJ, Bolliger SA (2020) Persistence and detection of touch DNA and blood stain DNA on pig skin exposed to water. *Forensic Sci Med Pathol* 16 (2): 243–251.
- Mer et littoral. In writing, October 2007, Description of Lepas (Anatifa) anatifera, [On line] Disponibile a: [https://www.european-marine-life.org/24/lepas-\(anatifa\)-anatifera.php](https://www.european-marine-life.org/24/lepas-(anatifa)-anatifera.php)
- Mercader J, Abtosway M, Bird R, Bundala M, Clarke S, Favreau J, Inwood JL, Itambu M, Larter F, Lee P, Patalano R, Soto M, Tucker L, Walde D (2018) Morphometrics of starch granules from sub-saharan plants and the taxonomic identification of ancient starch. *Frontiers in Earth Science* 6: 1–34.
- Merli D, Amadasi A, Mazzarelli D, Cappella A, Castoldi E, Ripa S, Cucca L, Cattaneo C, Profumo A (2019) Comparison of different swabs for sampling inorganic gunshot residue from gunshot wounds: applicability and reliability for the determination of firing distance. *J Forensic Sci* 64:558–564.
- Merritt RW, Wallace JR (2010) The role of aquatic insects in forensic investigations. In Byrd JH, Castner JL (eds) *Forensic Entomology: The utility of arthropods in legal investigations*, CRC Press, Boca Raton, pp 271–319.
- Messenger AG (2011) Hair through the female life cycle. *Br J Dermatol* 165:2-6.
- Micozzi MS (1991) *Postmortem Change in Human and Animal Remains: a Systematic Approach*. C.C. Thomas, Springfield.
- Micozzi MS (1997) Frozen environments and soft tissue preservation. In Haglund WD, Sorg MH (eds) *Forensic Taphonomy: The Postmortem Fate of Human Remains*, CRC Press, Boca Raton, pp 171-180.
- Mildenhall DC (2006) Hypericum pollen determines the presence of burglars at the scene of a crime: an example of forensic palynology. *Forensic Sci Int* 163(3):231-5.
- Miller KWP, Old J, Fischer BR, Schweers B, Stipinaite S, Reich K (2011) Developmental validation of the Sperm Hy-Liter™ Kit for the identification of human spermatozoa in forensic samples. *J Forensic Sci* 56 (4): 853–865.
- Miranda-Vilela AL, Botelho ADJ, Muehlmann LA (2014) An overview of chemical straightening of human hair: technical aspects, potential risks to hair fibre and health and legal issues. *Int J Cosmetic sci* 36(1): 2-11.
- Mogensen M, Thomsen JB, Skovgaard LT, Jemec GBE (2007) Nail thickness measurements using optical coherence tomography and 20-MHz ultrasonography. *Br J Dermatol* 157: 894-900.
- Mohamedkheir KD, Ibrahim SE, Sapey E, Han T (2018) History, current status, and prospects of soybean production and research in sub-Saharan Africa. *Crop J* 6(3): 226-235.
- Montali E, Mercuri AM, Trevisan Grandi G, Accorsi CA (2006) Towards a "crime pollen calendar" - pollen analysis on corpses throughout one year. *Forensic Sci Int* 163(3): 211–223.
- Morel A (1971) Caractères hydrologiques des eaux échangées entre le bassin oriental et le bassin occidental de le Méditerranée. *Cah Ocean* 23(4): 329-342.
- Morgan RM, Bull PA (2007) Forensic geoscience and crime detection. *Minerva Medicolegale* 127:73-89.

- Morgan RM, Freudiger-Bonzon J, Nichols KH, Jellis T, Dunkerley S, Zelazowski P, Bull PA (2009) The forensic analysis of sediments recovered from footwear. In *Criminal and environmental soil forensics*, Springer, Dordrecht, pp 253-269.
- Morin E (2007) Fat composition and Nunamiut decision-making: A new look at the marrow and bone grease indices. *J Archaeol Sci* 34:69–82.
- Muccino E, Giovanetti GF, Crudele GD, Gentile G, Marchesi M, Rancati A, Zoja R (2016) Characterisation of the weapon used in a patricide by SEM/EDS analysis of a microscopic trace from the object. *Med Sci Law* 56: 221–226.
- Murray KR, Fitzpatrick RW, Bottrill R, Kobus H (2017) Patterns produced when soil is transferred to bras by placing and dragging actions: The application of digital photography and image processing to support visible observations. *Forensic Sci Int* 276: 24-40.
- Murray KR, Fitzpatrick RW, Bottrill RS, Berry R, Kobus H (2016) Soil transference patterns on bras: Image processing and laboratory dragging experiments. *Forensic Sci Int* 258:88-100.
- Murray RC, Tedrow JCF (1975) *Forensic geology* Rutgers University Press, New Brunswick.
- Murray RC, Tedrow JCF (1991) *Forensic Geology*. Prentice Hall, Englewood Cliffs, NJ.
- Nambiar P, Brown KA, Bridges TE (1996) Forensic implications of the variation in morphology of marginal serrations on the teeth of the great white shark. *J Forensic OdontoStomatol* 14: 3–9.
- Nanbol K, Namu O (2019) The Contribution of Root and Tuber Crops to Food Security: A Review. *J Agricultural Sci Technol B* 9.4.
- National Research Council (1996) *Lost Crops of Africa*. In: *Grains, Lost Crops of Africa*. Vol 1 The National Academies Press Washington.
- Natura 2000 a, Formulario standard, versione EUR13, Sito:IT2080002 Basso corso e sponde del Ticino.
- Natura 2000 b, Formulario standard, versione EUR14, Sito:IT2080301 Boschi del Ticino.
- Navega D, Coelho C, Vicente R, Ferreira M, Wasterlain S, Cunha E (2015) AncesTrees: ancestry estimation with randomized decision trees. *Int J Legal Med* 129(5):1145-53.
- Nawrocki SP, Pless JE, Hawley DA, Wagner SA (1997) Fluvial transport of human crania. In Haglund WD, Sorg MH (eds) *Forensic Taphonomy: The post-mortem fate of human remains*. CRC Press, Boca Raton, pp 529–552.
- Neumann K, Chevalier A, Vrydaghs L (2017) *Phytoliths in archaeology: recent advances. Vegetation History and Archaeobotany*. Springer, New York, pp 1–3.
- Nguyen JNT, Harbison AM (2017) Scanning Electron Microscopy sample preparation and imaging. In Espina V (ed) *Molecular Profiling. Methods in Molecular Biology*. Humana Press, New York, pp 71–84.
- Nicholson RA (1996) Bone degradation, burial medium and species representation: Debunking the myths, an experiment-based approach. *J Archaeol Sci* 23:513–533.
- Nickerson D (1976) History of the Munsell color system, company, and foundation. *Color Res Appl.* 1(1):7-10. Disponibile a: <https://munsell.com/wp-content/uploads/2011/03/munsell-color-history-dorothy-nickerson.pdf>.
- Nielsen-Marsh CM, Gernaey AM, Turner-Walker G, Hedges REM, Pike AWG, Collins MJC (2000) The chemical degradation of bone. In Cox M, Mays S (eds) *Human Osteology in Archaeology and Forensic Science*, Greenwich Medical Media, London, pp 439-454.
- Nielsen-Marsh CM, Hedges REM (2000) Patterns of diagenesis in bone I: The effects of site environments. *J Archaeol Sci* 27:1139–1150.

- Nornile D (1997) Yangtze seen as earliest rice site, *Science*. American Association for the Advancement of Science, p 309.
- Nweke F, Aidoo R, Okoye B (2019) Yam Consumption Patterns in West Africa. *Gates Open Res* 3:637- 637.
- Nweze EI (2011) Dermatophytoses in domesticated animals. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 53: 94–99.
- O'Brien TG (1996) Movement of Bodies in Lake Ontario.
- O'Brien TG, Kuehner AC (2007) Waxing grave about adipocere: soft tissue change in an aquatic context. *J Forensic Sci* 52(2):294-301.
- Oagile O, Davey MR, Alderson PG (2007) African Yam Bean: An Under-Utilized Legume with Potential as a Tuber and Pulse Crop. *J Crop Improv* 20(1-2): 53–71.
- Obilana AB (2003) Overview: importance of millets in Africa. *World (all cultivated millet species)* 38: 28.
- Odeny DA (2007) The potential of pigeonpea (*Cajanus cajan* (L.) Millsp.) in Africa. *Natural resources forum*. Vol. 31. No. 4. Blackwell Publishing Ltd, Oxford.
- Oehmichen M (2004) Vitality and time course of wounds. *Forensic Sci Int* 144: 221–231.
- Okafor JI, Ada N (2000) Keratinolytic activity of five human isolates of the dermatophytes. *J Commun Dis* 32: 300–305.
- Oostra RJ, Gelderman T, Groen WM, Uiterdijk HG, Cammeraat EL, Krap T, ... Aalders MC (2020) Amsterdam Research Initiative for Sub-surface Taphonomy and Anthropology (ARISTA)—a taphonomic research facility in the Netherlands for the study of human remains. *Forensic Sci. Int* 317: 110483.
- Ottolenghi S (1910) *Trattato di Polizia Scientifica*. Società Editrice Libreria, Milano
- Oxenham MF, Cavill I (2010) Porotic hyperostosis and cribra orbitalia: the erythropoietic response to iron-deficiency anaemia. *Anthropol Sci* 118(3): 199–200.
- Oyama M, Takehara H (1967) Revised standard soil color charts. Van Boekhoven-Bosch, Utrecht.
- Palazzo E, Amadasi A, Boracchi M, Gentile G, Maciocco F, Marchesi M, Zoja R (2018) The detection of metallic residues in skin stab wounds by means of SEM-EDS: a pilot study. *Sci Justice* 58: 232–236.
- Palmer R, Hau P (2010) The Ipswich serial killings. *Sci Justice* 50(1): 40.
- Parsons KM, Brett CE (1991) Taphonomic Processes and Biases in Modern Marine Environments: An Actualistic Perspective of Fossil Assemblage Preservation. In Donovan SK (ed) *The Processes of Fossilization*, Columbia University Press, New York, pp 22-65.
- Pate FD, Hutton JT (1988) The use of soil chemistry data to address post-mortem diagenesis in bone mineral. *J Archaeol Sci* 15:729–739.
- Pate FD, Hutton JT, Norrish K (1989) Ionic exchange between soil solution and bone: Toward a predictive model. *Applied Geochemistry* 4:303–316.
- Pawaskar SS, Damann FE ‘Commingled Remains Analytics (CoRA)’, <https://www.coracore.org/>.
- Payne JA, King EW (1972) Insect succession and decomposition of pig carcasses in water. *J Ga Entomol Soc* 7: 153–162.
- Peacock EE (1996) Characterisation and simulation of water-degraded archaeological textiles: a review. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 38: 35–47.

- Pechnikov'a M, Porta D, Mazzarelli D, Rizzi A, Drozdová E, Gibelli D, Cattaneo C (2012) Detection of metal residues on bone using SEM-EDS. Part I: blunt force injury. *Forensic Sci Int* 30(223): 87–90.
- Perale M (2001) *Milacis cultus aperire paramus: 'De milacis cultura' di Pierio Valeriano, il primo testo europeo dedicato al fagiolo. Momenti AiCS, Disponibile a: <https://books.google.it/books?id=GaPfMgEACAAJ>.*
- Pères JM (1985) History of the Mediterranean biota and the colonization of the depths. In: Margalef R (ed) *Western Mediterranean Key environments*, Pergamon Press, Oxford, pp 198-232
- Pères JM, Picard J (1964) Nouveau manuel de bionomie bentique de la Mer Méditerranée. *Requiel des Trav la Stn Mar d'Endoume Bull* 31(47):5-137
- Picozzi M, Intini A (2009) *Scienze Forensi: Teoria e Prassi Dell'investigazione Scientifica*, UTET giuridica, Torino.
- Pijls LT, Timmer AA, Wolde-Gebriel Z, West CE (1995) Cultivation, preparation and consumption of ensete (*Ensete ventricosum*) in Ethiopia. *J Sci Food Agric* 67(1): 1-11.
- Piperno DR (2011) The origins of plant cultivation and domestication in the New World Tropics patterns, process, and new developments, *Curr Anthropol*, 52(SUPPL. 4): 453.
- Pirrie D (2018) Testing the efficiency of soil recovery from clothing for analysis by SEMEDS. *Forensic Sci Int* 289: 83–91.
- Pirrie D, Pidduck AJ, Crean DE, Nicholls TM, Awbery RP (2019) Identification and analysis of man-made geological product particles to aid forensic investigation of provenance in the built environment. *Forensic Sci Int* 305:109974.
- Pisera A, Gerovasileiou V (2021) Lithistid Demosponges of Deep-Water Origin in Marine Caves of the North-Eastern Mediterranean Sea. *Frontiers in Marine Science*.
- Pobiner BL (2007) *Hominin-Carnivore Interactions: Evidence from Modern Carnivore Bone Modification and Early Pleistocene Archaeofaunas (Koobi Fora, Kenya; Olduvai Gorge, Tanzania)*. Unpublished PhD Dissertation, Department of Anthropology, Rutgers University, Newark.
- Pokines JT (2009) Forensic recoveries of U.S. war dead and the effects of taphonomy and other site-altering processes. In Steadman DW (ed) *Hard Evidence: Case Studies in Forensic Anthropology*, 2nd edn, Prentice Hall, Upper Saddle River, pp 141-154.
- Pokines JT (2013) Faunal Dispersal, Reconcentration, and Gnawing Damage to Bone in Terrestrial Environments. In *Manual of forensic taphonomy*, CRC Press, Boca Raton, pp 202-242
- Pokines JT, Kerbis Peterhans JC (2007) Spotted hyena (*Crocuta crocuta*) den use and taphonomy in the Masai Mara National Reserve, Kenya. *J Archaeol Sci* 34:1914–1931.
- Pokines JT, Symes SA (eds) (2014). *Manual of forensic taphonomy*. CRC Press.
- Pollanen MS (1998) *Forensic Diatomology and Drowning*. Elsevier, Amsterdam.
- Pomponi SA (1980) Cytological mechanisms of calcium carbonate excavation by boring sponges. *Int Rev Cytol* 65:301–319.
- Porta D, Amadasi A, Cappella A, Mazzarelli D, Magli F, Gibelli D, ... Cattaneo, C (2016) Dismemberment and disarticulation: a forensic anthropological approach. *J Forensic Leg Med* 38: 50–57.
- Portale ARPA Piemonte. Disponibile a: <http://www.arpa.piemonte.it>
- Power RC, Salazar-García DC, Rubini M, Darlas A, Harvati K, Walker M, Hublin JJ, Henry AG (2018) Dental calculus indicates widespread plant use within the stable Neanderthal dietary niche, *J Hum Evol* 119: 27–41.

- Pragst F, Balikova MA (2006) State of the art in hair analysis for detection of drug and alcohol abuse. *Clin Chim Acta* 370(1): 17-49.
- Prassack KA (2011) The effect of weathering on bird bone survivorship in modern and fossil saline-alkaline lake environments. *Paleobiology* 37: 633–654.
- Proposta di legge, il 29 aprile 2019 (v. stampato Senato n. 733), Norme in materia di disposizione del proprio corpo e dei tessuti post mortem a fini di studio, di formazione e di ricerca scientifica Disponibile a: <http://www.quotidianosanita.it/allegati/allegato3377572.pdf>
- Puccini C (2003) Istituzioni di medicina legale, CEA, Milano.
- Quatrehomme G, Lacoste A, Bailet P, Grevin G, Ollier A (1997) Contribution of microscopic plant anatomy to post-mortem bone dating. *J Forensic Sci* 42(1):140–143.
- Quickenden TI, Creamer JI (2001) A study of common interferences with the forensic luminol test for blood, *Luminescence* 16: (4) 295–298.
- Quye A (2014) Factors influencing the stability of man-made fibres: a retrospective view for historical textiles. *Polymer Degradation and Stability* 107: 210–218.
- Radini A, Nikita E, Buckley S, Copeland L, Hardy K 2017. (2017) Beyond food: The multiple pathways for inclusion of materials into ancient dental calculus. *Am J Phys Anthropol* 162 (S63): 71–83.
- Radini A, Nikita E, Shillito LM (2016) Human Dental Calculus and a Medieval Urban Environment. In Jervis B, Broderick LG, Grau-Sologestoa I (eds) *Objects, Environment, and Everyday Life in Medieval Europe*. Brepols Publishers (History of Daily Life) pp 297–313.
- Radley JA (1976) (ed) *Examination and Analysis of Starch and Starch Products*, Examination and Analysis of Starch and Starch Products. Springer Science & Business Media, Berlino.
- Raschle P (1989) Microbial influence on cellulosic textiles and microbiological testing. *International Biodeterioration*, 25: 237–244.
- Raymer EC (1996) *Descent into Darkness; Pearl Harbor, 1941: The True Story of a Navy Diver*. Presidio Press, Novato.
- RCPA (2018) Evidence Based Forensic Sampling Standards. [Internet]. Durham Hall (Australia): The Royal College of Pathologists of Australasia. Disponibile a: <https://www.rcpa.edu.au/getattachment/a83318be-18cf-42f9-9332-7856856131f1/Evidence-Based-Forensic-Sampling-Standards.aspx>
- Regolamento di polizia mortuaria, Capo VI, Rilascio di cadaveri a scopo di studio, articoli 40-43.
- Ribéreau-Gayon A, Rando C, Morgan RM (2018) Human Remains in Marine Environments: Challenges and Future Developments. In Barone PM, Groen WM (eds) *Multidisciplinary Approaches to Forensic Archaeology*, Springer International Publishing, Cham pp 131-154.
- Ripamonti G, Salvioni O, Bassano C, Malatesta G, Malatesta GC (1641) *Iosephi Ripamontii canonici Scalensis chronistae vrbis Mediolani De peste quae fuit anno 1630 libri 5 desumpti ex annalibus vrbis quos 60 decurionum autoritate scribebat. apud Malatestas.*
- Ritter EK, Levine ML (2005) Bite motivation of sharks reflected by the wound structure on humans. *Am J Forensic Med Pathol* 26:136–140.
- Rivera F, Mirazon Lahr M (2017) New evidence suggesting a dissociated etiology for cribra orbitalia and porotic hyperostosis. *Am. J. Phys. Anthropol.* 164 (1): 76–96.
- Rivera, 2017, TV6 & FOX UP. Disponibile a: <https://www.uppermichiganssource.com/content/news/NewNMUFROSTFacility-445324583.html>
- Robbins CR (1994) *Chemical and Physical Behavior of Human Hair*. Springer, New York.

- Robertson J (1999) Forensic and Microscopic Examination of Human Hair. In J Robertson (Ed.) *Forensic Examination of Hair*. Taylor & Francis, pp 79-154.
- Robertson J, Aitken CGG (1986) The value of microscopic features in the examination of human head hairs: Analysis of comments contained in questionnaire returns. *J Forensic Sci* 31(2): 563-573.
- Robertson J, Grieve M (1999) *Forensic examination of fibres*. CRC Press, Boca Raton.
- Robinson S, Robinson AH (1954) Chemical composition of sweat. *Physiol Rev.* 34: 202–220.
- Rodriguez WC (1997) Decomposition of buried and submerged bodies. In: Haglund WD, Sorg MH (eds) *Forensic Taphonomy: The postmortem fate of human remains*, CRC Press, Boca Raton, pp 459–468.
- Rodriguez WC, Bass WM (1985) Decomposition of buried bodies and methods that may aid in their location. *J Forensic Sci* 30: 836–852.
- Rodriguez-Navarro C, Doehne E (1999) Salt weathering: Influence of evaporation rate, supersaturation and crystallization pattern. *Earth Surface Processes and Landforms* 24: 191–209.
- Rogers TL (2005) Recognition of cemetery remains in a forensic context. *J Forensic Sci* 50:5–11.
- Rollins ML, Tripp VW (1954) Optical and Electron Microscopic Studies of Cotton Fiber Structure. *Text Res J.* 24(4):345-357.
- Romolo FS, Margot P (2001) Identification of gunshot residue: a critical review. *Forensic Sci Int* 119(2): 195–211.
- Rondinini C, Battistoni A, Peronace V, Teofili C (compilatori) (2013) *Lista rossa IUCN dei vertebrati italiani*. Comitato italiano IUCN e Ministero dell’Ambiente e della Tutela del Territorio e del Mare, Roma.
- Rouse GW, Goffredi SK, Johnson SB, Vrijenhoek RC (2011) Not whale-fall specialists, *Osedax* worms also consume fishbones. *Biol Lett* 7: 736–739.
- Rouse GW, Goffredi SK, Vrijenhoek RC (2004) *Osedax*: Bone-eating marine worms with dwarf males. *Science* 305: 668–671.
- Saad R (2005) Discovery, development, and current applications of DNA identity testing. *Proc (Bayl Univ Med Cent)*. 18(2): 130-3.
- Sachs H, Kintz P (1998) Testing for drugs in hair: critical review of chromatographic procedures since 1992. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl* 713(1): 147-161.
- Salter MT, Cook R (1996) Transfer of fibres to head hair, their persistence and retrieval. *Forensic Sci Int* 81 (2–3): 211–221.
- Sanford MR (2017a) Insects and associated arthropods analyzed during medicolegal death investigations. In Harris County, Texas, USA: January 2013–April 2016. *PLoS One*, 12(6), e0179404.
- Sanford MR (2017b) Comparing species composition of passive trapping of adult flies with larval collections from the body during scene-based medicolegal death investigations. *Insects*, 8(36): 1– 8.
- Savazzi E (1999) Boring, nestling and tube-dwelling bivalves. In: Savazzi E (ed) *Functional Morphology of the Invertebrate Skeleton*, John Wiley & Sons, Chichester, pp 205-237.
- Scaccini C, Piccinetti R (1970) Stato attuale della pesca in acque profonde nei mari italiani. *Boll Pesca Piscic Idrobiol.* 25:5-35.
- Schmidt CW, Symes SA (eds) (2015) *The analysis of burned human remains*. Academic Press, Cambridge.
- Schotsmans EM, Márquez-Grant N, Forbes SL (eds) (2017) *Taphonomy of human remains: forensic analysis of the dead and the depositional environment*. John Wiley & Sons, Hoboken.

