
BACHELORARBEIT

Frau

Kristina Ostrovskaya

**Wissenschaftliche Analyse
der Entwicklung der Perfor-
mance blutaltersschätzender
Methoden bis heute**

Mittweida, 2023

BACHELORARBEIT

Wissenschaftliche Analyse der Entwicklung der Performance blutaltersschätzender Methoden bis heute

Autor:

Frau

Kristina Ostrovskaya

Studiengang:

Allgemeine und Digitale Forensik

Seminargruppe:

FO18w4-B

Erstprüfer:

Prof. Dr. rer. nat. Dirk Labudde

Zweitprüfer:

Tommy Bergmann, M. Sc.

Einreichung:

Mittweida, 09.09.2023

Faculty of Applied Computer Sciences and
Biosciences

BACHELORTHESIS

Scientific analysis of the development of the performance of blood-age estimation methods till today

author:

Ms.

Kristina Ostrovskaya

course of studies:

General and Digital Forensic Science

seminar group:

FO18w4-B

first examiner:

Prof. Dr. rer. nat. Dirk Labudde

second examiner:

Tommy Bergmann, M. Sc.

submission:

Mittweida, 09.09.2023

Bibliografische Beschreibung:

Ostrovskaya, Kristina: Wissenschaftliche Analyse der Entwicklung der Performance blutaltersschätzer-der Methoden bis heute.– 2023. - Seitenzahl Verzeichnisse:5, Seitenzahl des Inhalts: 54, Seitenzahl der Anhänge: 0.

Mittweida, Fakultät Angewandte Computer- und Biowissenschaften, Bachelor of Science, 2023

Inhalt

Bibliografische Beschreibung: III

Inhalt IV

Abbildungsverzeichnis V

Tabellenverzeichnis VIII

1 Einleitung 1

2 Grundlagen 3

2.1 *Blut* 3

2.2 *Funktion des Blutes* 3

2.3 *Erythrozyten* 4

2.4 *Leukozyten* 5

2.5 *Thrombozyten* 7

2.6 *Blutplasma* 7

2.7 *Hämoglobin* 8

2.8 *Funktion des Blutes in der Forensik* 10

2.9 *Blutalterung* 11

3 Methoden 14

4 Ergebnisse 15

5 Diskussion 51

6 Ausblick 54

Literatur 56

Selbstständigkeitserklärung 67

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1 „Struktur des Hämoglobins“ [10]	9
Abbildung 2 „Chemische Struktur des Häms“ [11]	9
Abbildung 3 „EPR-Spektren von getrocknetem menschlichem Blut auf Filterpapier am 1.Tag (oben) und am 775 Tag (unter) nach der Extraktion“	22
Abbildung 4 „Veränderungen der EPR-Signale bei g6,g4, H und R in Abhängigkeit von der Inkubationszeit bei 25°C“	23
Abbildung 5 „Logarithmische Darstellung von Intensitätsverhältnisses (H/g4) der beiden unterschiedlichen EPR-Signale in Abhängigkeit vom Alter der getrockneten menschlichen Blutspuren“	24
Abbildung 6 „Logarithmische Darstellung des Intensitätsverhältnisses (H/g4) der beiden unterschiedlichen EPR-Signale in Abhängigkeit vom Alter von getrocknetem menschlichem Blut auf Filterpapier)“	24
Abbildung 7 „Veränderungen der EPR-Signale bei g4 (geschlossene Kreise, Filterpapier; offene Kreise) und H (geschlossene Quadrate, Filterpapier; offene Quadrate) in Abhängigkeit von der Inkubationszeit bei 20 °C“	25
Abbildung 8 „Veränderungen der EPR-Signale bei g4 (geschlossene Dreiecke, P1; geschlossene Kreise, P2; geschlossene Quadrate, P3) und H (offene Dreiecke, P1; offene Kreise, P2; offene Quadrate, P3) in Abhängigkeit von der Inkubationszeit unter verschiedenen experimentellen Bedingungen“	25
Abbildung 9 „Logarithmische Darstellung des Intensitätsverhältnisses (H/g4) der beiden unterschiedlichen EPR-Signale in Abhängigkeit vom Alter von getrocknetem menschlichem Blut auf Filterpapier, das bei 20 °C im Dunkeln aufbewahrt wurde“	26
Abbildung 10 „Vier typische Reflektionsmessungen von Blutflecken. (A) Alter = 1 Stunde; (B) Alter = 1 Tag; (C) Alter = 7 Tage; (D) Alter = 63 Tage. Die grauen Punkte sind das aufgezeichnete Reflektionsspektrum, die durchgezogene schwarze Linie ist die Anpassung an die Blutkomponente“	29

