



## UvA-DARE (Digital Academic Repository)

### Non-contact spectroscopic age determination of bloodstains

Bremmer, R.H.

**Publication date**  
2011

[Link to publication](#)

#### **Citation for published version (APA):**

Bremmer, R. H. (2011). *Non-contact spectroscopic age determination of bloodstains*. [Thesis, fully internal, Universiteit van Amsterdam].

#### **General rights**

It is not permitted to download or to forward/distribute the text or part of it without the consent of the author(s) and/or copyright holder(s), other than for strictly personal, individual use, unless the work is under an open content license (like Creative Commons).

#### **Disclaimer/Complaints regulations**

If you believe that digital publication of certain material infringes any of your rights or (privacy) interests, please let the Library know, stating your reasons. In case of a legitimate complaint, the Library will make the material inaccessible and/or remove it from the website. Please Ask the Library: <https://uba.uva.nl/en/contact>, or a letter to: Library of the University of Amsterdam, Secretariat, P.O. Box 19185, 1000 GD Amsterdam, The Netherlands. You will be contacted as soon as possible.

## SAMENVATTING PROEFSCHRIFT

Dit proefschrift beschrijft het onderzoek naar de leeftijdsbepaling van bloedvlekken door middel van reflectiespectroscopie. Leeftijdsbepaling van bloedvlekken kan rechercheurs helpen bij forensisch onderzoek om zicht te krijgen op het tijdsverloop van een zaak. Reflectiespectroscopie, een contactloze kleurmeting, is een technologie die in het ziekenhuis al wordt toegepast voor het meten van zuurstofsaturatie in bloed, of het voor het detecteren van oppervlakkige tumoren. De mogelijkheid om deze techniek toe te passen voor forensisch onderzoek was eerder al verkend; tot nu toe echter zonder succes. Eerdere pogingen om met behulp van reflectiespectroscopie de leeftijd van bloedvlekken te meten, beperkten zich tot analyse van enkele golflengtes. Het vernieuwende element van dit onderzoek is dat de analyse van het reflectiespectrum zich niet beperkt tot enkele golflengtes, maar dat het gehele spectrum van 450-800 nm simultaan wordt geanalyseerd. Deze analysemethode heeft als voordeel dat relatieve hoeveelheden hemoglobineproducten in een bloedvlek kunnen worden bepaald. De verhouding van de hemoglobines, te weten, oxy-hemoglobine ( $\text{HbO}_2$ ), met-hemoglobine (met-Hb) en hemichrome (HC) is dan een goede maat voor de leeftijd van de bloedvlek.

Dus door de precieze kleur van een bloedvlek te meten, kan je nagaan hoe oud een bloedvlek is. Deze informatie kan voor een rechercheur van onschatbare waarde zijn in bijvoorbeeld een moordzaak.

**Hoofdstuk 1** is een samenvatting van de literatuur naar bloedvlekveroudering in het algemeen tot nu toe verschenen. Het begint met een overzicht van de fysische eigenschappen van rode en witte bloedcellen tijdens het verouderingsproces in een bloedvlek. Voorts staat er een opsomming beschreven van diverse technologieën die eerder al verkend zijn voor de leeftijdsbepaling van bloedvlekken. Zo is door middel van de *atoomkrachtmicroscoop* de toenemende elasticiteit van rode bloedcellen gedurende het verouderingsproces in kaart gebracht. Verder is met *elektronspinresonantie* de veranderende magnetische eigenschappen van het hemoglobinemolecuul verkend; en is met *RNA-analyse* de verandering van RNA-eiwitten in witte bloedcellen onderzocht. Al deze technologieën zijn vergeleken met de in deze thesis beschreven onderzoeksmethode, reflectiespectroscopie. Deze methode maakt gebruik van de veranderende optische eigenschappen, als gevolg van een roestingsproces waarbij  $\text{HbO}_2$  wordt omgezet in met-Hb en HC. Reflectiespectroscopie blijkt de meest nauwkeurige techniek voor het bepalen van de ouderdom van een bloedvlek, en bovendien het minst invasief en daarvoor het beste toepasbaar op een plaats delict.

**Hoofdstuk 2** gaat over verkennende metingen op verouderende bloedvlekken, waarbij het reflectiespectrum over het spectrum van 450-800 nm wordt geanalyseerd. Door het reflectiespectrum van een bloedvlek te vergelijken met de spectra  $\text{HbO}_2$ , met-Hb en HC door middel van een kleinstekwadratenanalyse kan de verhouding van deze drie hemoglobinevarianten worden bepaald. Een verse bloedvlek bestaat voor 100% uit  $\text{HbO}_2$ . Daarna wordt  $\text{HbO}_2 \rightarrow \text{met-Hb} \rightarrow \text{HC}$ . Deze omzetting is in kaart gebracht

voor 20 bloedvlekken op katoen bij kamertemperatuur. Bij 20 andere bloedvlekken is de leeftijd bepaald aan de hand van de typische omzetting van eerste 20 bloedvlekken.