- Schultz J, Williamson M, Nawrocki SP, Falsetti A, Warren M (2003) A taphonomic profile to aid in the recognition of human remains from historic and/or cemetery contexts. *Florida Anthropologist* 56: 141–147.
- Schultz JJ (2012) Determining the forensic significance of skeletal remains. In: Dirkmaat DC (ed) *A Companion to Forensic Anthropology*, Wiley-Blackwell, Chichester pp 66-84.
- Schultz JJ (2013). Taphonomic Bone Staining and Color Changes in Forensic Contexts. In *Manual of Forensic Taphonomy*, CRC Press, pp 330-355.
- Schultz M (1997) Microscopic investigation of excavated skeletal remains: a contribution to paleopathology and forensic medicine. In Sorg MH, Haglund WD (eds) *Forensic taphonomy: the postmortem fate of human remains*, pp 201-222.
- Schumann M, Barz J, Bonte W (1995) Leichenbeseitigung durch Einbetonieren und Versenken im Wasser [Disposal of the corpse by cement encapsulation and submersion in water]. *Arch Kriminol* 195(1-2):18-26.
- Scott G, Pilloud M, Navega D, Coelho J, Cunha E, Irish J (2018) rASUDAS A new web-based application for estimating ancestry from tooth morphology. *Forensic Anthropol* 1:18–31.
- Scott KR, Morgan RM, Jones VJ, Cameron NG (2014) The transferability of diatoms to clothing and the methods appropriate for their collection and analysis in forensic geoscience. *Forensic Sci Int* 241:127-37.
- Sella D, Coppola G (1980) Il mais nell'economia agricola lombarda (dal secolo XVII all'Unità). (*Annali dell'Istituto Storico Italo Germanico. Monografia, number 1.*) Bologna: Societ'a Editrice il Mulino. 1979. pp. 232. L. 6,000', *The American Historical Review*, 85(3), pp 671–672.
- Setzer M, Juusola J, Ballantyne J (2008) Recovery and stability of RNA in vaginal swabs and blood, semen, and saliva stains, *J Forensic Sci* 53 (2): 296–305.
- Sguazza E, Gibelli D, Caligara M, Di Candia D, Galimberti PM, Cattaneo C (2016) The role of toxicological analyses in anthropology: a case report on lead intoxication. *Archaeometry* 58 (1): 152–158.
- Shah P, Velani PR, Lakade L, Dukle S (2019) Teeth in forensics: A review. *Indian J Dent Res* 30(2):291-299.
- Shedge R, Krishan K, Warriar V, Kanchan T (2020) Postmortem changes.
- Shewry PR (2009) Wheat. *J Exp Bot*, 1537–1553.
- Sibley LR, Jakes KA (1984) Survival of protein fibres in archaeological contexts. *Science and Archaeology*, 26: 17–27.
- Siegel JA (1971) Evidence Value of Textile Fiber - Transfer and Persistence of Fibers. *Forensic Sci Rev* 9(2): 81-96.
- Sikirzhytskaya A, Sikirzhytski V, McLaughlin G, Lednev IK (2013) Forensic identification of blood in the presence of contaminations using Raman microspectroscopy coupled with advanced statistics: effect of sand, dust, and soil. *J Forensic Sci* 58 (5) 1141–1148.
- Sillen A (1989) Diagenesis of the inorganic phase of the cortical bone. In Price TD (ed) *The Chemistry of Prehistoric Bone*, Cambridge University Press, Cambridge, pp 211-229.
- Silverman E (2018) The Effects of Common Methods of Soft Tissue Removal on Skeletal Remains: A Comparative Analysis. *Graduate Student Theses, Dissertations, & Professional Papers*; 2018: 11182.
- Simmons R, Deacon P, Phillips DJ, Farrugia K (2014) The effect of mark enhancement techniques on the subsequent detection of semen/spermatozoa. *Forensic Sci Int* 244: 231-246.

- Simonsen J (1977) Early Formation of Adipocere in Temperate Climate. *Medicine, Science, and Law* 17: 53–55.
- Sito Ufficiale Parco del Ticino. Disponibile a: <https://www.parcoticino.it>
- Slice DE, Ross A (2009) 3D-ID: geometric morphometric classification of crania for forensic scientists. <http://www.3d-id.org>
- Snapp S, Rahmanian M, Batello C (2018) Pulse Crops for Sustainable Farms in Sub-Saharan Africa. FAO, Roma.
- Snapp SS, Jones RB, Minja EM, Rusike J, Silim SN (2003) Pigeon Pea for africa: a versatile vegetable—and more." *HortScience* 38.6: 1073-1079.
- Soil Science Division Staff (2017) Soil survey manual. Government Printing Office, Washington.
- Sonderegger B, Urs peter M (2012) l'impronta digitale 100 anni al servizio della confederazione 1913-2013. Ufficio federale di polizia fedpol. Berna.
- Sorg MH, Dearborn JH, Monahan EI, Ryan HF, Sweeney KG, David E (1997) Forensic taphonomy in marine contexts. In Haglund WD, Sorg MH (eds) *Forensic Taphonomy: The postmortem fate of human remains*. CRC Press, Boca Raton, pp 567–604.
- Spalding RP (2003) Identification and characterization of blood and bloodstains. In James SH, Nordby JJ (eds) *Forensic Science: an Introduction to Scientific and Investigative Techniques*, CRC Press, Boca Raton, pp 181–201.
- Spencer R (1994) Significant fiber evidence recovered from the clothing of a homicide victim after exposure to the elements for 29 days. *J Forensic Sci* 39(3): 854–859.
- Spiewak R, Szostak W (2000) Zoophilic and geophilic dermatophytoses among farmers and non-farmers in Eastern Poland. *Ann Agric Environ Med* 7: 125–129.
- Spinelli S (1956) La Ca' Granda (l'Ospedale Maggiore di Milano), Ospedale Maggiore, Milano.
- Spitz WU (1993) Sharp Force Injury. In Spitz WU (ed) *Spitz and Fisher's Medicolegal Investigation of Death: Guidelines for the Application of Pathology to Crime Investigation*. Charles C Thomas, Springfield, pp 252-309.
- Spitz WU (ed) (1993) *Spitz and Fisher's Medicolegal Investigation of Death*. 3rd ed. Charles C Thomas, Springfield.
- Srettabungjong S, Betset P, Limawongpranee S, Ekpo PJ (2015) The Stability of Prostate Specific Antigen in Semen Under Various Temperatures. *J Forensic Sci* 60 (6):1577–1581.
- Staurenghi C (1916) *L'Ospedale Maggiore Di Milano E i Suoi Antichi Sepolcri: Particolarmente Il Foppone Ora Detto La Rotonda Cronistoria Milanese Dei Secoli XV–XX*. Ulrico Hoepli, Milano.
- Stene I, Shimamoto S, Gabel R, Tewes R, Adair T (2013) Using Luminol to Detect Blood in Soil Eight Years after Deposition. *Journal of the Association for Crime Scene Reconstruction* 19 (1): 1–4.
- Steptoe DP, Wood WB (2002) The human remains from HMS Pandora. *Internet Archaeology* 11 (electronic journal).
- Sterzik V, Panzer S, Apfelbacher M, Bohnert M (2016) Searching for biological traces on different materials using a forensic light source and infrared photography. *Int. J. Legal Med* 130 (3): 599–605.
- Stewart RJ, Ransom TC, Hlady V (2011) Natural underwater adhesives. *Polymer Physics* 49: 757–771.
- Stødkilde-Jørgensen H, Jacobsen NO, Warncke E, Heinemeier J (2008) The intestines of a more than 2000 years old peat-bog man: Microscopy, magnetic resonance imaging and 14C-dating. *J Archaeol Sci* 35: 530–534.

- Stojanowski CM (2002) Hydrodynamic sorting in a coastal marine skeletal assemblage. *Int J Osteoarchaeol* 12: 259–278.
- Stoney DA, Stoney PL (2015) Critical review of forensic trace evidence analysis and the need for a new approach. *Forensic Sci Int* 251:159–170.
- Strzelczyk AB, Bannach L, Kurowska A (1997) Biodeterioration of archaeological leather. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 39: 301–309.
- Stubblings NA, Newall PJ (1985) An Evaluation of Gamma-Glutamyl Transpeptidase (GGT) and p30 Determinations for the Identification of Semen on Postcoital Vaginal Swabs. *J Forensic Sci* 30(3): 604–614.
- Summerfield A, Meurens F, Ricklin ME (2015) The immunology of the porcine skin and its value as a model for human skin. *Mol Immunol* 66(1):14-21.
- Suriano C, Mazzola S, Levi D, Giusto GB (1992) La biocenosi dei substrati duri circolitorali a grandi Phaeophyceae (*Laminaria rodriguezii* Bornet, 1888) nel Canale di Sicilia e nel Canale Maltese. *Oebalia*, 17(Suppl):429-432.
- Sutthapodjanarux K, Panvisavas N, Chaikum N (2009) Effect of Temperature and pH on Bloodstain Evidence, CIFS.
- Sweet D (2010) Interpol DVI best-practice standards-An overview. *Forensic Sci Int* 201: 18-21.
- Sweet D, Lorente M, Lorente JA, Valenzuela A, Villanueva E (1997) An improved method to recover saliva from human skin: the double swab technique. *J Forensic Sci* 42 (2): 320–322.
- Symes SA, Rainwater CW, Chapman EN, Gipson DR, Piper AL (2015). Patterned thermal destruction in a forensic setting. In *The analysis of burned human remains*. Academic Press, pp 17-59.
- Szostak-Kotowa J (2004) Biodeterioration of textiles. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 53: 165–170.
- Tabata N, Morita M (1997) Immunoistochemical demonstration of bleeding in decomposed bodies by using anti-glycophorin A monoclonal antibody. *Forensic Sci Int* 87: 1–8.
- Taboada S, Riesgo A, Bas M, Arnedo MA, Cristobo J, Rouse GW, Avila C (2015). Bone-eating worms spread: insights into shallow-water *Osedax* (Annelida, Siboglinidae) from Antarctic, Subantarctic, and Mediterranean waters. *PloS one*, 10(11): e0140341.
- Taborelli A, Andreola S, Di Giancamillo A, Gentile G, Domeneghini C, Grandi M, Cattaneo C (2011) The use of the anti-Glycophorin A antibody in the detection of red blood cell residues in human soft tissue lesions decomposed in air and water: a pilot study. *Med Sci Law* 51(Suppl 1): S16–S19.
- Taborelli A, Gibelli D, Rizzi A, Andreola S, Brandone A, Cattaneo C (2012). Gunshot residues on dry bone after decomposition—a pilot study. *J Forensic sci* 57(5): 1281-1284.
- Takamura A, Watanabe K, Akutsu T (2016) Development of a quantitative validation method for forensic investigation of human spermatozoa using a commercial fluorescence staining kit (SPERM HY-LITER™ Express). *Int J Legal Med* 130 (6): 1421–1429.
- Takatori T (2001) The mechanism of human adipocere formation. *Legal Medicine* 3:193–204.
- Takeichi T, Kitamura O (2009a) Detection of diatom in formalin-fixed tissue by proteinase K digestion. *Forensic sci int* 190(1-3):19-23.
- Takeichi T, Kitamura O (2009b) Detection of diatom in formalin-fixed organs by enzymatic digestion. *Legal Medicine* 11:348-349.
- Tamasaka L (1949) Diatom Content of Bone Marrow in Corpses in water. *Orv Hetil* 16: 509-511.

- Tappen NC (1969) The relationship of weathering cracks to split-line orientation in bone. *Am J Phys Anthropol* 31:191–197.
- Tappen NC (1976) Advanced weathering cracks as an improvement on split-line preparations for analysis of structural orientation in compact bone. *Am J Phys Anthropol* 44: 373–377.
- Tappen NC, Peske R (1970) Weathering cracks and split-line patterns in archaeological bone. *Am Antiq* 35: 383–386.
- Tate ML, Kamath YK, Ruetsch SB (1993) Quantification and prevention of hair damage. *Journal of the Society of Cosmetic Chemists* 44: 347–371.
- Taudte RV, Roux C, Blanes L, Horder M, Kirkbride KP, Beavis A (2016) The development and comparison of collection techniques for inorganic and organic gunshot residues. *Anal Bioanal Chem.* 408: 2567–2576.
- Taupin JM (1996) Hair and fiber transfer in an abduction case--evidence from different levels of trace evidence transfer. *J Forensic Sci* 41(4): 697-9.
- Tavarone A, de Los Milagros Colobig M, Passeggi E, Fabra M (2018) Cleaning protocol of archaeological dental calculus: A146 methodological proposal for vegetable microremains analysis. *Am J Phys Anthropol* 167(2): 416–422.
- Ten Cate AR (1994) *Oral Histology*. Mosby, St Louis.
- The Food and Agricultural Organisation (1995) *Sorghum and Millets in Human Nutrition*. In *Agricultural and Consumer Protection of the Food and Agricultural Organisation*, Rome.
- The Oxford Encyclopedia of Food and Drink in America (2012) *The Oxford Encyclopedia of Food and Drink in America*. Oxford University Press.
- Thompson TJ, Inglis J (2009) Differentiation of serrated and non-serrated blades from stab marks in bone. *Int J Legal Med* 123(2):129-35.
- Tomberlin JK, Mohr R, Benbow ME, Tarone AM, Vanlaerhoven S (2011). A roadmap for bridging basic and applied research in forensic entomology. *Annu Rev Entomol* 56:401-421.
- Tresguerres M, Katz S, Rouse GW (2013) How to get into bones: proton pump and carbonic anhydrase in *Osedax* boneworms. *Proc Royal Soc B* 280(1761), 20130625.
- Tridico SR, Koch S, Michaud A, Thomson G, Kirkbride KP, Bunce M (2014) Interpreting biological degradative processes acting on mammalian hair in the living and the dead: which ones are taphonomic? *Proc. R. Soc. B* 281(1796): 20141755.
- Trüeb RM (2009) Oxidative stress in ageing of hair. *Int J Trichology* 1(1): 6-14.
- Trueman C, Martill DM (2002) The long-term survival of bone: The role of bioerosion. *Archaeometry* 44: 371–382.
- Trueman CNG, Behrensmeyer AK, Tuross N, Weiner S (2004) Mineralogical and compositional changes in bones exposed on soil surfaces in Amboseli National Park, Kenya: Diagenetic mechanisms and the role of sediment pore fluids. *J Archaeol Sci* 31:721–739.
- Turner NJ, Łuczaj, Łukasz.J, Migliorini P, Pieroni A, Dreon AL, Sacchetti LE, Paoletti MG (2011) *Edible and Tended Wild Plants, Traditional Ecological Knowledge and Agroecology*. *Crit Rev Plant Sci* 30 (1-2): 198–225.
- Ubelaker DH (1996) The remains of Dr. Carl Austin Weiss: Anthropological analysis. *J Forensic Sci* 41: 60–79.
- Ubelaker DH (1997) Taphonomic applications in forensic anthropology. In: Haglund WD, Sorg MH (eds) *Forensic taphonomy: the postmortem fate of human remains*, CRC Press, Boca Raton, pp 77-90.

- Uitdehaag S, Dragutinovic A, Kuiper I (2010) Extraction of diatoms from (cotton) clothing for forensic comparisons. *Forensic Sci Int* 200(1-3): 112-6.
- United States government, Department of Justice. Forensic Sciences. Disponibile a: <https://nij.ojp.gov/topics/forensics>
- Vaglianti F (2020) Pratica Anatomica Ospedaliera a Milano Al Tempo Di Leonardo. *Mefisto*, 4(1): 147–64.
- Vaglianti F, Cattaneo C (2013) La Popolazione Di Milano Dal Rinascimento: Fonti Documentarie e Fonti Materiali per Un Nuovo Umanesimo Scientifico. Edizioni Biblioteca Francescana, Milano, pp 13–23.
- Van Neste D, Tobin DJ (2004) Hair cycle and hair pigmentation: dynamic interactions and changes associated with aging. *Micron* 35(3):193-200.
- Vanezis P (2001) Interpreting bruises at necropsy. *J Clin Pathol* 54:348–355.
- Vanlauwe B, Hungria M, Kanampiu F, Giller KE (2019) The role of legumes in the sustainable intensification of African smallholder agriculture: Lessons learnt and challenges for the future. *Agriculture, Ecosystems and Environment*. Elsevier, Amsterdam.
- Velasco MVR, Dias TCS, Freitas AZ, Vieira ND, Pinto CASO, Kaneko TM, Baby AR (2009) Hair fiber characteristics and methods to evaluate hair physical and mechanical properties. *Brazilian J Pharm Sci* 45(1): 153–162.
- Vermeij EJ, Zoon PD, Chang SB, Keereweer I, Pieterman R, Gerretsen RR (2012) Analysis of microtraces in invasive traumas using SEM/EDS. *Forensic Sci Int* 214: 96–104.
- Vidoli GM, Steadman DW, Devlin JB, Jantz LM (2017) History and development of the first anthropology research facility, Knoxville, Tennessee. In Schotsmans EM, Márquez-Grant N, Forbes SL (eds) *Taphonomy of Human Remains: Forensic Analysis of the Dead and the Depositional Environment*. John Wiley & Sons, Hoboken, pp 461-475.
- Vietnameyer ND, Borlaugh NE, Axtell J, Burton GW, Harlan JR, Rachie KO (1996). Fonio. In *Lost Crops of Africa Vol.1. Grains* BOSTID Publications, National Academy Press, New York.
- Villarreal RL, Tsou SC, Lo HF, Chiu SC (1985) Sweet potato vine tips as vegetables. In: JC Bouwkamp (ed) *Sweet potato products: a natural resource for the tropics*. CRC Press, Boca Raton, pp 175-183.
- Virkler K, Lednev I (2009) Analysis of body fluids for forensic purposes: from laboratory testing to non-destructive rapid confirmatory identification at a crime scene. *Forensic Sci Int* 188 (1–3): 1–17.
- Visconti A (2013) Il Trasferimento Delle Piante Nella Lombardia Austriaca Negli Ultimi Decenni Della Dominazione Asburgica. *Altre Modernità* 10:39-51.
- Von Wurmb-Schwark N, M'alyusz V, Fremdt H, Koch C, Simeoni E, Schwark T (2006) Fast and simple DNA extraction from saliva and sperm cells obtained from the skin or isolated from swabs. *Leg Med (Tokyo)* 8 (3): 177–181.
- Voorhies MR (1969) Taphonomy and population dynamics of an Early Pliocene vertebrate fauna, Knox County, Nebraska. University of Wyoming, Contributions to Geology, Laramie, WY, Special Paper No. 1.
- Voss SC, Cook DF, Dadour IR (2011) Decomposition and insect succession of clothed and unclothed carcasses in Western Australia. *Forensic Sci Int* 211: 67–75.
- Vrijenhoek RC, Johnson S, Rouse GW (2009) A remarkable diversity of bone-eating worms (Osedax; Siboglinidae; Annelida). *BMC Biology* 7:74.
- Waite JH (2002) Adhesion à la moule. *Integr Comp Biol* 42:1172–1180.

- Waldoch TL (1996) Chemical Detection of Blood After Dilution by Rain Over a 72 Day Period. *J Forensic Identif* 46 (2): 173–177.
- Wallace JS (2018) *Chemical Analysis of Firearms, Ammunition, and Gunshot Residue*, 2nd edn. Boca Raton, CRC Press.
- Wapler U, Crub'czy E, Schultz M (2004) Is cribra orbitalia synonymous with anemia? Analysis and interpretation of cranial pathology in Sudan. *Am J Phys Anthropol* 123 (4):333–339.
- Warén A (2011) Molluscs on biogenic substrates. In Bouchet P, Le Guyader H, Pascal O (eds) *The Natural History of Santo*, MNHN, Paris, France; IRD, Marseille, France; PNI, Paris, France, pp 438-448.
- Watson JAL, Abbey HM (1986) Teratological development of wing buds in a worker from an incipient laboratory colony of *Mastotermes darwiniensis* Froggatt (Isoptera: Mastotermitidae). *Aust J Entomol* 25(4): 293-294.
- Watterson J, Blackmore V, Bagby D (2006) Considerations for the Analysis of Forensic Samples Following Extended Exposure to the Environment. *Forensic Exam* 15 (4):19–25.
- Wawryk J, Odell M (2005) Fluorescent identification of biological and other stains on skin by the use of alternative light sources. *J. Clin. Forensic Med* 12 (6): 296–301.
- Weber K (1966) Die Anwendung der Chemiluminescenz des Luminols in der gerichtlichen Medizin und Toxikologie, *Dtsch Z Gesamte Gerichtl Med* 57 (3): 410–423.
- Wee-Chuen L, Bee-Ee K (2010) Forensic Light Sources for Detection of Biological Evidences in Crime Scene Investigation: A Review, Malaysian. *J Forensic Sci* 1:17–27.
- Wei G, Bhushan B, Torgerson PM (2005) Nano-mechanical characterization of human hair using Nano-indentation and SEM. *Ultramicroscopy* 105 (1-4): 248-266.
- Wei W, Michu Q, Wenjuan D, Jianrong W, Zhibing H, Ming Y, Bo J, Xia L (2020) Histological changes in human skin 32 days after death and the potential forensic significance. *Scientific Reports* 10(1): 1-7.
- Weiner S, Wagner HD (1998) The material bone: Structure-mechanical function relations. *Annu Rev Mater Sci* 28: 271–298.
- Weitzman I, Summerbell RC (1995) The dermatophytes. *Clin Microbiol Rev* 8: 240–259.
- Wells JD, Introna F, Di Vella G, Campobasso CP, Hayes J, Sperling, FA (2001) Human and insect mitochondrial DNA analysis from maggots. *J Forensic Sci* 46(3): 685-687.
- Wells JD, LaMotte LR (2001). Estimating the postmortem interval. *Forensic entomology: the utility of arthropods in legal investigations* 2: 263-85.
- West MJ, Went MJ (2011) Detection of drugs of abuse by Raman spectroscopy. *Drug Test Anal* 3(9):532–538.
- Westling L (2012) *Underwater Decomposition: An Examination of Factors Surrounding Freshwater Decomposition in Eastern Massachusetts*. Unpublished M.S. Thesis, Boston University, Boston.
- Westring CG, Wiuf M, Nielsen SJ, Fogleman JC, Old JB, Lenz C, Reich KA, Morling N (2014) SPERM HY-LITERTM for the identification of spermatozoa from sexual assault evidence. *Forensic Sci Int Genet* 12: 161–167.
- White EM, Hannus LA (1983) Chemical weathering of bone in archaeological soils. *Am Antiq* 48: 316–322.
- White T, Folkens P (1991) *Human Osteology*. Academic Press, San Francisco.
- White T, Folkens P (2005) *The Human Bone Manual*, The Human Bone Manual, pp 1–27.
- Whitenack LB, Motta PJ (2010) Performance of shark teeth during puncture and draw: Implications for the mechanics of cutting. *Biol J Linn Soc* 100:271–286.

- WHO (2003) Guidelines for medico–legal care for victims of sexual violence [Internet]. Geneva: - World Health Organization. Disponibile A. <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/42788/924154628X.pdf?sequence=1>
- WHO (2009) How to Handwash? World Health Organization. Disponibile a: https://www.who.int/docs/default-source/patient-safety/how-tohandwash-poster.pdf?sfvrsn=7004a09d_2. Accessed 20 July 2020
- Willey P, Heilman A (1987) Estimating time since death using plant roots and stems. *J Forensic Sci* 32(5):1264–1270.
- Wilson AS (2017) Taphonomic Alteration to Hair and Nail. In: Schotsmans E, Marquez-Grant N, FS (eds) *Taphonomy of Human Remains: Forensic Analysis of the Dead and the Depositional Environment*, John Wiley & Sons, pp 81-92.
- Wilson AS, Dodson HI, Janaway RC, Pollard AM, Tobin DJ (2007a) Selective biodegradation in hair shafts derived from archaeological, forensic and experimental contexts. *Br J Dermatol* 157: 450–457.
- Wilson AS, Dodson HI, Janaway RC, Pollard AM, Tobin DJ (2010b) Evaluating histological methods for assessing hair fibre degradation. *Archaeometry* 52: 467–481.
- Wilson AS, Janaway RC, Holland AD, Dodson HI, Baran E, Pollard AM, Tobin DJ (2007b) Modelling the buried human body environment in upland climes using three contrasting sites. *Forensic Sci Int* 169: 6–18.
- Wilson AS, Tobin DJ (2010a) Hair after Death. In: Trüeb RM, Tobin DJ (eds) *Aging Hair*, Springer-Verla, Heidelberg, pp 249-261.
- Wilson AS, Tobin DJ (2010b) In Trüeb RM, Tobin D (Eds.) *Aging hair*. Springer Science & Business Media. Berlino, pp 249–261.
- Wilson J, Hardy K, Allen R, Copeland L, Wrangham R, Collins M (2010) Automated classification of starch granules using supervised pattern recognition of morphological properties. *J Archaeol Sci* 37(3): 594–604.
- Wiltshire PE, Hawksworth DL, Webb JA, Edwards KJ (2014) Palynology and mycology provide separate classes of probative evidence from the same forensic samples: a rape case from southern England. *Forensic Sci Int* 244: 186-195.
- Winchell F, Brass M, Manzo A, Beldados A, Perna V, Murphy C, Stevens C, Fuller DQ (2018) On the Origins and Dissemination of Domesticated Sorghum and Pearl Millet across Africa and into India: a View from the Butana Group of the Far Eastern Sahel. *Afr Archaeol Rev*, Springer, New York LLC, pp 483–505.
- Woods CA (1973) *Erethizon dorsatum*. *Mammalian Species* 29: 1–6.
- World Health Organization (1979) *A Guide to Oral Health Epidemiological Investigations*. WHO, Geneva.
- Worms, *Osedax mucofloris*, Disponibile: <https://www.marinespecies.org/aphia.php?p=taxdetails&id=265980#images>
- Wrobel GD, Biggs J (2018) Osteophagous insect damage on human bone from Je'reftheel, a Maya mortuary cave site in west-central Belize. *Int J Osteoarchaeol* 28:745–756.
- Wroe S, Huber DR, Lowry M, McHenry C, Moreno K, Clausen P, Ferrara TL, Cunningham E, Dean MN, Summers AP (2008) Three-dimensional computer analysis of white shark jaw mechanics: How hard can a great white bite? *J Zool, London* 276: 336–342.

- Yoshino M, Kimijima T, Miyasaka S, Sato H, Seta S (1991) Microscopical study on estimation of time since death in skeletal remains. *Forensic Sci Int* 49:143–158.
- Zadora G, Brozek-Mucha Z (2003) SEM-EDX – a useful tool for forensic examinations. *Mater Chem Phys* 81:345–348.
- Zahn H, Wortmann FJ, Wortmann G, Schaefer G, Hoffmann R, Finch R (2003) Wool. In: Elvers B (ed) *Ullmann's Encyclopaedia of Industrial Chemistry*. Wiley-VCH, Weinheim.
- Zarrillo S, Pearsall DM, Raymond JS, Tisdale MA, Quon DJ (2008) Directly dated starch residues document early formative maize (*Zea mays* L.) in tropical Ecuador. *Proc Natl Acad Sci U S A* 105(13): 5006–5011.
- Zaya DN, Ashley MV (2012) Plant genetics for forensic applications. *Methods Mol Biol* 862: 35–52.
- Zeichner A, Levin N (1993) Collection efficiency of gunshot residue (GSR) particles from hair and hands using double-side adhesive tape. *J Forensic Sci* 38(3): 571-584.
- Zeichner A, Levin N (1995) Casework experience of GSR detection in Israel, on samples from hands, hair, and clothing using an autosearch SEM/EDX system. *J Forensic Sci* 40(6): 1082-1085.
- Zelinka SL, Stone DS (2011) The effect of tannins and pH on the corrosion of steel in wood extracts. *Materials and Corrosion* 62: 739–744.
- Zhang N, Dong G, Yang X, Zuo X, Kang L, Ren L, Liu H, Li H, Min R, Liu X, Zhang D, Chen F (2017) Diet reconstructed from an analysis of plant microfossils in human dental calculus from the Bronze Age site of Shilinggang, southwestern China. *Journal of Archaeological Science*, 83: 41-48.
- Zhang W, Tang Y, Shi A, Bao L, Shen Y, Shen R, Ye Y (2018) Recent developments in spectroscopic techniques for the detection of explosives. *Materials (Basel)* 11(8):1364.
- Zhou X, Jellen EN, Murphy JP (1999) Progenitor Germplasm of Domesticated Hexaploid Oat. *Crop Sci* 39(4):1208–1214.
- Zhou Y, Liu B, Mbuni Y, Yan X, Mwachala G, Hu G, Wang Q (2017) Vascular flora of Kenya, based on the Flora of Tropical East Africa. *PhytoKeys* 16(90): 113-126.
- Zi ę ba-Palus J, Trzcińska BM (2013) Application of infrared and Raman spectroscopy in paint trace examination. *J Forensic Sci* 58(5):1359–1363.
- Zimmerman KA, Wallace JR (2008) The potential to determine a postmortem submersion interval based on algal/diatom diversity on decomposing mammalian carcasses in brackish ponds in Delaware. *J Forensic Sci* 53(4):935-41.

Appendice

Appendice 3.1 A Risultati dell'analisi sulle tracce botaniche presenti sui campioni, eseguita sul campo ed in laboratorio

Analisi dei campioni della serie 1 in microscopia episcopica

Legenda delle abbreviazioni e dei termini

Le tabelle seguenti riportano integralmente i risultati relativi agli elementi botanici osservati sul campo, sull'intero campione e in laboratorio, sul sotto campione prelevato per ciascun tempo sperimentale, per le due serie sperimentali.

Nelle tabelle si è fatto uso delle seguenti abbreviazioni:

SDC= stato di conservazione

Posizione= dato presente solo per le osservazioni sul campo, fa riferimento alle 5 aree del campione individuate (pag. 70), quando il reperto si collocava sui capelli anziché sulla cute è stato indicato con la lettera C di fianco al numero indicativo della zona es: 4c, farnia

Per le osservazioni in laboratorio, il dato di posizione è dato dal campione stesso

Sia per le osservazioni in laboratorio che per quelle sul campo, dove possibile una determinazione, è stato attribuito il connotato di autoctono (AU) o alloctono (AL) a quel particolare elemento facendo riferimento all'ambiente di provenienza (aperto o boschivo). Se la dicitura è posizionata al termine di un elenco fa riferimento all'intero elenco

SERIE 1

Osservazioni sul campo

T0 serie 1 sul campo

tempo 0 (9-5-19)											
CAMPIONE	BOTANICA										
	FOGLIE		FIORI		FRUTTI		FUSTI		GEMME		ELEMENTI BOTANICI ND
	posizione, n° e specie	SDC	posizione, n° e specie	SDC	posizione, n° e specie	SDC	posizione, n° e specie	SDC	posizione, n° e specie	SDC	
con sperma	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
con sperma	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
no fluidi/no spostamento	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
no fluidi/no spostamento	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
con sangue	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
con sangue	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
no fluidi/spostamento	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
no fluidi/spostamento	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no

T1 serie 1 sul campo

tempo 1 (10-5-19)											
CAMPIONE	BOTANICA										
	FOGLIE		FIORI		FRUTTI		FUSTI		GEMME		ELEMENTI BOTANICI ND
	posizione, n° e specie	SDC	posizione, n° e specie	SDC	posizione, n° e specie	SDC	posizione, n° e specie	SDC	posizione, n° e specie	SDC	
con sperma	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
con sperma	1, Rubus sp. Cute (AU)	Fresche	no	/	no	/	no	/	no	/	no
no fluidi/no spostamento	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
no fluidi/no spostamento	no	/	1, Robinia (AU)	secco	2c, 3x, pioppo (AU)	fresco	no	/	no	/	no
con sangue	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
con sangue	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
no fluidi/spostamento	no	/	no	/	2c, pioppo (AU)	fresco	1, Teesdalia nudicaulis 2, Teesdalia nudicaulis 3, Teesdalia nudicaulis 5, Teesdalia nudicaulis (AL)	Fresche	no	/	no
no fluidi/spostamento	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no

T2 serie 1 sul campo

tempo 2 (13-5-19)											
CAMPIONE	BOTANICA										
	FOGLIE		FIORI		FRUTTI		FUSTI		GEMME		ELEMENTI BOTANICI ND
	posizione, n° e specie	SDC	posizione, n° e specie	SDC	posizione, n° e specie	SDC	posizione, n° e specie	SDC	posizione, n° e specie	SDC	
con sperma	no	/	no	no	no	/	3, farnia (AU)	Lettieria	no	/	no
con sperma	no	/	3, robinia 5, Robinia (calice) (AU)	secco	no	/	3, farnia (AU)	secco	no	/	no
no fluidi/no spostamento	2c, farnia (AU)	fresco	2, farnia 3, farnia (AU)	secco	no	/	1, farnia (AU)	secco	no	/	no
no fluidi/no spostamento	no	/	1, Robinia (calice) 2, farnia 3, farnia (AU)	secco	no	/	no	/	no	/	no
con sangue	no	/	no	no	no	/	no	/	no	/	no
con sangue	1, Brachypodium rupestre (AU)	fresco	2c, robinia (AU)	fresco	no	/	1, farnia (AU)	secco	no	/	no
no fluidi/spostamento	5, x1, Aphanes arvensis 5, x3, Tuberaria guttata (AL)	fresco	2c, Teesdalia nudicaulis (AU)	fresco	2c, Teesdalia nudicaulis (AU)	no	5, Teesdalia nudicaulis (AU)	fresco	no	/	no
no fluidi/spostamento	no	/	no	no	no	/	1, Teesdalia nudicaulis (AU)	fresco	no	/	no

T3 serie 1 sul campo

tempo 3 (16-5-19)											
CAMPIONE	BOTANICA										
	FOGLIE		FIORI		FRUTTI		FUSTI		GEMME		ELEMENTI BOTANICI ND
	posizione, n° e specie	SDC	posizione, n° e specie	SDC	posizione, n° e specie	SDC	posizione, n° e specie	SDC	posizione, n° e specie	SDC	
con sperma	no	/	1, robinia (AU)	fresco	no	/	no	/	no	/	2, non determinato
con sperma	2, Rubus sp. 2, farnia 2, farnia (AU)	fresco fresco lettiera	no	/	no	/	no	/	no	/	no
no fluidi/no spostamento	no	/	3, farnia (AU)	secco	no	/	no	/	no	/	1, 2c
no fluidi/no spostamento	3, biancospino (AU)	lettiera	2, farnia (AU)	secco	no	/	no	/	no	/	2c, foglia?
con sangue	no	/	3, robinia (AU)	fresco	no	/	no	/	no	/	4
con sangue	no	/	2c, robinia 2t, robinia (AU)	fresco	no	/	1, farnia (AU)	secco	no	/	no
no fluidi/spostamento	no	/	2c, robinia 3, robinia (AU)	fresco	3, Teesdalia nudicaulis 5, Teesdalia nudicaulis (AL)	fresco	no	/	no	/	no
no fluidi/spostamento	no	/	2, pioppo (AL)	fresco	no	/	no	/	no	/	no

T4 serie 1 sul campo

tempo 4 (24-5-19)											
CAMPIONE	BOTANICA										
	FOGLIE		FIORI		FRUTTI		FUSTI		GEMME		ELEMENTI BOTANICI ND
	posizione, n° e specie	SDC	posizione, n° e specie	SDC	posizione, n° e specie	SDC	posizione, n° e specie	SDC	posizione, n° e specie	SDC	
con sperma	no	/	3, 3x, robinia 5, robinia (AU)	fresco	3, robinia (AU)	fresco	no	/	no	/	no
con sperma	1, Rubus sp. Diffuse, farnia (AU)	secco lettiera	no	/	no	/	no	/	no	/	no
no fluidi/no spostamento	3, farnia (AU)	lettiera	no	/	no	/	no	/	no	/	5, fungo giallo
no fluidi/no spostamento	4, farnia (AU)	lettiera	no	/	no	/	no	/	no	/	no
con sangue	no	/	2c, robinia 3, robinia (AU)	fresco	no	/	no	/	no	/	no
con sangue	3, robinia (AU)	lettiera	3, 2x, robinia (AU)	fresco	3, x2, robinia (AU)	fresco	no	/	no	/	no
no fluidi/spostamento	1, farnia (AU)	fresco	3, robinia (AU)	fresco	no	/	no	/	no	/	no
no fluidi/spostamento	no	/	3, farnia (AU)	lettiera	no	/	no	/	no	/	no

T5 serie 1 sul campo

tempo 5 (7-6-19)											
CAMPIONE	BOTANICA										ELEMENTI BOTANICI ND
	FOGLIE		FIORI		FRUTTI		FUSTI		GEMME		
	posizione, n° e specie	SDC	posizione, n° e specie	SDC	posizione, n° e specie	SDC	posizione, n° e specie	SDC	posizione, n° e specie	SDC	
con sperma	2, farnia 4, farnia (AU)	lettiera fresco	2c, robinia 5, 4x, robinia (AU)	secco secco	1, robinia 5, robinia (AU); 2c, 2x, pioppo 3, pioppo (AL)	fresco	no	/	no	/	1, fungo giallo 3, fungo giallo 5, fungo giallo
con sperma	1, robinia 1, 2x, robinia (AU)	fresco secco	1, 3x, robinia 3, robinia (AU)	secco	2, pioppo (AL)	fresco	no	/	no	/	5, fungo giallo
no fluidi/no spostamento	1, farnia 3, farnia (AU)	lettiera secco	no	/	1, pioppo (AL)	fresco	no	/	no	/	2,3,5, fungo giallo
no fluidi/no spostamento	2, robinia 5, farnia (AU)	fresco secco	2c, robinia (AU)	secco	3, farnia (AU); 1, pioppo (AL)	lettiera	no	/	no	/	1, fungo bianco 3,4,5, fungo giallo
con sangue	1, Brachypodium rupestre 2c, robinia (AU)	secco	1, 4x, robinia 2, 2x, robinia 2c, 2x, robinia (AU)	secco secco secco	no	/	no	/	no	/	3, fungo giallo
con sangue	2c, robinia 3, Brachypodium rupestre (AU)	secco secco	2, robinia (calice) 2c, robinia 3, robinia (AU)	secco secco secco	no	/	no	/	no	/	2c,3,5, fungo giallo
no fluidi/ spostamento	2, 2x, farnia (AU)	lettiera	3, robinia (AU)	secco	3, 2x, farnia (AU)	lettiera	4, farnia (AU)	lettiera	no	/	2,3,5, fungo giallo
no fluidi/ spostamento	no	/	2, 2x, farnia 2c, robinia (AU)	lettiera secco	1, 2x, pioppo 2c, pioppo (AL)	fresco	2c, farnia (AU)	secco	no	/	1,2, fungo giallo

T6 serie 1 sul campo

tempo 6 (18-7-19)											
CAMPIONE	BOTANICA										
	FOGLIE		FIORI		FRUTTI		FUSTI		GEMME		ELEMENTI BOTANICI ND
	posizione, n° e specie	SDC	posizione, n° e specie	SDC	posizione, n° e specie	SDC	posizione, n° e specie	SDC	posizione, n° e specie	SDC	
con sperma	2, x2, farnia (AU)	secco	no	/	1, x2, farnia 3, x2, farnia 5, farnia (AU)	lettiera	1, farnia (AU)	lettiera	no	/	no
con sperma	2, 2x, farnia (AU)	lettiera	no	/	1, 2x, farnia (AU)	lettiera	no	/	no	/	no
no fluidi/no spostamento	2, x3, farnia 3, farnia 5, farnia 5, x4, farnia (AU)	lettiera lettiera secco lettiera	no	/	no	/	no	/	no	/	no
no fluidi/no spostamento	2c, farnia 3, x2, farnia 4, farnia (AU)	lettiera lettiera secco	no	/	no	/	1, farnia (AU)	secco	no	/	no
con sangue	1, Brachypodium rupestre 2, Brachypodium rupestre 2, farnia 5, Brachypodium rupestre (AU)	fresco fresco / secco secco secco	no	/	no	/	no	/	no	/	no
con sangue	3, 2x, farnia (AU)	lettiera	no	/	3, farnia 4, farnia (AU)	lettiera lettiera	3, farnia (AU)	lettiera	no	/	3, funghi verdi su ramo farnia
no fluidi/ spostamento	1, farnia 2, farnia 3, farnia (AU)	lettiera	no	/	5, farnia (AU)	lettiera	no	/	no	/	no
no fluidi/ spostamento	2, farnia 2, x2, farnia 3, robinia (AU)	secco lettiera secco	1, farnia (AU)	secco	1, farnia 2, farnia 3, farnia (AU)	fresco lettiera lettiera	3, farnia (AU)	lettiera	no	/	no