Een belangrijke stap in de leeftijdsbepaling van bloedvlekken is een kwaliteitscontrole van de kleinste-kwadratanalyse. Wanneer de combinatie van de drie hemoglobine spectra onvoldoende overeenkomen met het reflectiespectrum van de bloedvlek, is de analyse onbetrouwbaar. De mate van overeenkomst tussen de kleinste-kwadratanalyse en het reflectiespectrum van de bloedvlek kan worden uitgedrukt in een correlatiecoëfficiënt,  $r^2$ . De minimale correlatiecoëfficiënt voor een betrouwbare kleinste-kwadratanalyse is (arbitrair) gesteld op  $r^2 = 0.98$ . Deze correlatiecoëfficiënt kan ook worden gebruikt om onderscheid te maken tussen bloed en niet-bloed. In **hoofdstuk 3** staat beschreven dat het reflectiespectrum van 35 op bloed lijkende vlekken, zoals ketchup, wijn en nep-bloed allen een correlatiecoëfficiënt hebben die kleiner is dan 0.97. Dit is vergeleken met 2000 metingen op 40 bloedvlekken, waarvan 98% van de metingen op bloedvlekken een correlatiecoëfficiënt van groter dan 0.97 hebben. De kleinste-kwadratanalyse met hemoglobine en een grens van 0.97 kan met een perfecte specificiteit en een bijna perfecte sensitiviteit onderscheid worden gemaakt tussen bloed en niet-bloedvlekken op wit katoen. Een opmerkelijk resultaat was dat de niet-bloedvlek met de hoogste  $r^2$  waarde de lip-gloss van de Etos bleek te zijn.

Het lichttransportmodel dat in hoofdstuk 2 gebruikt wordt voor de analyse van het reflectiespectrum van bloedvlekken is de *Kubelka Munk* theorie. Het bleek echter niet mogelijk om deze theorie te gebruiken voor kwantitatieve reflectiemetingen. In **hoofdstuk 4** is daarom overgestapt op de effectieve-padlengteanalyse. Met behulp van reflectiespectroscopische metingen op fantomen met gecontroleerde optische eigenschappen, gemaakt door een mengsel van water, vet (Intralipid) en kleurstof, is het verband tussen absorptie en verstrooiing aan de ene kant en het reflectiesignaal aan de andere kant in kaart gebracht. De hoeveelheid vet bepaalt de mate van verstrooiing, en de hoeveelheid kleurstof de mate van absorptie. Door hoeveelheid vet en kleurstof te variëren kon de effectieve weglengte die de fotonen door het fantoom afleggen worden vastgesteld en gebruikt voor een absolute bepaling van de hoeveelheid kleurstof in een fantoom. Deze methode van de effectieve padlengte blijkt ook toepasbaar voor kleurstoffen op katoen.

**Hoofdstuk 5** beschrijft hoe de methode van de effectieve padlengte gebruikt kan worden voor het bepalen van de fractie  $\text{HbO}_2$ , met-Hb en HC in bloedvlekken. Ondersteunend bewijs voor aannames die ten grondslag liggen aan de effectieve-padlengtemethode wordt geleverd door middel van *optische coherentie tomografie* analyse. De effectieve-padlengtemethode laat zien dat in bloedvlekken de omzetting van  $\text{HbO}_2$  in met-Hb in twee fases verloopt. Aanvankelijk is de omzetsnelheid hoog, maar na een aantal uur daalt de snelheid aanzienlijk. Deze twee-fase-omzetting was eerder al geconstateerd in een hemoglobineoplossing door Tsuruga *et al.* en nu voor het eerst ook waargenomen in bloedvlekken. Voorts staat in dit hoofdstuk beschreven hoe de omzettingssnelheid afhangt van de omgevingstemperatuur en de luchtvochtigheid.

Een opmerkelijk resultaat is, dat de omzetting van  $\text{HbO}_2$  naar met-Hb niet afhangt van de luchtvochtigheid en de omzetting van met-Hb naar HC wél afhangt van de luchtvochtigheid. Dat de overgang van  $\text{HbO}_2$  naar met-Hb onafhankelijk is van de luchtvochtigheid is een belangrijke ontdekking voor de implementatie van leeftijdsbepaling in het forensisch veld. Immers hoeft de luchtvochtigheid niet bekend te zijn, om de leeftijd van de bloedvlek te kunnen bepalen.

Tot slot wordt nog dieper ingegaan op het lichttransport door bloedvlekken en door de fantomen die de optische eigenschappen van bloedvlekken nabootsen. In **hoofdstuk 6** wordt het fotontransport gesimuleerd met Monte Carlo-berekeningen. Een belangrijke bevinding, is dat het verband tussen het reflectiesignaal en de mate van absorptie volledig bepaald wordt door de fotonpadlengtedistributie. In **hoofdstuk 7** wordt uitgelegd dat de diffusiebenadering voor lichttransport formeel niet mag worden toegepast op deze metingen, maar dat deze diffusiebenadering toch een goede beschrijving geeft van het reflectiesignaal als functie van absorptie. Dit laatste geeft mogelijk nieuw inzicht in de diffusiebenadering.