T7 serie 1 sul campo

tempo 7 (30-8-19)											
CAMPIONE	BOTANICA										
	FOGLIE		FIORI		FRUTTI		FUSTI		GEMME		ELEMENTI BOTANICI ND
	posizione, n° e specie	SDC	posizione, n° e specie	SDC	posizione, n° e specie	SDC	posizione, n° e specie	SDC	posizione, n° e specie	SDC	
con sperma	2, farnia 3, farnia 5, farnia (AU)	lettiera	1, farnia (AU)	lettiera	1, farnia 3, 2x, farnia 3, farnia (AU)	lettiera lettiera secco	no	/	no	/	no
con sperma	1, robinia 2, robinia 2, 2x, farnia (AU)	secco fresco lettiera	no	/	1, 3x, farnia (AU)	fresco / 2x secco	no	/	no	/	no
no fluidi/no spostamento	3, farnia 5, farnia (AU)	lettiera	no	/	3, farnia 4, farnia 5, farnia (AU)	lettiera	no	(no	/	no
no fluidi/no spostamento	1, farnia 2, 2x, farnia (AU)	lettiera	no	/	no	no	1, farnia (AU)	lettiera	no	/	no
con sangue	1, Brachypodium rupestre 2, robinia 2c, Brachypodium rupestre 4, farnia 5, robinia (AU)	fresco fresco fresco / secco fresco fresco	no	/	no	no	no	/	no	/	no
con sangue	2, Brachypodium rupestre 2, farnia 3, farnia 5, robinia (AU)	fresco lettiera lettiera fresco	no	/	3, farnia 5, farnia (AU)	lettiera fresco	3, 2x, farnia (AU)	lettiera	no	/	3, fungo verde 3, muschi 5, funghi
no fluidi/spostamento	1, robinia 2, 3x, farnia (AU)	fresco lettiera	no	/	2, farnia 3, farnia (AU)	fresco fresco	5, farnia (Cortecchia)(AU)	lettiera	no	/	5, funghi
no fluidi/spostamento	2, 3x, farnia 5, farnia (AU)	fresco lettiera lettiera	no	/	2, 2x, farnia (AU)	lettiera	no	/	no	/	1, robinia? Funghi

T8 serie 1 sul campo

tempo 8 (11-11-19)											
CAMPIONE	BOTANICA										
	FOGLIE		FIORI		FRUTTI		FUSTI		GEMME		ELEMENTI BOTANICI ND
	posizione, n° e specie	SDC	posizione, n° e specie	SDC	posizione, n° e specie	SDC	posizione, n° e specie	SDC	posizione, n° e specie	SDC	
con sperma	1;2,3,4;5 (AU)	lettiera e fresche	no	/	no	/	2,3,4;5 robinia, farnia (AU)	lettiera	no	/	no
con sperma	1;2,3,4;5 (AU)	lettiera e fresche	no	/	no	/	1;2,3,4;5 robinia, farnia (AU)	lettiera	no	/	no
no fluidi/no spostamento	1;2,3,4;5 (AU)	lettiera	no	/	no	/	1;2,3,4;5 robinia, farnia (AU)	lettiera	no	/	no
no fluidi/no spostamento	1;2,3,4;5 (AU)	lettiera	no	/	2 ghiande farnia (AU)	fresco	1;2,3,4;5 robinia, farnia (AU)	lettiera	no	/	no
con sangue	1;2,3,4;5 (AU)	lettiera e fresche	no	/	no	/	1,2 farnia (AU)	lettiera	no	/	no
con sangue	1;2,3,4;5 (AU)	lettiera	no	/	5 ghiande farnia (AU)	fresco	2; 3, 4, 5 farnia, robinia (AU)	lettiera	no	/	no
no fluidi/spostamento	1;2,3,4;5 (AU)	lettiera	no	/	no	/	2;4 farnia (AU)	lettiera	no	/	no
no fluidi/spostamento	1;2,3,4;5 (AU)	lettiera	no	/	no	/	2 farnia (AU)	lettiera	no	/	no

T9 serie 1 sul campo

tempo 9 (16-12-19)											
CAMPIONE	BOTANICA										
	FOGLIE		FIORI		FRUTTI		FUSTI		GEMME		ELEMENTI BOTANICI ND
	posizione, n° e specie	SDC	posizione, n° e specie	SDC	posizione, n° e specie	SDC	posizione, n° e specie	SDC	posizione, n° e specie	SDC	
con sperma	1;2,3,4;5 (AU)	lettiera	no	/	1;2,3,4;5 ghiande farnia (AU)	fresco	1,2,3,4,5 si farnia (AU)	/	no	no	no
con sperma	1;2,3,4;5 (AU)	lettiera	no	/	1;2,3,4;5 ghiande farnia (AU)	fresco	1,2,3,4,5 si farnia (AU)	/	no	no	no
no fluidi/no spostamento	1;2,3,4;5 (AU)	lettiera	no	/	1;2,3,4;5 ghiande farnia (AU)	fresco	1,2,3,4,5 si farnia (AU)	/	no	no	no
no fluidi/no spostamento	1;2,3,4;5 (AU)	lettiera	no	/	1;2,3,4;5 ghiande farnia (AU)	fresco	1,2,3,4,5 si farnia (AU)	/	no	no	no
con sangue	1;2,3,4;5 (AU)	lettiera	no	/	1;2,3,4;5 ghiande farnia (AU)	fresco	1,2,3,4,5 si farnia (AU)	/	no	no	no
con sangue	1;2,3,4;5 (AU)	lettiera	no	/	1;2,3,4;5 ghiande farnia (AU)	fresco	1,2,3,4,5 si farnia (AU)	/	no	no	no
no fluidi/ spostamento	1;2,3,4;5 (AU)	lettiera	no	/	1;2,3,4;5 ghiande farnia (AU)	fresco	1,2,3,4,5 si farnia (AU)	/	no	no	no
no fluidi/ spostamento	1;2,3,4;5 (AU)	lettiera	no	/	1;2,3,4;5 ghiande farnia (AU)	fresco	1,2,3,4,5 si farnia (AU)	buono	no	no	no

T10 serie 1 sul campo

tempo 10 (31-01-20)											
CAMPIONE	BOTANICA										
	FOGLIE		FIORI		FRUTTI		FUSTI		GEMME		ELEMENTI BOTANICI ND
	posizione, n° e specie	SDC	posizione, n° e specie	SDC	posizione, n° e specie	SDC	posizione, n° e specie	SDC	posizione, n° e specie	SDC	
con sperma	1;2,3,4;5 (AU)	lettiera	no	/	1;2,3,4;5 ghiande farnia (AU)	dell'ultima stagione	1,2,3,4,5 si farnia (AU)	secco	no	/	no
con sperma	1;2,3,4;5 (AU)	lettiera	no	/	1;2,3,4;5 ghiande farnia (AU)	dell'ultima stagione	1,2,3,4,5 si farnia (AU)	secco	no	/	no
no fluidi/no spostamento	1;2,3,4;5 (AU)	lettiera	no	/	1;2,3,4;5 ghiande farnia (AU)	dell'ultima stagione	1,2,3,4,5 si farnia (AU)	secco	no	/	no
no fluidi/no spostamento	1;2,3,4;5 (AU)	lettiera	no	/	1;2,3,4;5 ghiande farnia (AU)	dell'ultima stagione	1,2,3,4,5 si farnia (AU)	secco	no	/	no
con sangue	1;2,3,4;5 (AU)	lettiera	no	/	1;2,3,4;5 ghiande farnia (AU)	dell'ultima stagione	1,2,3,4,5 si farnia (AU)	secco	no	/	no
con sangue	1;2,3,4;5 (AU)	lettiera	no	/	1;2,3,4;5 ghiande farnia (AU)	dell'ultima stagione	1,2,3,4,5 si farnia (AU)	secco	no	/	no
no fluidi/ spostamento	1;2,3,4;5 (AU)	lettiera	no	/	1;2,3,4;5 ghiande farnia (AU)	dell'ultima stagione	1,2,3,4,5 si farnia (AU)	secco	no	/	no
no fluidi/ spostamento	1;2,3,4;5 (AU)	lettiera	no	/	1;2,3,4;5 ghiande farnia (AU)	dell'ultima stagione	1,2,3,4,5 si farnia (AU)	secco	no	/	no

Osservazioni in laboratorio

T0 serie 1 in laboratorio

tempo 0 (9-5-19)												
CAMPIONE		BOTANICA										ELEMENTI BOTANICI
		FOGLIE		FIORI		FRUTTI		FUSTI		GEMME		
		n° e specie	SDC	n° e specie	SDC	n° e specie	SDC	n° e specie	SDC	n° e specie	SDC	
con sperma	CUTE	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
	CAPELLI	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
con sperma	CUTE	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
	CAPELLI	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
no fluidi/no spostamento	CUTE	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	1 nd fresco
	CAPELLI	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	1 nd
no fluidi/no spostamento	CUTE	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
	CAPELLI	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
con sangue	CUTE	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
	CAPELLI	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
con sangue	CUTE	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	1 nd
	CAPELLI	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
no fluidi/spostamento	CUTE	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
	CAPELLI	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
no fluidi/spostamento	CUTE	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
	CAPELLI	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no

T1 serie 1 in laboratorio

tempo 1 (10-5-19)												
CAMPIONE		BOTANICA										ELEMENTI BOTANICI ND
		FOGLIE		FIORI		FRUTTI		FUSTI		GEMME		
		n° e specie	SDC	n° e specie	SDC	n° e specie	SDC	n° e specie	SDC	n° e specie	SDC	
con sperma	CUTE	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
	CAPELLI	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
con sperma	CUTE	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
	CAPELLI	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
no fluidi/no spostamento	CUTE	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	1 fresco
	CAPELLI	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	1 nd
no fluidi/no spostamento	CUTE	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
	CAPELLI	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
con sangue	CUTE	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
	CAPELLI	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
con sangue	CUTE	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	1 nd
	CAPELLI	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
no fluidi/spostamento	CUTE	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
	CAPELLI	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
no fluidi/spostamento	CUTE	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
	CAPELLI	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no

T2 serie 1 in laboratorio

tempo 2 (13-5-19)												
CAMPIONE		BOTANICA										ELEMENTI BOTANICI ND
		FOGLIE		FIORI		FRUTTI		FUSTI		GEMME		
		n° e specie	SDC	n° e specie	SDC	n° e specie	SDC	n° e specie	SDC	n° e specie	SDC	
con sperma	CUTE	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
	CAPELLI	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
con sperma	CUTE	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
	CAPELLI	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
no fluidi/no spostamento	CUTE	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
	CAPELLI	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
no fluidi/no spostamento	CUTE	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
	CAPELLI	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
con sangue	CUTE	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	1 nd
	CAPELLI	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
con sangue	CUTE	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
	CAPELLI	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
no fluidi/spostamento	CUTE	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
	CAPELLI	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
no fluidi/spostamento	CUTE	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
	CAPELLI	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no

T3 serie 1 in laboratorio

tempo 3 (16-5-19)												
CAMPIONE		BOTANICA										ELEMENTI BOTANICI ND
		FOGLIE		FIORI		FRUTTI		FUSTI		GEMME		
		n° e specie	SDC	n° e specie	SDC	n° e specie	SDC	n° e specie	SDC	n° e specie	SDC	
con sperma	CUTE	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
	CAPELLI	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
con sperma	CUTE	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
	CAPELLI	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
no fluidi/no spostamento	CUTE	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
	CAPELLI	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
no fluidi/no spostamento	CUTE	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
	CAPELLI	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
con sangue	CUTE	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
	CAPELLI	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
con sangue	CUTE	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
	CAPELLI	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
no fluidi/ spostamento	CUTE	no	/	fiore di robinia (AU)	ben conservato	no	/	no	/	no	/	no
	CAPELLI	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
no fluidi/ spostamento	CUTE	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
	CAPELLI	1 frammento foglia (ND)	parzialmente secca	no	/	no	/	no	/	no	/	no

T4 serie 1 in laboratorio

tempo 4 (24-5-19)												
CAMPIONE		BOTANICA										ELEMENTI BOTANICI
		FOGLIE		FIORI		FRUTTI		FUSTI		GEMME		
		n° e specie	SDC	n° e specie	SDC	n° e specie	SDC	n° e specie	SDC	n° e specie	SDC	
con sperma	CUTE	no	/	1 fiore robinia (AU)	mal conservato	no	/	no	/	no	/	no
	CAPELLI	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
con sperma	CUTE	1robinia (AU)	conservata	1robinia (AU)	mal conservato	no	/	no	/	no	/	no
	CAPELLI	possibili frammenti foglie	mal conservati	no	/	no	/	no	/	no	/	no
no fluidi/no spostamento	CUTE	1frammenti foglie	mal conservati	no	/	no	/	no	/	no	/	no
	CAPELLI	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
no fluidi/no spostamento	CUTE	1frammenti foglia	mal conservati	no	/	no	/	no	/	no	/	no
	CAPELLI	1frammenti foglie	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
con sangue	CUTE	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
	CAPELLI	no	/	no	/	1 possibile pappo di seme di pioppo (AL)	ben conservato	no	/	no	/	no
con sangue	CUTE	1 foglia	conservata,	no	/	no	/	no	/	no	/	no
	CAPELLI	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	1 ben conservato
no fluidi/ spostamento	CUTE	no	/	1robinia (AU)	/	1frammenti farnia (AU)	/	no	/	no	/	no
	CAPELLI	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
no fluidi/ spostamento	CUTE	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
	CAPELLI	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no

T5 serie 1 in laboratorio

tempo 5 (7-6-19)												
CAMPIONE		BOTANICA										ELEMENTI BOTANICI ND
		FOGLIE		FIORI		FRUTTI		FUSTI		GEMME		
		n° e specie	SDC	n° e specie	SDC	n° e specie	SDC	n° e specie	SDC	n° e specie	SDC	
con sperma	CUTE	no	/	possibili residui di petalo di fiore di robinia	mal conservato	no	/	no	/	no	/	residui vari non defeniniti
	CAPELLI	1probabile robinia	frammentato	no	/	no	/	no	/	no	/	no
con sperma	CUTE	1robinia	frammentate e secche	1robinia residuo di petalo(AU);	secco e frammenta to; ben	1ghianda abortita di farnia	ben conservata	1framment o legno	framment ato	no	/	possibile seme
	CAPELLI	1robinia	frammentate e secche	no	/	no	/	no	/	no	/	no
no fluidi/no spostamento	CUTE	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	frammenti foglie secche
	CAPELLI	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
no fluidi/no spostamento	CUTE	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	frammenti foglia
	CAPELLI	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
con sangue	CUTE	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
	CAPELLI	no	/	petali di fiore di robinia (AU)	mal conservato	no	/	no	/	no	/	no
con sangue	CUTE	no	/	fiori di robinia (AU)	mal conservato	no	/	no	/	no	/	no
	CAPELLI	no	/	1possibile pappo di composita sulla cute	ban conservato	no	/	no	/	no	/	no
no fluidi/ spostamento	CUTE	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	12 frammenti foglia
	CAPELLI	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	12 frammenti foglia secchi
no fluidi/ spostamento	CUTE	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	11 frammenti foglia
	CAPELLI	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	1 framm fusto secco

T6 serie 1 in laboratorio

tempo 6 (18-7-19)												
CAMPIONE		BOTANICA										ELEMENTI BOTANICI ND
		FOGLIE		FIORI		FRUTTI		FUSTI		GEMME		
		n° e specie	SDC	n° e specie	SDC	n° e specie	SDC	n° e specie	SDC	n° e specie	SDC	
con sperma	CUTE	no	/	1fiore di robinia (AU)	secco ma identificabil e e integro	1ghianda abortita di farnia (AU);	ben conservata	no	/	no	/	no
	CAPELLI	no	/	no	/	1frutto di	/	no	/	no	/	no
con sperma	CUTE	frammenti foglie circa 10	secche e frammentate	no	/	no	/	1muschio (AU)	ben conservato	no	/	no
	CAPELLI	frammenti foglie circa 10	secche e frammentate	no	/	no	/	no	/	no	/	no
no fluidi/no spostamento	CUTE	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
	CAPELLI	frammenti foglie circa 10	secche e frammentate	no	/	1 framm frutto farnia (AU)	/	no	/	no	/	no
no fluidi/no spostamento	CUTE	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
	CAPELLI	frammenti foglie circa 10	secche e frammentate	no	/	no	/	no	/	no	/	no
con sangue	CUTE	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
	CAPELLI	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	1fibra allungata
con sangue	CUTE	no	/	1frammento petalo di robinia (AU)	mal conservato	no	/	no	/	no	/	no
	CAPELLI	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	1lamina beige ben conservata
no fluidi/ spostamento	CUTE	1frammenti foglia circa 10	secche e frammentate	no	/	no	/	no	/	no	/	no
	CAPELLI	1frammenti foglia circa 10	secche e frammentate	1robinia (AU)	mal conservato	no	/	no	/	no	/	no
no fluidi/ spostamento	CUTE	1frammenti foglia circa 10	secche e frammentate	no	/	no	/	no	/	no	/	no
	CAPELLI	1frammenti foglia circa 10	secche e frammentate	no	/	no	/	no	/	no	/	no

T7 serie 1 in laboratorio

tempo 7 (30-8-19)												
CAMPIONE		BOTANICA										ELEMENTI BOTANICI ND
		FOGLIE		FIORI		FRUTTI		FUSTI		GEMME		
		n° e specie	SDC	n° e specie	SDC	n° e specie	SDC	n° e specie	SDC	n° e specie	SDC	
con sperma	CUTE	/	/	no	/	no	/	muschio	ben conservato	11 farnia	secco	no
	CAPELLI	foglie circa 10	secche e frammentate	no	/	no	/	no	/	no	/	no
con sperma	CUTE	foglie circa 10	secche e frammentate	no	/	no	/	no	/	no	/	no
	CAPELLI	frammenti foglie circa 10	ben conservato, secche per le foglie	no	/	no	/	no	/	1perula farnia	secco	no
no fluidi/no spostamento	CUTE	/	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
no fluidi/no spostamento	CAPELLI	foglie 5	frammentati	no	/	11 farnia	/	no	/	no	/	no
no fluidi/no spostamento	CUTE	/	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
no fluidi/no spostamento	CAPELLI	foglie 5	frammentati	no	/	no	/	no	/	no	/	no
con sangue	CUTE	legno fusto, 2 frammento foglia	ben conservato	no	/	no	/	no	/	no	/	no
	CAPELLI	frammenti foglia circa 10	secche e frammentate, frammenti fusto	no	/	no	/	no	/	no	/	no
con sangue	CUTE	foglia circa 10	secche e frammentate	no	/	no	/	no	/	11 farnia	secco	no
	CAPELLI	foglia circa 10	secche e frammentate	no	/	no	/	no	/	no	/	no
no fluidi/ spostamento	CUTE	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
	CAPELLI	foglie circa 10	secche e frammentate	no	/	no	/	no	/	no	/	no
no fluidi/ spostamento	CUTE	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
	CAPELLI	foglie circa 10	secche e frammentate	no	/	no	/	no	/	no	/	no

T8 serie 1 in laboratorio

tempo 8 (11-11-19)												
CAMPIONE		BOTANICA										
		FOGLIE		FIORI		FRUTTI		FUSTI		GEMME		ELEMENTI BOTANICI ND
		n° e specie	SDC	n° e specie	SDC	n° e specie	SDC	n° e specie	SDC	n° e specie	SDC	
con sperma	CUTE	1foglie (AU)	lettiera	no	/	no	/	si	ben conservato	no	/	no
	CAPELLI	1foglie	e frammentate	no	/	no	/	di muschio (AU)	ben conservato	12 farnia (AU)	secco	no
con sperma	CUTE	1foglie	e frammentate	no	/	1farnia (AU)	ben conservato	no	/	no	/	no
	CAPELLI	1foglie	e frammentate	no	/	no	/	1farnia (AU)	/	no	/	no
no fluidi/no spostamento	CUTE	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
	CAPELLI	foglie	frammentate	no	/	1frammento frutto farnia	ben conservato	no	/	no	/	no
no fluidi/no spostamento	CUTE	/	/	/	/	/	/	/	/	no	/	no
	CAPELLI	foglie	frammentate	no	/	no	/	no	/	no	/	no
con sangue	CUTE	foglie		no	/	no	/	1farnia (AU)	conservato	(AU)	secco	no
	CAPELLI	1frammenti foglie e		no	/	no	/	no	/	no	/	no
con sangue	CUTE	1frammenti foglie,		no	/	no	/	no	/	11farnia (AU)	secco	no
	CAPELLI	1frammenti foglie		no	/	no	/	1muschio (AU)	ben conservato	no	/	no
no fluidi/spostamento	CUTE	no	/	no	/		/	no	/	no	/	no
	CAPELLI	foglie	frammentate	no	/	no	/	no	/	no	/	no
no fluidi/spostamento	CUTE	foglie	frammentate	no	/	no	/	no	/	no	/	no
	CAPELLI	foglie	frammentate	no	/	no	/	no	/	no	/	no

T9 serie 1 in laboratorio

tempo 9 (16-12-19)												
CAMPIONE		BOTANICA										
		FOGLIE		FIORI		FRUTTI		FUSTI		GEMME		ELEMENTI BOTANICI ND
		n° e specie	SDC	n° e specie	SDC	n° e specie	SDC	n° e specie	SDC	n° e specie	SDC	
con sperma	CUTE	foglie, fusti, radici, muschio (AU) >10	frammentati	no	/	no	/	no	/	no	/	no
	CAPELLI	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
con sperma	CUTE	foglie e fusti >10	lettiera	no	/	1frammento di frutto di	ben conservato	no	/	no	/	no
	CAPELLI	muschio (AU)	frammento	no	/	no	/	no	/	no	/	no
no fluidi/no spostamento	CUTE	foglie, radici, muschio >10	/	no	/	frutto farnia (AU)	ben conservato	1farnia (AU)	frammenti	11 farnia (AU)	ben conservato	no
	CAPELLI	foglie >10	frammenti	no	/	no	/	no	/	11 farnia (AU)	ben conservato	no
no fluidi/no spostamento	CUTE	foglie e radici >10	frammentati	no	/	no	/	1farnia (AU)	ben conservato	11 farnia	ben conservato	no
	CAPELLI	foglie >10	frammenti	no	/	no	/	no	/	no	/	no
con sangue	CUTE	farnia (AU); foglie nd >10	frammentata	no	/	no	/	no	/	no	/	no
	CAPELLI	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
con sangue	CUTE	foglie e radici, fusti >10	frammenti	no	/	no	/	no	/	11 farnia (AU)	ben conservato	no
	CAPELLI	foglie >10	frammenti	no	/	no	/	no	/	no	/	no
no fluidi/spostamento	CUTE	>10	frammenti	no	/	no	/	no	/	no	/	no
	CAPELLI	foglie >10	frammenti	no	/	no	/	no	/	no	/	no
no fluidi/spostamento	CUTE	>10	frammenti	no	/	no	/	no	/	no	/	no
	CAPELLI	foglie >10	frammentati	no	/	frutto farnia (AU)	ben conservato	no	/	no	/	no

T10 serie 1 in laboratorio

tempo 10 (31-01-20)												
CAMPIONE		BOTANICA										ELEMENTI BOTANICI ND
		FOGLIE		FIORI		FRUTTI		FUSTI		GEMME		
		n° e specie	SDC	n° e specie	SDC	n° e specie	SDC	n° e specie	SDC	n° e specie	SDC	
con sperma	CUTE	1farnia (AU); 1foglie, radici, frammenti legno	frammenti	no	/	no	/	no	/	no	/	no
	CAPELLI	foglie >10	frammenti	no	/	no	/	no	/	no	/	no
con sperma	CUTE	foglie (di cui una verdina), radici e fusti	frammenti	no	/	1farnia (AU)	frammento	no	/	no	/	no
	CAPELLI	foglie >10	frammenti	no	/	no	/	no	/	no	/	no
no fluidi/no spostamento	CUTE	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
	CAPELLI	foglie >10	frammenti	no	/	1farnia (AU)	frammenti	no	/	no	/	no
no fluidi/no spostamento	CUTE	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
	CAPELLI	foglie >10	frammenti	no	/	no	/	no	/	no	/	no
con sangue	CUTE	1farnia; 1foglie, foglioline e fusti muschio (AU)	frammentate	no	/	no	/	no	/	no	/	no
	CAPELLI	1foglie; possibile fogliolina muschio	frammentate	no	/	no	/	no	/	no	/	no
con sangue	CUTE	1farnia (AU); 1foglie e radici.e foglioline di muschio	frammentate	no	/	1farnia (AU)	/	no	/	no	/	no
	CAPELLI	foglie e fusti >10	frammenti	no	/	no	/	no	/	no	/	no
no fluidi/ spostamento	CUTE	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
	CAPELLI	foglie >10	frammenti	no	/	1farnia (AU)	frammenti	no	/	no	/	no
no fluidi/ spostamento	CUTE	foglie, fusti >10	frammenti	no	/	1farnia (AU)	frammenti	no	/	no	/	no
	CAPELLI	foglie >10	frammenti	no	/	no	/	no	/	no	/	no

SERIE 2

Osservazioni sul campo

T0 serie 2 sul campo

tempo 0 (24-2-21)											
CAMPIONE	BOTANICA										
	FOGLIE		FIORI		FRUTTI		FUSTI		GEMME		ELEMENTI BOTANICI ND
	posizione, n° e specie	SDC	posizione, n° e specie	SDC	posizione, n° e specie	SDC	posizione, n° e specie	SDC	posizione, n° e specie	SDC	
no fluidi/no spostamento	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
no fluidi/no spostamento	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
con sperma	3, farnia 5, framm farnia (AU)	lettiera	no	/	no	/	no	/	no	/	no
con sperma	5, farnia (AU)	lettiera	no	/	no	/	no	/	no	/	no
con sangue	1, farnia (AU)	lettiera	no	/	no	/	no	/	no	/	no
con sangue	5, 2x farnia (AU)	lettiera	no	/	no	/	no	/	no	/	no
no fluidi/ spostamento	no	/	1nd	secco	1, Teesdalia nudicaulis L. (AU)	secco	2, 1 nd 1, Teesdalia nudicaulis L. (AU)	secco	no	/	1, framm foglia secco
no fluidi/ spostamento	no	/	no	/	no	/	3, 1 nd 4, Teesdalia nudicaulis L. 5, Teesdalia nudicaulis L. (AU)	secco	no	/	no

T1 serie 2 sul campo

tempo 1 (25-2-21)											
CAMPIONE	BOTANICA										
	FOGLIE		FIORI		FRUTTI		FUSTI		GEMME		ELEMENTI BOTANICI ND
	posizione, n° e specie	SDC	posizione, n° e specie	SDC	posizione, n° e specie	SDC	posizione, n° e specie	SDC	posizione, n° e specie	SDC	
no fluidi/no spostamento	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
no fluidi/no spostamento	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
con sperma	3, farnia 5, framm farnia (AU)	lettiera	no	/	no	/	no	/	no	/	no
con sperma	5, farnia (AU)	lettiera	no	/	no	/	no	/	no	/	no
con sangue	1, farnia (AU)	lettiera	no	/	no	/	no	/	no	/	no
con sangue	2, 1nd 5, 3x farnia (AU)	secco lettiera	no	/	no	/	no	/	no	/	no
no fluidi/ spostamento	1, 1nd	secco lettiera	2, 2x nd 3, 3x nd	secco	no	/	1, 2x nd 4, Teesdalia nudicaulis L. (AU)	secco	no	/	no
no fluidi/ spostamento	no	/	no	/	no	/	3, nd 5, Teesdalia nudicaulis L. (AU)	secco	no	/	no

T2 serie 2 sul campo

tempo 2 (1-3-21)											
CAMPIONE	BOTANICA										ELEMENTI BOTANICI ND
	FOGLIE		FIORI		FRUTTI		FUSTI		GEMME		
	posizione, n° e specie	SDC	posizione, n° e specie	SDC	posizione, n° e specie	SDC	posizione, n° e specie	SDC	posizione, n° e specie	SDC	
no fluidi/no spostamento	no	/	no	/	no	/	no	/	3, perula farnia (AU)	fresca	no
no fluidi/no spostamento	3, farnia (AU)	lettiera	no	/	no	/	no	/	no	/	no
con sperma	1, farnia 2, 2x farnia 5, framm farnia (AU)	secco lettiera lettiera	no	/	no	/	no	/	no	/	no
con sperma	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
con sangue	1, farnia 1, nd (AU)	lettiera secco	no	/	no	/	no	/	no	/	no
con sangue	5, 2x farnia (AU)	lettiera	no	/	no	/	no	/	no	/	no
no fluidi/spostamento	3, farnia (AU)	lettiera	3, 2x nd	secco	no	/	1, nd 3, Teesdalia nudicaulis L. (AL)	secco	no	/	no
no fluidi/spostamento	no	/	no	/	no	/	5, 2x Teesdalia nudicaulis L. (AL)	secco	no	/	no

T3 serie 2 sul campo

tempo 3 (3-3-21)											
CAMPIONE	BOTANICA										ELEMENTI BOTANICI ND
	FOGLIE		FIORI		FRUTTI		FUSTI		GEMME		
	posizione, n° e specie	SDC	posizione, n° e specie	SDC	posizione, n° e specie	SDC	posizione, n° e specie	SDC	posizione, n° e specie	SDC	
no fluidi/no spostamento	no	/	no	/	no	/	no	/	3, perula farnia (AU)	fresco	no
no fluidi/no spostamento	3, 3x farnia (AU)	lettiera	no	/	no	/	no	/	no	/	no
con sperma	1, farnia 3, 2x farnia 5, framm farnia (AU)	secco lettiera lettiera	no	/	no	/	no	/	no	/	no
con sperma	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
con sangue	1, farnia (AU) 1, nd	lettiera decomposto	no	/	no	/	no	/	no	/	no
con sangue	5, 4x farnia (AU)	lettiera	no	/	no	/	no	/	no	/	no
no fluidi/spostamento	3, 2x farnia (AU)	lettiera	1, nd 3, nd	secco	no	/	1, nd	secco	no	/	no
no fluidi/spostamento	no	/	no	/	no	/	2, 2x nd	secco	no	/	no

T4 serie 2 sul campo

tempo 4 (10-3-21)											
CAMPIONE	BOTANICA										
	FOGLIE		FIORI		FRUTTI		FUSTI		GEMME		ELEMENTI BOTANICI ND
	posizione, n° e specie	SDC	posizione, n° e specie	SDC	posizione, n° e specie	SDC	posizione, n° e specie	SDC	posizione, n° e specie	SDC	
no fluidi/no spostamento	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
no fluidi/no spostamento	3, farnia (AU)	lettiera	no	/	no	/	no	/	no	/	no
con sperma	3, 3x farnia 5, framm farnia (AU)	lettiera	no	/	no	/	no	/	no	/	no
con sperma	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
con sangue	1, farnia (AU) 1, nd	lettiera decomposto	no	/	no	/	no	/	no	/	no
con sangue	5, 2x farnia (AU)	lettiera	no	/	no	/	no	/	no	/	no
no fluidi/ spostamento	3, 2x farnia (AU)	lettiera	no	/	no	/	2, nd 5, Teesdalia nudicaulis L. (AL)	secco	no	/	no
no fluidi/ spostamento	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no

T5 serie 2 sul campo

tempo 5 (31-3-21)											
CAMPIONE	BOTANICA										
	FOGLIE		FIORI		FRUTTI		FUSTI		GEMME		ELEMENTI BOTANICI ND
	posizione, n° e specie	SDC	posizione, n° e specie	SDC	posizione, n° e specie	SDC	posizione, n° e specie	SDC	posizione, n° e specie	SDC	
no fluidi/no spostamento	1,3x farnia 1,2x nd 2,3x farnia 3,2x farnia 3,nd 4,nd 5, farnia (AU)	lettiera	1,>10 farnia (AU)	fresco	no	/	no	/	1,2x perula farnia 3,2xperula farnia 5,perula farnia (AU)	fresco	no
no fluidi/no spostamento	1, farnia 2, farnia 3, farnia 5, farnia 5,4xframm farnia (AU)	lettiera	no	/	no	/	no	/	1,perula farnia 3,perula farnia 4,2x perula farnia (AU)	fresco	no
con sperma	1, nd 1, farnia 3, farnia 3,4xframm farnia 4,3x farnia 4,2xframm farnia 5, farnia 5,5xframm farnia (AU)	decomposto (1,nd) lettiera	no	/	no	/	no	/	2,perula farnia 3,3xperula farnia (AU)	fresco	no
con sperma	2, farnia 2, framm farnia 3, farnia 4,3x farnia 4, framm farnia 5, farnia 5, framm farnia 5, nd (AU)	lettiera	3, inf.farnia 3, inf. Farnia (AU)	fresco secco	5, robinia	secco	3,2x farnia (AU)		2,perula farnia 4,perula farnia 3,6x farnia (AU)	fresco	no
con sangue	1, nd 1, farnia 3, farnia (AU)	decomposto lettiera lettiera	no	/	no	/	no	/	1,2x perula farnia 2,perula farnia 4,perula farnia (AU)	fresco	no
con sangue	2,2x farnia 3,6x farnia 3,2x framm farnia 5,3x farnia (AU)	lettiera	no	/	no	/	no	/	1,perula farnia (AU)	fresco	no
no fluidi/ spostamento	1,2xframm farnia 2, framm farnia 2,3x nd 3,3x farnia 4,4x farnia 5,3x farnia 5,2xframm farnia (AU)	lettiera	no	/	no	/	5, Teesdalia nudicaulis L. (AL)	secco	2,perula farnia 4,perula farnia (AU)	fresco	no
no fluidi/ spostamento	1, farnia 2, farnia 3, farnia 3,2xframm farnia 5, framm farnia 5,2x farnia (AU). 5,1 nd	lettiera	no	/	no	/	3, farnia (AU) 5, nd	secco	no	/	no

T6 serie 2 sul campo

tempo 6 (29-4-21)											
CAMPIONE	BOTANICA										
	FOGLIE		FIORI		FRUTTI		FUSTI		GEMME		ELEMENTI BOTANICI ND
	posizione, n° e specie	SDC	posizione, n° e specie	SDC	posizione, n° e specie	SDC	posizione, n° e specie	SDC	posizione, n° e specie	SDC	
no fluidi/ no spostamento	1, farnia 2, farnia 3, 10x farnia 3, 2x framm farnia 5, 2x farnia 5, farnia (AU)	lettiera fresco (5, farnia)	2, inf farnia 3, 7x inf farnia (AU)	secco	no	/	1, farnia 2, nd 3, farnia 5, farnia (AU)	fresco	no	/	no
no fluidi/ no spostamento	1, farnia 1, farnia 2, 2x farnia 3, 4x farnia 5, framm farnia (AU)	lettiera fresco lettiera lettiera	1, 2x inf farnia 3, 4x inf farnia 5, 4x inf farnia (AU)	secco	no	/	3, farnia 4, farnia (AU)	fresco	4, 1x perule farnia (AU)	fresco	no
con sperma	2, farnia 3, 5x farnia 3, 3x farnia (AU)	lettiera	5, inf farnia (AU)	secco	5, robinia (AU)	secco	5, nd	fresco	no	/	no
con sperma	2, 8x farnia 3, farnia 3, 2x farnia 4, 3x farnia. 5, 2x farnia. 5, farnia (AU)	lettiera secco lettiera lettiera lettiera secco	2, 3x inf farnia 3, 4x inf farnia 3, 4x inf farnia 5, inf farnia (AU)	secco decomposto secco secco	2, robinia 3, robinia (AU)	secco	3, farnia 3, 2x farnia (AU)	secco fresco	2, 2x perule farnia 3, perule farnia 4, perule farnia 5, perule farnia (AU)	fresco	no
con sangue	1, nd 1, nd 1, nd 3, nd 3, 2x nd 3, nd	lettiera secco decomposto lettiera secco verde	3, 5x inf farnia 5, 5x inf farnia (AU)	secco	no	/	no	/	1, 2x perule farnia 3, 7x perule farnia 5, 5x perule farnia 5, 2x perule farnia (AU)	fresco	no
con sangue	3, 3x farnia 3, 6x farnia 5, 4x farnia (AU)	lettiera	1, inf farnia 5, 5x inf farnia (AU)	secco	no	/	1, farnia (AU)	secco	2, 5x perule farnia 5, 4x perule farnia (AU)	fresco	no
no fluidi/ spostamento	1, nd 2, nd	lettiera	5, inf farnia (AU)	secco	no	/	no	/	1, 2x perule farnia 4, 4x perule farnia 4, 2x perule nd 5, 6x perule farnia (AU) 5, 4x perule nd	fresco	no
no fluidi/ spostamento	2, farnia 2, farnia 3, 3x farnia 4, 2x framm farnia 5, 5x farnia (AU)	lettiera fresco lettiera lettiera lettiera	2, inf farnia 3, inf farnia (AU)	secco	no	/	3, farnia (AU)	fresco	1, 2x perule farnia 4, 2x perule farnia (AU)	fresco	no

T7 serie 2 sul campo

tempo 7 (11-6-21)											
CAMPIONE	BOTANICA										
	FOGLIE		FIORI		FRUTTI		FUSTI		GEMME		ELEMENTI BOTANICI ND
	posizione, n° e specie	SDC	posizione, n° e specie	SDC	posizione, n° e specie	SDC	posizione, n° e specie	SDC	posizione, n° e specie	SDC	
no fluidi/no spostamento	3, 8x farnia 4, 4x farnia 5, 3x farnia (AU)	lettiera	no	/	3, 2x farnia 5, 3x farnia (AU)	secco	no	/	no	/	no
no fluidi/no spostamento	1, farnia 2, 2x farnia 3, 2x farnia 4, 3x farnia 5, 2x farnia 5, 3x farnia (AU)	secche verdi (5, 3x farnia)	3, 3x inf farnia (AU)	secco	2, 3x farnia (AU)	secco	no	/	no	/	no
con sperma	1, 2x farnia 2, 4x farnia 3, 3x farnia 4, 4x farnia 5, 5x farnia 5, 2x farnia (AU)	lettiera fresco (5, 2x farnia)	no	/	no	/	2, 2x farnia (AU)	secco	2, perule farnia (AU)	secco	no
con sperma	1, farnia 2, 3x farnia 3, farnia 4, 3x farnia 5, 2x farnia 5, farnia (AU)	secco fresco (5, farnia)	no	/	2, farnia (AU)	secco	2, 2x farnia 3, farnia 3, 2x farnia 5, 2x farnia (AU)	secco	no	/	no
con sangue	2, farnia 4, farnia (AU)	secca fresca	no	/	3, 2x farnia (AU)	fresco	no	/	1, 2x perule farnia 4, perule farnia (AU)	secco	no
con sangue	1, farnia 2, 2x farnia 3, 2x farnia 4, 3x farnia 5, 2x farnia 5, farnia (AU)	secco fresco (5, farnia)	no	/	no	/	no	/	3, 2x perule farnia (AU)	secco	no
no fluidi/ spostamento	3, farnia (AU)	fresca	4, 2x inf farnia 5, inf farnia (AU)	secco fresco	no	/	3, farnia (AU)	secco	no	/	no
no fluidi/ spostamento	2, 2x farnia 3, 3x farnia (AU)	lettiera	2, inf farnia (AU)	secco	no	/	2, 3x farnia 3, 2x farnia (AU)	secco	no	/	no

T8 serie 2 sul campo

tempo 8 (23-7-21)											
CAMPIONE	BOTANICA										
	FOGLIE		FIORI		FRUTTI		FUSTI		GEMME		ELEMENTI BOTANICI ND
	posizione, n° e specie	SDC	posizione, n° e specie	SDC	posizione, n° e specie	SDC	posizione, n° e specie	SDC	posizione, n° e specie	SDC	
no fluidi/no spostamento	1, farnia 3, 2x farnia 4, 3x farnia 5, 2x farnia 5, 2x farnia (AU)	secco fresco (5, 2x farnia)	no	/	no	/	2, 3x farnia 3, farnia 5, farnia (AU)	secco fresco (5, farnia)	no	/	no
no fluidi/no spostamento	1, farnia 2, 2x farnia 3, 2x farnia 4, 2x farnia 4, farnia 5, 2x farnia 5, farnia (AU)	secco fresco (1, 4, farnia)	no	/	no	/	3, 3x farnia 4, farnia 5, farnia (AU)	secco fresco (4, farnia)	no	/	no
con spema	1, 2x farnia 2, 5x farnia 3, 4x farnia 4, 3x farnia 5, 6x farnia 5, farnia (AU)	secco fresco (5, farnia)	no	/	no	/	2, 3x farnia 3, farnia 4, farnia (AU)	secco	no	/	no
con spema	1, robinia 1, 3x farnia 2, 2x farnia 3, 2x farnia 3, 2x farnia 4, 4x farnia 5, 5x farnia (AU)	secco	no	/	no	/	1, farnia 2, 2x farnia 3, 3x farnia 4, 3x farnia 4, farnia (AU)	secco fresco 4, farnia	2, 2x gemma farnia (AU)	fresco	no
con sangue	1, farnia 2, 2x farnia 3, 2x farnia 3, farnia 4, 4x farnia 5, farnia 5, farnia (AU)	secco secco secco verde secco secco verde	no	/	3, 2x farnia (AU)	fresco	2, 2x farnia 3, 3x farnia (AU)	secco	3, 3x gemma farnia (AU)	fresco	no
con sangue	2, 3x farnia 3, 2x farnia (AU)	secco	no	/	4, 2x graminacea	fresco	2, farnia (AU)	secco	no	/	no
no fluidi/ spostamento	1, farnia 2, 4x farnia 3, farnia 4, 4x farnia 5, farnia (AU)	secco verde (5, farnia)	no	/	no	/	1, farnia 4, farnia (AU)	secco	5, perula nd	fresca	no
no fluidi/ spostamento	1, farnia 2, 2x farnia 3, 2x farnia 4, 3x farnia 5, 2x farnia 5, muschio (AU)	secco	no	/	no	/	3, farnia 4, farnia (AU)	secco	no	/	no

T9 serie 2 sul campo

tempo 9 (17-9-21)											
CAMPIONE	BOTANICA										
	FOGLIE		FIORI		FRUTTI		FUSTI		GEMME		ELEMENTI BOTANICI ND
	posizione, n° e specie	SDC	posizione, n° e specie	SDC	posizione, n° e specie	SDC	posizione, n° e specie	SDC	posizione, n° e specie	SDC	
no fluidi/ no spostamento	1,2x farnia 2,5x farnia 3, farnia 4,2x farnia 4,3x farnia 4,4x farnia 5,4x farnia 5, farnia (AU)	secche fresche (1,farnia; 5,farnia)	no	/	no	/	2,2x farnia 3,2x farnia 5,farnia (AU)	secco fresco (5,farnia)	no	/	no
no fluidi/ no spostamento	1,farnia 1,2x farnia 2,4x farnia 3,farnia 3,3x farnia 4,6x farnia 5,farnia 5,5x farnia (AU)	secche fresche (1,farnia; 3,farnia; 5,farnia)	no	/	no	/	2,4x farnia 3,2x farnia 5,2x farnia (AU)	secco	no	/	no
con sperma	1,2x farnia 2,5x farnia 3,farnia 4,2x farnia 4,3x farnia. 4,4x farnia 5,7x farnia (AU)	secche fresche (4,4x farnia)	no	/	no	/	2,farnia 3,2x farnia (AU)	secco	no	/	no
con sperma	1,2x farnia 2,6x farnia 3,2x farnia 4,3x farnia 4,2x farnia 4,4x farnia 5,2x farnia 5,6x farnia (AU)	secche fresche (4,2x farnia 5, 2x farnia)	no	/	no	/	1,farnia 4 farnia 5,farnia (AU)	secco fresco (4,farnia)	4,2x farnia (AU)	fresco	no
con sangue	1,farnia 2,4x farnia 3,2x farnia 4,3x farnia 4,2x farnia 5,2x farnia 5,farnia (AU)	secche fresche (1,farnia; 4,2x farnia; 5,2x farnia)	no	/	no	/	1,farnia 4,2x farnia 5,2x farnia (AU)	secco	no	/	no
con sangue	1,farnia 1,2x farnia 2,5x farnia 3,4x farnia 3,2x farnia 4,2x farnia 5,farnia (AU)	secche fresche (1,2x farnia; 3,4x farnia; 5,farnia)	1, petalo robinia (AU)	fresco	no	/	3,3x farnia 4,farnia (AU)	secco	no	/	no
no fluidi/ spostamento	1,farnia 2,2x farnia 3,2x farnia 4,3x farnia 5,3x farnia 5,farnia (AU)	secche fresche (2,farnia)	no	/	5,3x gemme farnia (AU)	fresco	3,farnia 5,farnia (AU)	fresco secco	no	/	no
no fluidi/ spostamento	1,farnia 2,3x farnia 3,2x farnia 4,3x farnia 5,2x farnia 5,farnia (AU)	secche fresche (1,5 farnia)	no	/	no	/	no	/	no	/	no

T10 serie 2 sul campo

tempo 10 (5-12-21)											
CAMPIONE	BOTANICA										
	FOGLIE		FIORI		FRUTTI		FUSTI		GEMME		ELEMENTI BOTANICI ND
	posizione, n° e specie	SDC	posizione, n° e specie	SDC	posizione, n° e specie	SDC	posizione, n° e specie	SDC	posizione, n° e specie	SDC	
no fluidi/ no spostamento	1,2x farnia 2,5x farnia 3, farnia 4, 2x farnia 4, 3x farnia 4, 4x farnia 5, 4x farnia 5, farnia (AU)	secche	no	/	no	/	2,2x farnia 3,3x farnia 5, farnia (AU)	secco	no	/	no
no fluidi/ no spostamento	1, farnia 1, 2x farnia 2, 4x farnia 3, farnia 3, 3x farnia 4, 6x farnia 5, farnia 5,5x farnia (AU)	secche 3, farnia)	no	/	no	/	2,4x farnia 3, 2x farnia 5,2x farnia (AU)	secco	no	/	no
con sperma	1,2x farnia 2,5x farnia 3, farnia 4, 2x farnia 4, 3x farnia 4, 4x farnia 5, 7x farnia (AU)	secche fresche (4, 4x farnia)	no	/	no	/	2, farnia 3,3x farnia (AU)	secco	no	/	no
con sperma	1,2x farnia 2,6x farnia 3,2x farnia 4,3x farnia 4,2x farnia 4,4x farnia 5,3x farnia 5,6x farnia (AU)	secche fresche (4, 2x farnia 5,2x farnia)	no	/	no	/	1, farnia 3 farnia 5, farnia (AU)	secco fresco (3, farnia)	4, perule farnia (AU)	fresco	no
con sangue	1, farnia 2, 5x farnia 3, 2x farnia 4, 3x farnia 4, 2x farnia 5, 2x farnia 5, farnia (AU)	secche fresche (1, farnia; 4,2x farnia; 5,2x farnia)	no	/	no	/	1, farnia 4,2x farnia 5,2x farnia (AU)	secco	no	/	no
con sangue	1, farnia 1,2x farnia 2,5x farnia 3,4x farnia 3,2x farnia 4,2x farnia 5, farnia (AU)	secche fresche (1,2x farnia; 3,4x farnia; 5, farnia)	no	/	no	/	3,3x farnia 4, farnia (AU)	secco	5,2x perule farnia (AU)	fresco	no
no fluidi/ spostamento	1, farnia 2, 2x farnia 3, 2x farnia 4, 4x farnia 5, 3x farnia 5, farnia (AU)	secche fresche (1, farnia)	no	/	no	/	3, farnia 5, farnia (AU)	secco	no	/	no
no fluidi/ spostamento	1,2x farnia 2,3x farnia 3,2x farnia 4,3x farnia 5,4x farnia (AU)	secche	no	/	no	/	no	/	no	/	no

Osservazioni in laboratorio

T0 serie 2 in laboratorio

tempo 0 (24-2-21)												
CAMPIONE		BOTANICA										ELEMENTI BOTANICI ND
		FOGLIE		FIORI		FRUTTI		FUSTI		GEMME		
		n° e specie	SDC	n° e specie	SDC	n° e specie	SDC	n° e specie	SDC	n° e specie	SDC	
no fluidi/no spostamento	CUTE	1 framm	secco	no	/	no	/	no	/	no	/	no
	CAPELLI	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
no fluidi/no spostamento	CUTE	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
	CAPELLI	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
con sperma	CUTE	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
	CAPELLI	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
con sperma	CUTE	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
	CAPELLI	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
con sangue	CUTE	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
	CAPELLI	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
con sangue	CUTE	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
	CAPELLI	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
no fluidi/spostamento	CUTE	no	/	no	/	no	/	no	/	2 perule biancospino	fresco	2 nd fresco
	CAPELLI	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
no fluidi/spostamento	CUTE	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
	CAPELLI	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no

T1 serie 2 in laboratorio

tempo 1 (25-2-21)												
CAMPIONE		BOTANICA										ELEMENTI BOTANICI ND
		FOGLIE		FIORI		FRUTTI		FUSTI		GEMME		
		n° e specie	SDC	n° e specie	SDC	n° e specie	SDC	n° e specie	SDC	n° e specie	SDC	
no fluidi/no spostamento	CUTE	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
	CAPELLI	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
no fluidi/no spostamento	CUTE	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
	CAPELLI	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
con sperma	CUTE	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
	CAPELLI	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
con sperma	CUTE	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
	CAPELLI	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
con sangue	CUTE	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
	CAPELLI	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
con sangue	CUTE	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
	CAPELLI	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
no fluidi/spostamento	CUTE	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	1 nd
	CAPELLI	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
no fluidi/spostamento	CUTE	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	1 nd
	CAPELLI	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no

T2 serie 2 in laboratorio

tempo 2 (1-3-21)												
CAMPIONE		BOTANICA										ELEMENTI BOTANICI ND
		FOGLIE		FIORI		FRUTTI		FUSTI		GEMME		
		n° e specie	SDC	n° e specie	SDC	n° e specie	SDC	n° e specie	SDC	n° e specie	SDC	
no fluidi/no spostamento	CUTE	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
	CAPELLI	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
no fluidi/no spostamento	CUTE	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
	CAPELLI	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
con sperma	CUTE	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
	CAPELLI	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
con sperma	CUTE	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
	CAPELLI	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
con sangue	CUTE	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
	CAPELLI	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
con sangue	CUTE	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
	CAPELLI	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
no fluidi/spostamento	CUTE	muschio	fresco	polline	fresco	no	/	no	/	no	/	no
	CAPELLI	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
no fluidi/spostamento	CUTE	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
	CAPELLI	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no

T3 serie 2 in laboratorio

tempo 3 (3-3-21)												
CAMPIONE		BOTANICA										ELEMENTI BOTANICI ND
		FOGLIE		FIORI		FRUTTI		FUSTI		GEMME		
		n° e specie	SDC	n° e specie	SDC	n° e specie	SDC	n° e specie	SDC	n° e specie	SDC	
no fluidi/no spostamento	CUTE	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
	CAPELLI	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
no fluidi/no spostamento	CUTE	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
	CAPELLI	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
con sperma	CUTE	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
	CAPELLI	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
con sperma	CUTE	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
	CAPELLI	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
con sangue	CUTE	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
	CAPELLI	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
con sangue	CUTE		secco e 2 frammentato	no	/	no	/	no	/	no	/	no
	CAPELLI	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
no fluidi/spostamento	CUTE	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
	CAPELLI	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no

T4 serie 2 in laboratorio

tempo 4 (10-3-21)												
CAMPIONE		BOTANICA AUTOCTONA										ELEMENTI BOTANICI ND
		FOGLIE		FIORI		FRUTTI		FUSTI		GEMME		
		n° e specie	SDC	n° e specie	SDC	n° e specie	SDC	n° e specie	SDC	n° e specie	SDC	
no fluidi/no spostamento	CUTE	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
	CAPELLI	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
no fluidi/no spostamento	CUTE	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
	CAPELLI	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
con sperma	CUTE	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
	CAPELLI	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
con sperma	CUTE	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
	CAPELLI	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
con sangue	CUTE	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
	CAPELLI	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
con sangue	CUTE	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
	CAPELLI	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
no fluidi/spostamento	CUTE	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
	CAPELLI	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
no fluidi/spostamento	CUTE	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
	CAPELLI	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no

T5 serie 2 in laboratorio

tempo 5 (31-3-21)												
CAMPIONE		BOTANICA AUTOCTONA										ELEMENTI BOTANICI ND
		FOGLIE		FIORI		FRUTTI		FUSTI		GEMME		
		n° e specie	SDC	n° e specie	SDC	n° e specie	SDC	n° e specie	SDC	n° e specie	SDC	
no fluidi/no spostamento	CUTE			1 agglomerato polline cfr. biancospino	fresco	no	/	no	/	no	/	no
	CAPELLI	1 fram	secco	no	/	no	/	no	/	no	/	no
no fluidi/no spostamento	CUTE	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
	CAPELLI	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
con sperma	CUTE	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
	CAPELLI	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
con sperma	CUTE	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
	CAPELLI	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
con sangue	CUTE	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
	CAPELLI	no	/			no	/	no	/	no	/	no
con sangue	CUTE	no	/	si		no	/	no	/	no	/	no
	CAPELLI	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
no fluidi/spostamento	CUTE	no	/	>100 granuli polline cfr. biancospino	fresco	no	/	no	/	no	/	no
	CAPELLI	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
no fluidi/spostamento	CUTE	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
	CAPELLI	no	/	5 agglomerati polline cfr. biancospino	fresco	no	/	no	/	no	/	no

T6 serie 2 in laboratorio

tempo 6 (29-4-21)												
CAMPIONE		BOTANICA AUTOCTONA										ELEMENTI BOTANICI ND
		FOGLIE		FIORI		FRUTTI		FUSTI		GEMME		
		n° e specie	SDC	n° e specie	SDC	n° e specie	SDC	n° e specie	SDC	n° e specie	SDC	
no fluidi/no spostamento	CUTE	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
	CAPELLI	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
no fluidi/no spostamento	CUTE	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
	CAPELLI	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
con sperma	CUTE	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
	CAPELLI	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
con sperma	CUTE	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
	CAPELLI	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
con sangue	CUTE	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
	CAPELLI	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
con sangue	CUTE	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
	CAPELLI	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
no fluidi/ spostamento	CUTE	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
	CAPELLI	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
no fluidi/ spostamento	CUTE	1 framm	secco	no	/	no	/	no	/	no	/	no
	CAPELLI	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no

T7 serie 2 in laboratorio

tempo 7 (11-6-21)												
CAMPIONE		BOTANICA AUTOCTONA										ELEMENTI BOTANICI ND
		FOGLIE		FIORI		FRUTTI		FUSTI		GEMME		
		n° e specie	SDC	n° e specie	SDC	n° e specie	SDC	n° e specie	SDC	n° e specie	SDC	
no fluidi/no spostamento	CUTE	1 framm	secco	polline	fresco	no	/	no	/	no	/	1nd
	CAPELLI	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
no fluidi/no spostamento	CUTE	1 feamm	secco	1 framm	/	no	/	no	/	no	/	no
	CAPELLI	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
con sperma	CUTE	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	/
	CAPELLI	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
con sperma	CUTE	no	/	no	/	no	/	no	/	1 fresca	/	1 nd
	CAPELLI	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
con sangue	CUTE	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	1nd
	CAPELLI	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
con sangue	CUTE	no	/	1 robinia	fresco	no	/	no	/	no	/	no
	CAPELLI	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
no fluidi/ spostamento	CUTE	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
	CAPELLI	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
no fluidi/ spostamento	CUTE	no	/	1 quercia	/	no	/	no	/	no	/	1nd
	CAPELLI	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no

T8 serie 2 in laboratorio

tempo 8 (23-7-21)												
CAMPIONE		BOTANICA AUTOCTONA										ELEMENTI BOTANICI ND
		FOGLIE		FIORI		FRUTTI		FUSTI		GEMME		
		n° e specie	SDC	n° e specie	SDC	n° e specie	SDC	n° e specie	SDC	n° e specie	SDC	
no fluidi/no spostamento	CUTE	no	/	1 fresco	/	1	/	no	/	1 perula	fresca	1nd
	CAPELLI	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	/
no fluidi/no spostamento	CUTE	1 framm	secco	no	/	1	/	no	/	no	/	/
	CAPELLI	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	/
con sperma	CUTE	2 framm	secco	no	/	no	/	1	/	2 perule	fresche	/
	CAPELLI	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	/
con sperma	CUTE	3 framm	secco	3 fresco	/	no	/	1	/	no	/	/
	CAPELLI	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	/
con sangue	CUTE	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	/
	CAPELLI	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	/
con sangue	CUTE	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	/
	CAPELLI	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	/
no fluidi/ spostamento	CUTE	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	/
	CAPELLI	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	/
no fluidi/ spostamento	CUTE	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	3nd
	CAPELLI	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	/

T9 serie 2 in laboratorio

tempo 9 (17-9-21)												
CAMPIONE		BOTANICA										ELEMENTI BOTANICI ND
		FOGLIE		FIORI		FRUTTI		FUSTI		GEMME		
		n° e specie	SDC	n° e specie	SDC	n° e specie	SDC	n° e specie	SDC	n° e specie	SDC	
no fluidi/no spostamento	CUTE	no	/	no	/	no	/	no	/	2 perule, 1 gemma	fresca	no
	CAPELLI	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
no fluidi/no spostamento	CUTE	2 framm	/	no	/	no	/	no	/	1 perula	fresca	no
	CAPELLI	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
con sperma	CUTE	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
	CAPELLI	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
con sperma	CUTE	3 framm	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
	CAPELLI	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
con sangue	CUTE	1 framm	/	no	/	no	/	no	/	1 perula	fresca	no
	CAPELLI	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
con sangue	CUTE	no	/	no	/	no	/	no	/	1 perula	fresca	no
	CAPELLI	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
no fluidi/ spostamento	CUTE	1 framm	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
	CAPELLI	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
no fluidi/ spostamento	CUTE	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
	CAPELLI	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no

T10 serie 2 in laboratorio

tempo 10 (5-12-21)												
CAMPIONE		BOTANICA										ELEMENTI BOTANICI ND
		FOGLIE		FIORI		FRUTTI		FUSTI		GEMME		
		n° e specie	SDC	n° e specie	SDC	n° e specie	SDC	n° e specie	SDC	n° e specie	SDC	
no fluidi/no spostamento	CUTE	3 framm	secco	no	/	no	/	no	/	1 perula	/	no
	CAPELLI	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
no fluidi/no spostamento	CUTE	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
	CAPELLI	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
con sperma	CUTE	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
	CAPELLI	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
con sperma	CUTE	no	/	no	/	no	/	no	/	1 perula	/	no
	CAPELLI	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
con sangue	CUTE	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
	CAPELLI	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
con sangue	CUTE	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
	CAPELLI	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
no fluidi/ spostamento	CUTE	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
	CAPELLI	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
no fluidi/ spostamento	CUTE	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no
	CAPELLI	no	/	no	/	no	/	no	/	no	/	no

Appendice 3.2.2 A1 Parametri considerati per la descrizione del residuo

Quantità

La prima valutazione effettuata è quella quantitativa/semiquantitativa.

È un dato fondamentale, dal momento che fornisce indicazioni riguardo alla variazione della quantità di campione in funzione del tempo trascorso dal termine del test.

Per i substrati VERNICE, MURO, FIBRE (COTONE + CASHMERE) e BOTANICO si utilizza un criterio quantitativo: si conta il numero di elementi del substrato osservati.

Per il SUOLO il metodo quantitativo non è applicabile a causa del numero molto elevato di elementi: si utilizza un approccio semiquantitativo derivato dalla Pedologia, branca delle scienze della terra che riguarda principalmente la composizione, la classificazione e cartografia del suolo 20.

Prevede l'utilizzo delle tavole sinottiche per la stima percentuale di copertura (Figura A3.2.1) (Costantini, 2007).

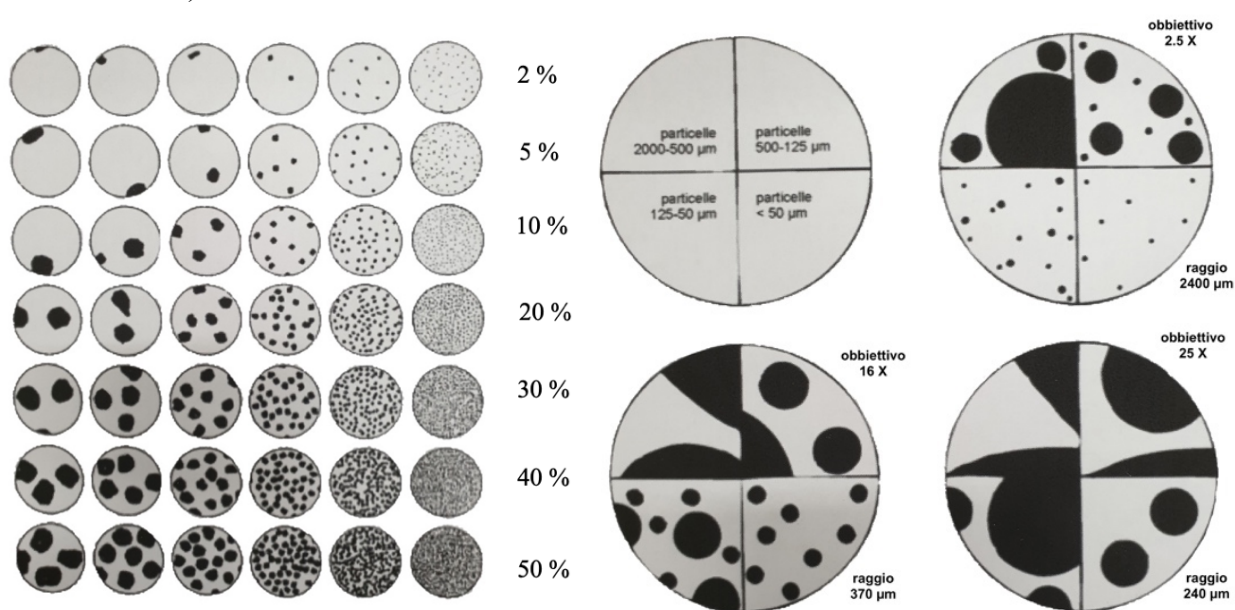


Figura A3.2.1 Tavola sinottica per la stima della copertura, a sinistra. Particelle di diverse dimensioni (μm) a diversi ingrandimenti (2.5X, 16X, 25X), a destra.

Esse rendono graficamente l'aspetto che assumono nel campo di osservazione del microscopio particelle di dimensioni differenti a differenti ingrandimenti. Vengono fornite anche rappresentazioni di differenti percentuali di copertura per ciascuna delle sei classi di grandezza particellari considerate. In questo modo è possibile una stima della copertura percentuale "a colpo d'occhio": per la valutazione al microscopio episcopico si utilizza la tavola della figura A3.2.1 a destra. Il campo di osservazione coincide con i riferimenti metrici forniti dagli oculari del microscopio stesso, analogo riferimento esiste per l'osservazione in microscopia episcopica.

Colore

Dato importante, fornisce indicazioni sulle modificazioni cromatiche del campione in funzione del tempo trascorso dal termine dell'esperimento. Il colore è un fenomeno soggettivo, poiché rappresenta l'espressione in categorie (rosso, giallo, blu etc.) di una componente del sistema sensitivo deputato alla visione. Questa componente coincide con gli input generati dai coni umani (dai bastoncelli in

condizioni di scarsa luminosità) in risposta alla stimolazione da parte delle radiazioni elettromagnetiche comprese nello spettro del visibile riflesse da ogni oggetto, definite in base alla lunghezza d'onda.

Ogni fenomeno biologico umano è caratterizzato da variabilità: intraindividuale e interindividuale, o di popolazione. La prima rappresenta la fluttuazione randomica di un set-point biologico all'interno di un soggetto, la seconda riflette i differenti valori a cui set-point di individui differenti sono situati. Essendo un fenomeno biologico, per di più soggettivo, s'è resa manifesta la necessità di adottare dei modelli di colore riproducibili: il sistema Munsell ed il sistema RGB.

Il primo fu elaborato dal professore Albert H. Munsell nel primo lustro del '900, e nel 1930 fu adottato dal Ministero dell'Agricoltura statunitense (USDA) quale sistema di colori ufficiale per le ricerche geo-pedologiche (Nickerson, 1976).

Nel sistema Munsell il colore è analizzato secondo tre elementi: hue (tinta), value (valore) e chroma (cromaticità). La hue si riferisce allo spettro "base" dei colori. I colori del campo del visibile sono divisi in dieci livelli ciascuno dei quali viene indicato da una o due lettere maiuscole, per esempio R per il rosso, YR per il giallo-rosso e Y per il giallo. Ogni livello è a sua volta diviso in dieci intervalli, per esempio 1YR, 2YR, 3YR fino a 10YR, e la tinta diviene sempre più gialla e meno rossa a mano a mano che i numeri crescono.

Il value descrive l'opacità o la brillantezza del colore in una scala da 0 a 10, con il risultato che si ottiene aggiungendo al colore il nero (basso valore) o il bianco (alto valore).

Il chroma indica le intensità del colore, anch'esso in una scala da 0 a 10. Si consideri 10 come la colorazione al massimo della brillantezza la quale si riduce a mano a mano che si aggiunge acqua fornendo così una cromaticità tipica da "colori annacquati" 20.

L'esaminatore dispone delle tavole Munsell, analogiche o digitalizzate, che si presentano così (Figura A3.2.2):

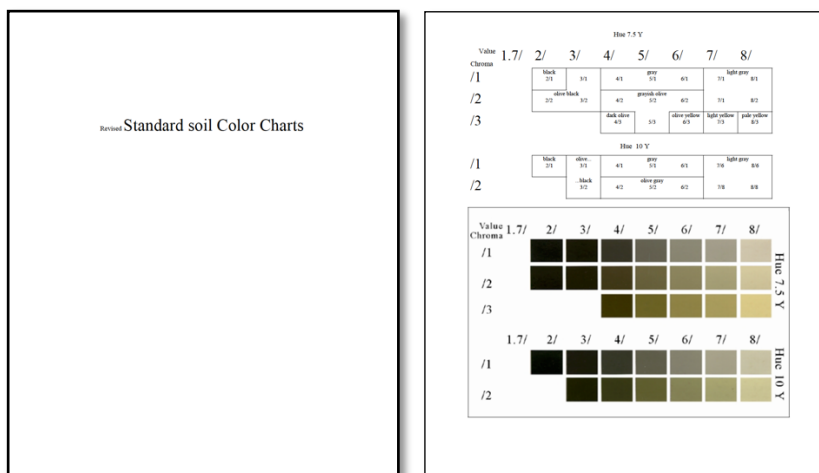


Figura A3.2.2 Pagina di esempio delle Tavole di Munsell

Ottenuta la fotografia dell'elemento di interesse, ne individua lo "spettro base" e la confronta con i "value" e "chroma" disponibili per la data "hue" finché non individua una corrispondenza cromatica soddisfacente: è una valutazione "ad occhio nudo".

Morfologia

Dato intuitivamente fondamentale: descrive la forma dell'elemento di interesse.

L'esaminatore ricerca ed adotta per ciascun substrato classificazioni morfologiche validate ed internazionalmente accettate.

Per i substrati SUOLO, VERNICE e MURO è impiegata la classificazione delle forme dello scheletro geologico derivata dalle linee guida dei metodi di rilevamento ed informatizzazione dei dati pedologici diramate dal Ministero delle politiche Agricole, Alimentari, Forestali e del Turismo (MiPAAFT) (Costantini, 2007). Si è integrata per maggior completezza anche quella proposta da Kellog et al. negli anni '50 - '60 (Mc Rae, 1991) (Figura A3.2.3):

Tabella 4.51 Classi della forma dello scheletro.

Codice	Definizione	Descrizione
1	Arrotondata	La superficie dello scheletro è regolare e le linee di raccordo non presentano spigoli vivi.
2	Sub arrotondata	La superficie presenta lievi irregolarità (profondità delle cavità sempre inferiore ad un terzo della loro dimensione minore) ma le linee di raccordo non presentano spigoli vivi.
3	Angolare	La superficie delle facce è regolare o lievemente irregolare e le linee di raccordo presentano spigoli vivi.
4	Irregolare	La superficie è irregolare e le linee di raccordo presentano spigoli vivi e/o arrotondati.
5	Piatta	Lo scheletro presenta una dimensione inferiore alla metà delle altre.

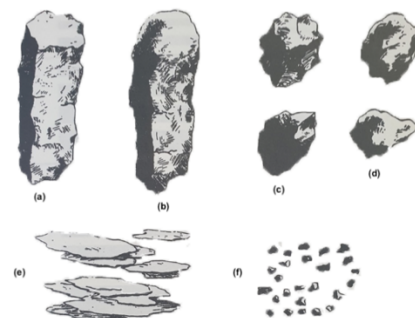


Figura A3.2.3 A sinistra, classificazione delle morfologie dello scheletro geologico come da linee guida intorno al rilevamento ed informatizzazione dei dati pedologici, diramate dal Ministero per le politiche Agricole, Alimentari, Forestali e del Turismo (MiPAAFT). A destra Tipi di struttura del suolo: (a) prismatica; (b) colonnare; (c) poliedrica angolare; (d) poliedrica subangolare; (e) lamellare; (f) granulare

Si è scelto di adottare tali classificazioni per la valutazione dei campioni di muro e di vernice poiché comprendono la maggior parte delle morfologie osservate in questi substrati e, limitatamente al muro, ben descrivono i frammenti minerali inclusi.

Per il substrato FIBRE non esiste una classificazione morfologica che soddisfi i requisiti sopra esposti, perciò sono state utilizzate le indicazioni del (Robertson et al., 1999), testo conosciuto e consultato internazionalmente. Esse individuano quattro morfologie di fibra:

- cilindrica
- a nastro
- ondulata
- elicoidale

Nell'elaborato sono presenti tabelle che utilizzano abbreviazioni di tali termini:

- "C" = cilindrica
- "N" = a nastro
- "O" = ondulata
- "E" = elicoidale

Per il substrato BOTANICO, non essendo mai stato proposto un criterio morfologico per denominare i frammenti di foglia, ramo, fusto e radici, si è attinto ai sistemi classificativi sopra esposti.

Dimensioni

Parametro metrico fondamentale.

Per tale valutazione sono stati utilizzati i software associati alla fotocamera di microscopio episcopico, ed ottico.

Per i substrati VERNICE, MURO e BOTANICO è stata rilevata la lunghezza in micrometri dell'asse maggiore di ogni frammento. I dati riguardanti i primi due elementi sono stati organizzati in *range* di ampiezza 100 micrometri:

- 0.1 – 100
- 100 – 200
- 200 – 300
- 300 – 400
- 400 – 500
- > 500

I *range* vengono identificati nell'elaborato tramite un numero ordinale crescente coll'aumentare delle dimensioni: 0.1 – 100 è il 1°, 100 – 200 è il 2°... etc.

I dati metrici riguardanti VERNICE e MURO sono stati interpretati valutando la variabilità dei *range*, e non quella dei valori puntuali.

Per il substrato FIBRE è stato rilevato il Ø in micrometri di ognuna.

Il valore puntuale di ogni Ø è stato organizzato in classi:

- 0.1 – 10 µm
- 10 – 20 µm
- > 20 µm

La prima è stata codificata con “+”, la seconda con “++” e la terza con “+++”. Il valore d'ogni diametro appare dunque nell'elaborato come il numero di “+” previsti dalla propria classe d'appartenenza.

Per il substrato SUOLO, a causa del numero elevatissimo di elementi, spesso in forma aggregata e dunque non valutabili singolarmente, non è stato possibile rilevare la lunghezza in micrometri dell'asse maggiore dei frammenti.

Inclusioni

Si considera “inclusione” qualunque elemento non direttamente riconducibile al substrato in esame poiché non osservato in prima istanza nel campione di controllo.

Qualora l'inclusione appartenga ad una delle classi di elementi considerate (vernice, fibre, muro, suolo, elementi botanici) ne verranno rilevati i parametri classe-corrispondenti, come da tabella sopra.

Materiale organico

La sezione MATERIALE ORGANICO è dedicata al substrato SUOLO. Se ne valuta unicamente la presenza/assenza, ed è stata creata in linea con le raccomandazioni del (McRae, 1991), che la delineano caratteristica pedologica di basilare e necessaria rilevazione: il materiale organico è infatti parte integrante e costitutiva del suolo.

Stato di aggregazione

Parametro che riguarda i substrati SUOLO e MURO.

Esprime la tendenza delle singole particelle di sabbia, argilla e limo (suolo) e d'intonaco, di residui minerali, di frammenti di vernice (muro) di rimanere isolate o di attaccarsi ed aggregarsi in composti di dimensioni maggiori.

Per la valutazione del suolo sono calcolate le % delle sue due componenti: aggregata e non aggregata. La predominanza dell'una o dell'altra ne definisce la struttura. Questo parametro varia in questo substrato la mancanza di rilevazione del parametro "dimensioni in micrometri dell'asse maggiore" > gli aggregati hanno intuitivamente dimensioni superiori a quelle delle singole particelle di cui constano: l'analisi della variazione della proporzione relativa % tra la componente aggregata e quella non aggregata fornisce indirettamente dati dimensionali, od almeno una loro tendenza.

Per la valutazione del muro viene indicata unicamente la presenza o assenza di aggregazione. Questo parametro viene arricchito da avverbi che contribuiscono a meglio specificare situazioni borderline (p.e. muro debolmente aggregato).

Aspetto superficiale (solo fibre)

Parametro morfologico di immediata valutazione.

Descrive l'aspetto della superficie della fibra:

- omogeneo > morfologia cilindrica, ondulata o elicoidale + assenza di danni
- irregolare > morfologia a nastro/presenza di danni

Nell'elaborato sono presenti tabelle che utilizzano abbreviazioni di tali termini:

- "O" = omogeneo
- "I" = irregolare

Composizione (solo fibre)

Fibra: indica che l'elemento si presenta in forma "elementare": è l'unità tessile più semplice

Filamento: indica che l'elemento si presenta in una struttura organizzata: elemento tessile costituito da diverse fibre

Armatura: indica che l'elemento si presenta nella struttura tessile più complessa, il punto: le differenze tra i punti sono determinate dalle modalità d'intreccio dei filamenti

Origine fibra (solo fibre)

Indica da quale regno proviene il materiale impiegato per la fibra: animale, vegetale, inorganico, sintetico.

La differenza tra inorganico e sintetico risiede nel fatto che nel primo caso il materiale è derivato da entità inanimate presenti in natura (minerali), nel secondo esso è creato ex novo dall'essere umano da elementi inesistenti in natura (plastiche).

Nell'elaborato sono presenti tabelle che utilizzano abbreviazioni di tali termini:

- "A" = animale
- "V" = vegetale
- "I" = inorganico
- "S" = sintetico

Materiale fibra (solo fibre)

Indica da quale tipo di fibra o filamento è costituito il campione.

Vengono considerati i materiali in esame, cotone e lana, con l'aggiunta della categoria "altro" che racchiude tutti gli elementi di cui non è possibile stabilire la natura specifica.

Danni (solo fibre)

Registra la presenza/assenza di danni agli apici od al corpo della fibra. Se una fibra appare sotto forma di frammento ha subito un danno che ne ha causato la rottura.

Aspetto fibra di cotone (solo fibre)

Descrive l'aspetto morfologico dei twist della fibra di cotone: se ben formati e contigui la fibra è matura, viceversa se debolmente evidenti e distati essa è immatura (Rollins e Tripp, 1954) (Figura A3.2.4).

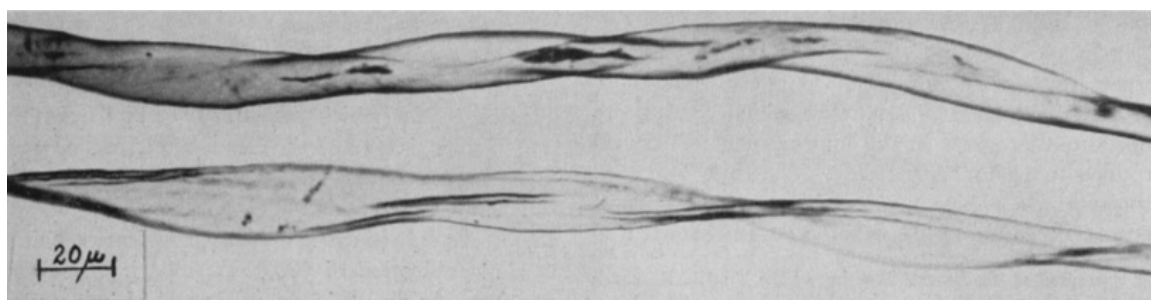


Figura A3.2.4 Aspetto della fibra di cotone in microscopia ottica: in alto esempio di fibra matura, in basso fibra immatura

Pleocroismo

Parametro che riguarda i substrati FIBRE, SUOLO e MURO.

Descrive la presenza/assenza di questo fenomeno fisico che scaturisce dalle proprietà ottiche di alcuni materiali (p.e. fibre e/o minerali). È osservabile tramite filtro polarizzante.

Il pleocroismo è l'emissione di un colore (o più) non osservabile con la normale luce trasmessa: quando il fascio di luce colpisce un materiale pleocroico, a differenti angoli di incidenza corrispondono differenti tonalità. I materiali che lo manifestano sono detti ANISOTROPICI. Quelli che per contro non lo manifestano sono detti ISOTROPICI. Non disponendo di un microscopio metallografico, che permette la rotazione del complesso portavetrino-vevtrino e dunque un'ottimale valutazione di questo fenomeno a differenti angoli di incidenza, in questo elaborato ci si è limitati a descriverlo utilizzando l'unico angolo disponibile in statismo: 90 gradi.

Difetti di superficie

Parametro che riguarda le vernici.

I difetti di superficie sono alterazioni morfologiche del film della vernice, causati dalle peculiari caratteristiche chimico-fisiche della formulazione e/o a difetti di produzione o posa (Busolo, 2016).

Quelli analizzati sono riportati nella tabella sottostante:

PINHOLE dovuto ad un gradiente di tensione superficiale

FLOTTAZIONE dovuta al gradiente di concentrazione e composizione dei pigmenti

CRATERIZZAZIONE dovuta alla presenza di bolle d'aria

CRACKING fissurazioni dovute a diversi meccanismi

FLOCCULAZIONE dovuta ad una stabilizzazione dei pigmenti non corretta

CELLE DI BENÁRD causate da moti convettivi interni dei pigmenti

I parametri dal 16 al 21 compresi riguardano esclusivamente il substrato BOTANICO.

Lato della foglia

Parametro che chiaramente riguarda il substrato BOTANICO. Indica se il frammento appartiene al lato adassiale o abassiale della foglia: questa differenza scaturisce dalla posizione che la bozza fogliare assume rispetto alla gemma. Nei primi stadi di sviluppo la porzione adassiale è volta verso l'asse della gemma, mentre quella abassiale se ne discosta, proiettandosi lateralmente.

- Lato adassiale: lato superiore della foglia
- Lato abassiale: lato inferiore della foglia

Vene

Indica la presenza o assenza dei vasi fogliari, strutture facenti parte dello xilema, responsabile del trasporto di acqua e sali minerali di provenienza radicolare.

Cuticola

Indica la presenza o assenza di questa struttura specializzata.

Sintetizzata dall'epidermide e presente sulla superficie esterna delle foglie, è costituita da polimeri lipidici e cere. La sua funzione principale è la protezione dall'evaporazione dell'acqua contenuta nella foglia, ma grazie alle proprietà del suo film provvede anche a difendere la pianta dalla penetrazione di microorganismi, acqua e soluti provenienti dall'ambiente esterno.

Stomi

Indica la presenza o assenza di queste strutture specializzate.

Si tratta di un complesso costituito da un poro e da due "guard cells" che ne regolano il grado di apertura. La sua funzione è permettere gli scambi gassosi tra la foglia e l'ambiente esterno, che rendono possibile la respirazione e la fotosintesi. L'ossigeno e l'anidride carbonica atmosferici accedono alla foglia, l'O₂ prodotto intermedio della fotosintesi se ne allontana. Anche il vapore acqueo formatosi dalla traspirazione diffonde nell'atmosfera grazie a queste strutture.

Epidermide

Indica la presenza o assenza di questo tessuto.

È il tessuto tegumentario delle porzioni non legnose delle piante (foglia, fiore, radici, fusto). Costituita da un singolo strato di cellule, svolge funzioni simili alla controparte umana: regola la perdita d'acqua per evaporazione sintetizzando la cuticola, regola gli scambi gassosi con l'ambiente esterno tramite gli stomi, secerne composti organici coinvolti in numerose vie metaboliche e nelle radici assorbe acqua e nutrienti.

Parenchima

Tessuto che adempie alle funzioni vitali di un organo e che costituisce la maggior parte della massa delle strutture vegetali.

Il parenchima "a palizzata" è il tessuto maggiormente specializzato nella fotosintesi, costituito da cellule cilindriche ricche di cloroplasti. Queste cellule sono parallele tra loro e perpendicolari rispetto all'epidermide, disposte in uno o più strati. Nelle foglie esposte a luce solare intensa il numero di strati è maggiore (e la foglia più spessa) che in quelle che ricevono meno luce.

Il parenchima *spongy*, o spugnoso, è costituito da cellule di morfologia irregolare dotate di cloroplasti, seppur in numero di molto inferiore rispetto al parenchima “a palizzata”. È tessuto clorofilliano, ma la sua funzione principale è facilitare la diffusione di CO₂ dalle camere sottostomatiche al tessuto “a palizzata”, metabolicamente molto più attivo. Ciò è reso possibile dagli ampi spazi intercellulari presenti tra le cellule dello *spongy*.

Il mesofillo è l'insieme dei tessuti compresi tra l'epidermide della faccia superiore e quella della faccia inferiore: è costituito da cellule con funzione fotosintetica, e perciò è detto “parenchima clorofilliano”

Appendice 3.2.2 A2 Risultati integrali dell'analisi del residuo iponichiale

Tessuto in cotone

Risultati dell'analisi in microscopia episcopica

T0

Fibra	Munsell	Aspetto	Morfologia	Origine	Ø (µm)
1	N 3/0	I	N	V	20.43 (+++)
2	N 3/0	I	N	V	19.00 (++)
3	10 G 7/1	O	C	S	7.51(+)
4	Trasp.	I	N	V	23.75 (+++)
5	5 P 4/1	O	C	/	10.08 (++)
6	10 G 7/1	O	C	S	7.51(+)
7	5 P 2/1	O	C	/	20.15 (+++)
8	N 3/0	I	/	/	16.79 (++)

T1

Fibra	Munsell	Aspetto	Morfologia	Origine	Ø (µm)
1	Trasp.	I	N	/	13.85 (++)
2	10 BG 4/1	O	C	S	15.02 (++)
3	N 3/0	I	N	V	16.79 (++)
4	10 BG 4/1	O	C	S	21.24 (+++)

T2

Fibra	Munsell	Aspetto	Morfologia	Origine	Ø (µm)
1	N 3/0	O	C	V	16.79 (++)
2	N 3/0	I	/	V	27.08 (+++)
3	10 BG 3/1	O	C	S	13.44 (++)
4	N 3/0	I	N	V	13.85 (++)
5	Trasp.	I	N	V	18.09 (++)
6	N 3/0	I	N	V	16.79 (++)
7	10 BG 4/1	I	C	S	10.62 (++)
8	N 1.7/0	O	C	A	18.69 (++)

T3

Fibra	Munsell	Aspetto	Morfologia	Origine	Ø (µm)
1	Trasp.	I	/	S	36.18 (+++)
2	2.5 YR 6/6	I	/	/	18.09 (++)
3	5 P 2/1	I	C	/	19.59 (++)

T4

Fibra	Munsell	Aspetto	Morfologia	Origine	Ø (µm)
1	5 P 3/1	I	N	/	16.79 (++)
2	5 RP 4/1	O	C	S	7.51 (+)
3	5 P 3/1	I	C	/	16.79 (++)
4	5 P 3/1	I	/	/	16.79 (++)
5	5 P 3/1	I	/	/	19.00 (++)

Risultati dell'analisi in microscopia ottica

T0

Fibra	Aspetto	Morfologia	Origine	Ø (µm)	Danno
1	I	On.	V	3.16 (+)	+
2	I	N	V	12.17 (++)	-
3	I	N	V	13.52 (++)	+
4	I	C	V	8.06 (+)	+
5	I	N	V	3.66 (+)	+
6	O	C	A	5.26 (+)	-
7	I	N	V	8.33 (+)	+
8	I	N	V	5.12 (+)	+
9	I	/	V	9.71 (+)	+
10	I	C	/	5.83 (+)	+
11	I	N	V	7.44 (+)	+
12	I	N	V	11.48 (++)	-
13	I	N	V	22.80 (+++)	+
14	I	/	/	10.20 (++)	+
15	O	C	/	22.18 (++)	-
16	O	C	/	14.33 (++)	-

T1

Fibra	Aspetto	Morfologia	Origine	Ø (µm)	Danno
1	I	N	V	10.52 (++)	+
2	I	/	/	5.62 (+)	+
3	I	N	V	6.29 (+)	+
4	I	On.	/	5.68 (+)	+
5	I	C	/	8.58 (+)	+

T2

Fibra	Aspetto	Morfologia	Origine	Ø (µm)	Danno
1	I	/	/	12.91 (++)	-
2	I	N	V	11.50 (++)	+
3	I	N	V	5.27 (+)	+
4	I	On.	/	6.33 (+)	-
5	I	/	/	13.10 (++)	+
6	I	N	V	9.30 (+)	-
7	O	C	V	4.89 (+)	+
8	O	C	V	10.07 (++)	+
9	O	C	V	12.13 (++)	-

T3

Fibra	Aspetto	Morfologia	Origine	Ø (µm)	Danno
1	I	N	V	12.70 (++)	+
2	I	C	V	6.59 (+)	+
3	I	On.	V	4.94 (+)	+
4	I	N	V	8.03 (+)	+
5	I	N	V	6.40 (+)	+
6	I	C	/	4.38 (+)	+
7	I	N	V	9.22 (+)	+
8	I	C	/	10.68 (++)	+

9	O	On.	/	7.68 (+)	+
---	---	-----	---	----------	---

T4

Fibra	Aspetto	Morfologia	Origine	Ø (µm)	Danno
1	I	/	/	8.09 (+)	+
2	I	C	/	3.73 (+)	+
3	I	N	V	7.46 (+)	+
4	I	N	V	8.50 (+)	+
5	I	N	V	9.44 (+)	-
6	I	N	V	5.43 (+)	+
7	I	/	V	8.95 (+)	+
8	I	N	/	6.49 (+)	+
9	I	N	V	11.46 (++)	-
10	I	N	V	7.69 (+)	-
11	I	N	V	7.08 (+)	+

Tessuto in lana

Risultati dell'analisi in microscopia episcopica

T0

Fibra	Munsell	Aspetto	Morfologia	Origine	Ø (µm)
1	5 BP 6/1	I	C	A	16.79 (++)
2	5 BP 7/1	I	C	A	30.04 (+++)
3	5 P 4/1	I	N	V	24.22 (+++)
4	5 B 4/1	I	/	S	12.11 (++)
5	5 P 6/1	I	/	/	13.44 (++)
6	N 3/0	O	C	A	12.11 (++)
7	5 B 6/1	I	N	/	19.00 (++)
8	N 3/0	O	C	A	19.59 (++)
9	N 3/0	I	C	A	16.79 (++)
10	5 B 6/1	I	N	S	19.59 (++)
11	5 BP 7/1	I	N	/	26.87 (+++)
12	5 P 4/1	I	C	A	20.43 (+++)
13	Trasp.	O	C	A	10.62 (++)
14	N 3/0	O	C	A	19.59 (++)
15	N 3/0	I	C	A	18.09 (++)
16	Trasp.	O	C	/	18.69 (++)

T1

Fibra	Munsell	Aspetto	Morfologia	Origine	Ø (µm)
1	Trasp.	I	N	/	22.53 (+++)
2	Trasp.	O	C	A	17.13 (++)
3	5 B 4/1	O	C	S	31.69 (+++)
4	5 BP 3/1	I	N	V	10.08 (++)
5	5 P 3/1	O	C	A	18.09 (++)
6	5 P 3/1	O	C	A	19.59 (++)
7	5 P 3/1	I	C	A	6.72 (+)
8	5 P 3/1	I	/	/	24.45 (+++)
9	7.5 R 4/6	O	C	S	7.51 (+)
10	N 3/0	O	C	A	9.77 (+)
11	Trasp.	O	C	A	33.43 (+++)

T2

Fibra	Munsell	Aspetto	Morfologia	Origine	Ø (µm)
1	5 BP 5/1	O	C	A	13.85 (++)
2	5 B 3/1	I	N	V	18.69 (++)
3	5 P 1.7/1	I	C	A	21.24 (+++)
4	5 P 1.7/1	O	C	A	14.25 (++)
5	5 B 6/1	O	C	/	14.25 (++)

T3

Fibra	Munsell	Aspetto	Morfologia	Origine	Ø (µm)
1	5 BP 4/1	I	/	/	18.09 (++)
2	10 R 5/6	O	C	S	19.00 (++)
3	10 BG 4/1	I	N	S	30.23 (+++)
4	5 BP 4/1	O	C	S	20.15 (+++)
5	Trasp.	O	C	A	13.98 (++)
6	10 BG 4/1	I	/	S	18.06 (++)
7	10 BG 4/1	I	On.	S	24.23 (+++)
8	10 BG 4/1	I	N	S	18.06 (++)
9	10 BG 4/1	O	/	S	16.15 (++)
10	5 B 3/1	I	N	S	18.06 (++)
11	10 R 5/6	I	C	S	11.42 (++)
12	5 G 6/1	O	C	S	18.06 (++)
13	5 P 4/1	O	C	A	18.06 (++)
14	10 R 5/6	O	C	S	18.06 (++)
15	5 P 3/1	O	C	A	11.42 (++)
16	5 B 6/1	I	N	/	11.42 (++)
17	10 R 5/6	O	C	S	8.08 (+)

T4

Fibra	Munsell	Aspetto	Morfologia	Origine	Ø (µm)
1	Trasp.	O	On.	/	29.21 (+++)
2	5 BP 4/1	I	C	/	20.53 (+++)
3	5 P 3/1	O	C	S	20.53 (+++)

Risultati dell'analisi in microscopia ottica

T0

Fibra	Aspetto	Morfologia	Origine	Ø (µm)	Danno	Pleocroismo
1	I	C	V	9.22 (+)	-	-
2	I	N	V	15.92 (++)	-	-
3	I	C	A	5.83 (+)	+	-
4	I	On.	V	9.34 (+)	-	-
5	I	N	V	8.50 (+)	-	-
6	I	N	V	14.44 (++)	-	-
7	I	On.	V	6.32 (+)	+	-
8	I	C	/	16.99 (++)	+	-
9	I	C	/	6.67 (+)	-	-
10	O	C	V	8.87 (+)	-	-
11	O	C	A	9.69 (+)	-	+

12	O	C	A	9.69 (+)	-	+
13	O	C	A	8.12 (+)	-	+
14	I	C	A	9.69 (+)	+	+

T1

Fibra	Aspetto	Morfologia	Origine	Ø (µm)	Danno	Pleocroismo
1	I	On.	V	8.58 (+)	+	-
2	I	C	A	6.52 (+)	-	+
3	O	C	A	3.16 (+)	-	+
4	I	On.	V	6.47 (+)	+	-
5	O	C	/	9.05 (+)	+	-
6	I	N	V	6.07 (+)	+	-
7	I	N	V	11.59 (++)	-	-
8	I	N	V	7.98 (+)	-	-
9	/	C	S	7.85 (+)	-	-
10	O	C	A	9.23 (+)	-	+
11	I	C	/	9.31 (+)	+	-
12	I	N	V	15.63 (++)	-	-
13	I	C	A	9.85 (+)	+	-

T2

Fibra	Aspetto	Morfologia	Origine	Ø (µm)	Danno	Pleocroismo
1	I	N	V	8.42 (+)	-	-
2	I	C	A	10.89 (++)	+	+
3	I	N	V	9.95 (+)	-	-
4	O	C	/	9.78 (+)	+	-
5	I	C	V	7.06 (+)	+	-
6	I	N	V	9.34 (+)	+	-
7	I	N	V	15.01 (++)	-	-
8	I	N	V	9.09 (+)	-	-
9	I	C	V	11.26 (++)	+	-
10	I	N	V	11.48 (++)	+	-
11	I	N	V	11.15 (++)	-	-

T3

Fibra	Aspetto	Morfologia	Origine	Ø (µm)	Danno	Pleocroismo
1	O	C	A	7.44 (+)	-	+
2	O	C	V	11.44 (++)	+	-
3	O	C	A	8.50 (+)	+	+
4	I	N	V	11.57 (++)	-	-
5	I	C	V	7.78 (+)	+	-
6	I	N	/	17.41 (++)	+	-
7	I	N	V	10.23 (++)	+	-
8	O	C	V	12.03 (++)	-	-
9	I	N	V	10.93 (++)	-	-
10	O	C	A	30.58 (+++)	+	+
11	O	C	A	14.68 (++)	+	+

T4

Fibra	Aspetto	Morfologia	Origine	Ø (µm)	Danno	Pleocroismo
1	I	C	S	14.37 (++)	+	+
2	I	N	V	14.11 (++)	+	-
3	I	C	V	4.47 (+)	-	-
4	O	C	V	15.48 (++)	+	-
5	O	C	A	4.52 (+)	-	-
6	I	N	V	8.45 (+)	-	-
7	O	C	A	8.34 (+)	-	+
8	I	/	/	15.92 (++)	+	-

Suolo

Risultati dell'analisi in microscopia episcopica

T0

Munsell	Stato di aggregazione	Copertura %	Morfologia
25 YR 5/3	80-90 % Aggregato 10-20 % Non aggregato	55 %	Poliedrica subangolare prevalente, presente negli aggregati Granulare ben rappresentata, prevalente nel particolato non aggregato

T1

Munsell	Stato di aggregazione	Copertura %	Morfologia
25 YR 5/3	< 5 % Aggregato > 95 % Non aggregato	20 %	Poliedrica subangolare e Granulare egualmente rappresentate Lamellare negli aggregati in forma di elementi isolati

T2

Munsell	Stato di aggregazione	Copertura %	Morfologia
5 Y 4/2	40 % Aggregato 60 % Non aggregato	50 %	Poliedrica Subangolare per gli aggregati Granulare per il particolato non aggregato Lamellare negli aggregati in forma di elementi isolati

T3

Munsell	Stato di aggregazione	Copertura %	Morfologia
25 YR 5/3	< 5 % Aggregato > 95 % Non aggregato	30 %	Granulare prevalente, presente nel particolato non aggregato Poliedrica Subangolare, presente negli aggregati

T4

Munsell	Stato di aggregazione	Copertura %	Morfologia
25 YR 5/4	< 1 % Aggregato > 99 % Non aggregato	5 %	Granulare prevalente, presente nel particolato non aggregato Poliedrica subangolare per gli elementi di maggiori dimensioni, aggregati

			Lamellare negli aggregati in forma di elementi isolati
--	--	--	--

Risultati dell'analisi in microscopia ottica

T0

Stato di aggregazione	Copertura %	Morfologia
80-90 % Aggregato 10-20 % Non aggregato	50 %	Poliedrica subangolare prevalente, presente negli aggregati Granulare ben rappresentata, prevalente nel particolato non aggregato

T1

Stato di aggregazione	Copertura %	Morfologia
< 5 % Aggregato > 95 % Non aggregato	10-20 %	Granulare prevalente, particolato non aggregato Poliedrica subangolare prevalente negli aggregati Poliedrica angolare negli aggregati in forma di elementi isolati

T2

Stato di aggregazione	Copertura %	Morfologia
40 % Aggregato 60 % Non aggregato	50 %	Granulare prevalente nel particolato non aggregato Poliedrica subangolare prevalente negli aggregati Poliedrica angolare negli aggregati in forma di elementi isolati

T3

Stato di aggregazione	Copertura %	Morfologia
< 5 % Aggregato > 95 % Non aggregato	30 %	Granulare prevalente Poliedrica subangolare presente negli aggregati Lamellare negli aggregati in forma di elementi isolati

T4

Stato di aggregazione	Copertura %	Morfologia
< 1 % Aggregato > 99 % Non aggregato	5 %	Granulare prevalente, presente nel particolato non aggregato Poliedrica subangolare presente negli aggregati

Tavoletta in legno verniciata

Risultati dell'analisi in microscopia episcopica

T0

Munsell	Dimensione asse maggiore (µm)	Morfologia
5 GY 8/1	Range 0.1 - 100 micron: 0 Range 100 - 200 micron: 0	Poliedrica subangolare

	Range 200 - 300 micron: 1 (251.74) Range 300 - 400 micron: 3 (311.67; 320.62; 353.59) 400 - 500 micron: 1 (409.13) Range > 500: 1 (563.55)	Range
--	--	-------

T1

Munsell	Dimensione asse maggiore (μm)	Morfologia
2.5 GY 8/1	Range 100 – 200: 1 (192.28) Range 200 – 300: 2 (223.84, 250.08) Range 300 – 400: 1 (312.38) Range 400 – 500: 3 (430.83, 449.30, 453.46) Range > 500: 9 (520.58, 526.40, 560.33, 567.34, 622.63, 630.41, 742.53, 877.33, 1144.43)	Poliedrica subangolare prevalente Lamellare in forma di qualche elemento isolato

T2

Munsell	Dimensione asse maggiore (μm)	Morfologia
10 Y 7/2	Range 200 – 300: 2 (245.02, 253.10) Range 300 – 400: 3 (341.41, 372.54, 399.59) Range > 500: 5 (507.45, 515.56, 521.03, 970.71, 1128.76)	Poliedrica subangolare prevalente Lamellare in forma di qualche elemento isolato

T3

Munsell	Dimensione asse maggiore (μm)	Morfologia
N 8/0	Range 0.1 – 100: 1 (61.93) Range 100 – 200: 2 (175.56, 186.32) Range 200 – 300: 2 (237.15, 247.97) Range 300 – 400: 2 (314.12, 333.36) Range > 500: 3 (506.79, 630.70, 731.67)	Poliedrica subangolare e Lamellare rappresentate quasi egualmente

T4

Munsell	Dimensione asse maggiore (μm)	Morfologia
2.5 GY 8/1	Range 0.1 – 100: 1 (64.17) Range 100 – 200: 2 (163.76, 68.92) Range 200 – 300: 4 (205.00, 210.43, 218.51, 221.92) Range 300 – 400: 1 (322.61) Range > 500: 2 (751.17, 1011.08)	Poliedrica subangolare Poliedrica angolare

Risultati dell'analisi in microscopia ottica

T0

Dimensione asse maggiore (μm)	Morfologia
Range 0.1 – 100: 1 (82.89) Range 100 – 200: 3 (191.40, 193.30, 199.43) Range 300 – 400: 1 (329.03)	Poliedrica subangolare

T1

Dimensione asse maggiore (μm)	Morfologia

Range 0.1 – 100: 6 (31.18, 33.88, 38.67, 68.80, 75.00, 88.46) Range 100 – 200: 2 (107.17, 162.59) Range 200 – 300: 2 (297.77, 299.09) Range 400 – 500: 2 (403.09, 461.88)	Poliedrica subangolare prevalente Lamellare in forma di qualche elemento isolato
--	---

T2

Dimensione asse maggiore (µm)	Morfologia
Range 100 – 200: 3 (105.14, 131.07, 189.49)	Poliedrica Angolare
Range 200 – 300: 3 (214.12, 220.56, 278.63)	Poliedrica subangolare
Range 300 – 400: 1 (336.56)	Lamellare
Range > 500: 2 (590.38, 690.76)	

T3

Dimensione asse maggiore (µm)	Morfologia
Range 0.1 – 100: 3 (50.07, 79.74, 84.06)	Poliedrica Angolare
Range 100 – 200: 3 (104.70, 146.38, 183.89)	Poliedrica subangolare
Range 200 – 300: 2 (216.76, 240.13)	Lamellare
Range 400 – 500: 1 (427.87)	
Range > 500: 1 (547.09)	

T4

Dimensione asse maggiore (µm)	Morfologia
Range 0.1 – 100: 3 (22.13, 93.31)	Poliedrica Angolare
Range 100 – 200: 8 (102.36, 104.21, 110.44, 110.88, 131.10, 149.68, 149.89, 173.57)	Poliedrica subangolare
Range 400 – 500: 1 (436.92)	
Range > 500: 1 (589.01)	

Muro in mattoni e calce

Risultati dell'analisi in microscopia episcopica

T0

Munsell	Dimensione asse maggiore (µm)	Morfologia	% di copertura	Stato di aggregazione
2.5 YR 4/6	Range 0.1 – 100: 20 Range 100 – 200: 14 Range > 500: 3	Granulare prevalente Poliedrica subangolare quale componente	10	Non aggregato

T1

Munsell	Dimensione asse maggiore (µm)	Morfologia	% di copertura	Stato di aggregazione
10 GY 8/1 10 YR 4/6 2.5 GY 4/1	Range 0.1 – 100: 33 Range 100 – 200: 12 Range 200 – 300: 1	Granulare prevalente Poliedrica subangolare Poliedrica angolare	5	Non aggregato

	Range 300 – 400: 1			
	Range 400 – 500: 1			

T2

Munsell	Dimensione asse maggiore (μm)	Morfologia	% di copertura	Stato di aggregazione
5 Y 4/2 5 YR 4/6	Range 0.1 – 100: 3 Range 100 – 200: 18 Range 200 – 300: 8 Range 300 – 400: 5 Range 400 – 500: 5 Range > 500: 6	Poliedrica Subangolare prevalente Granulare rappresentata	20	Debolmente aggregato

T3

Munsell	Dimensione asse maggiore (μm)	Morfologia	% di copertura	Stato di aggregazione
25 YR 4/2 2.5 YR 4/6 5 BP 7/1	Range 0.1 – 100: 18 Range 100 – 200: 17 Range 200 – 300: 7 Range > 500: 1	Granulare prevalente Poliedrica subangolare	5	Non aggregato

T4

Munsell	Dimensione asse maggiore (μm)	Morfologia	% di copertura	Stato di aggregazione
10 YR 5/4 7.5 Y 8/2	Range 0.1 – 100: 3 Range 100 – 200: 4 Range 200 – 300: 1 Range 300 – 400: 1 Range 400 – 500: 1 Range > 500: 1	Poliedrica subangolare prevalente Granulare in forma di qualche elemento isolato	1	Non aggregato

Risultati dell'analisi in microscopia ottica

T0

Dimensione asse maggiore (μm)	Morfologia	% di copertura	Stato di aggregazione
Range 0.1 – 100: 20 Range 100 – 200: 14 Range > 500: 3	Granulare prevalente Poliedrica subangolare quale componente	37.5	Non aggregato

T1

Dimensione asse maggiore (μm)	Morfologia	% di copertura	Stato di aggregazione

Range 0.1 – 100: 33 Range 100 – 200: 12 Range 200 – 300: 1 Range 300 – 400: 1 Range 400 – 500: 1	Granulare prevalente Poliedrica subangolare quale componente	50	Non aggregato
--	--	----	---------------

T2

Dimensione asse maggiore (μm)	Morfologia	% di copertura	Stato di aggregazione
Range 0.1 – 100: 3 Range 100 – 200: 18 Range 200 – 300: 8 Range 300 – 400: 5 Range 400 – 500: 5 Range > 500: 6	Poliedrica subangolare prevalente Granulare rappresentata Lamellare in forma di qualche elemento isolato U-shaped in forma di qualche elemento isolato	75	Non aggregato

T3

Dimensione asse maggiore (μm)	Morfologia	% di copertura	Stato di aggregazione
Range 0.1 – 100: 18 Range 100 – 200: 17 Range 200 – 300: 7 Range > 500: 1	Granulare	50	Non aggregato

T4

Dimensione asse maggiore (μm)	Morfologia	% di copertura	Stato di aggregazione
Range 0.1 – 100: 3 Range 100 – 200: 4 Range 200 – 300: 1 Range 300 – 400: 1 Range 400 – 500: 1 Range > 500: 1	Poliedrica subangolare Lamellare in forma di singolo elemento	12.5	Non aggregato

Pianta di edera

Risultati dell'analisi in microscopia episcopica

T0

Munsell
7.5 Y 4/2

T1

Munsell
7.5 Y 5/2

T2

Munsell
10 Y 4/2

T3

Munsell
7.5 Y 5/3

T4

Munsell
7.5 Y 6/3

Risultati dell'analisi in microscopia ottica

T0

Cuticola	Stomi	Epidermide	Parenchima	Vene
Assente	Assenti	Presente Morfologia cellulare: Quadrangolare, circa rettangolare Dimensioni cellulari (μm): 24.18 x 19.19	Assente	Assenti

T1

Cuticola	Stomi	Epidermide	Parenchima	Vene
Assente	Assenti	Presente Morfologia cellulare: 1 – Esagonale 2 – Esagonale, 3 – Quadrangolare/Esagonale Dimensioni cellulari (μm): 1 – 31.34 x 19.19 2 – 26.65 x 25.41 3 – 32.85 x 28.70	Assente	Assenti

T2

Cuticola	Stomi	Epidermide	Parenchima	Vene
Assente	Assenti	Assente	Assente	Assenti

T3

Cuticola	Stomi	Epidermide	Parenchima	Vene
Assente	Assenti	Assente	Assente	Assenti

T4

Cuticola	Stomi	Epidermide	Parenchima	Vene
Assente	Assenti	Presente Morfologia cellulare: Quadrangolare Dimensioni cellulari (μm): 1 – 31.34 x 19.19	Assente	Assenti