Abbildung 11 „Durchschnittliche Anteile von HbO ₂ , Met-Hb und HC für 20 Blutflecken aus dem Trainingsdatensatz.“	30
Abbildung 12 „Die Abweichungen der geschätzten Werte vom echten Alter „	30
Abbildung 13 „Reflexionsspektren von einem 8 Tage alten Blutfleck (a) mit Vorverarbeitung und (b) ohne Vorverarbeitung“	32
Abbildung 14 „Die Fisher-Gewichte in Abhängigkeit von der Wellenlänge für Spektren mit und ohne Vorverarbeitung. „	32
Abbildung 15 „Die Fisher-Gewichte in Abhängigkeit von der Frequenznummer für Blutflecken (1–19 Tage) und (23–37 Tage)“	34
Abbildung 16 „Beginn der for-Schleife, Teilung durch 255“	36
Abbildung 17 „switch-Anweisungen“	36
Abbildung 18 „Das Ergebnis der App, das geschätzte Alter der Bkutprobe“	36
Abbildung 19 „Blutproben auf verschiedenen Oberflächen in den ersten 24 Stunden“	37
Abbildung 20 „Sättigung in Abhängigkeit der Zeit“	37
Abbildung 21 „Helligkeit in Abhängigkeit der Zeit“	38
Abbildung 22 „Magentawerte in Abhängigkeit der Zeit auf verschiedenen Oberflächen“ .	38
Abbildung 23 „Magentawerte in % für Glas, Baumwolle, Papier und Holz“	39
Abbildung 24 „Die gesamte Darstellung der Versuche von Frau Stark“	40
Abbildung 25 „Vergleich der Durchschnittsspektren der Attenuated-total-reflection-Fourier-Transform-Infrarot-(ATR-FT-IR)-Spektroskopie für Blutspuren im Außenbereich zu sieben Zeitpunkten“	42
Abbildung 26 „PLSR-Diagramme für (a) Blutstropfenproben im Innenbereich und (b) im Außenbereich im Zeitraum von 0,25 bis 107 Tagen“	44
Abbildung 27 „Die Validierungsergebnisse der PLSR-Modelle in den drei Zeitperioden.“	45
Abbildung 28 „PLSR-Diagramme für Blutstropfenproben im Innenbereich in den Zeiträumen (a) von 0,25 bis 7 Tagen und (b) von 7 bis 85 Tagen sowie für	

Blutstropfenproben im Freien in den Zeiträumen (c) von 0,25 bis 7 Tagen und (d) von 7 bis 85 Tagen, die die kalibrierten Altersvorhersagen gegen das tatsächliche Alter zeigen“	46
Abbildung 29 „(a) Vorhersage des Innen-Trainingsdatensatzes unter Verwendung des Innen-PLS-DA-Modells. (b) Vorhersage des Außen-Trainingsdatensatzes unter Verwendung des Außen-PLS-DA-Modells“	47
Abbildung 30 „Ergebnisse der spektralen Trennungsanalyse. Die erste Zeile der Diagramme (a) zeigt CPC der Hämoglobin-Derivate HbO, MetHb und HC über die Zeit. Die zweite Zeile (b) beinhaltet die Konfidenzintervalle (CI) der Regression und die dritte Zeile (c) zeigt an die statistische Analyse potentieller Unterschiede der CPC in den Proben mit und ohne EDTA im Zeitraum von 5–100 Stunden. Rote Farbe repräsentieren EDTA-behandeltes Blut und blaue Farbe repräsentieren unbehandeltes Blut.“	49
Abbildung 31 “ Vergleich der CPC-Werte für HbO ₂ und MetHb in menschlichem Blut (mit und ohne EDTA) und in Schweineblut“	50

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1 „Systematik der Blutspuren“	11
Tabelle 2 „Chronologische Reihenfolge“	15

1 Einleitung

Die nach dem berühmten Forensiker Edmond Locard benannte Locard'sche Regel besagt, dass jeder Beteiligte an einem Tatort Spuren hinterlässt und diese auch mitnimmt. Es findet immer eine Wechselwirkung zwischen den Objekten, die sich am Tatort befinden, statt. [1] Zu diesen wichtigen Spuren gehört auch das Blut, das häufig am Tatort zu finden ist. Oft heißt es, dass das Blut ein stiller Zeuge sei, in dem die Wahrheit über das Tatgeschehen verborgen ist.

Das Blut hat nicht nur eine Bedeutung im forensischen, sondern auch im medizinischen Bereich. Unser menschlicher Körper braucht das Blut zum Überleben. Das Blut übernimmt zahlreiche Funktionen im Körper. Dazu zählt der Transport von Sauerstoff und Nährstoffen, der das Überleben der Körperzellen sichert, der Abtransport von Abfallstoffen und die Abwehr von Krankheitserregern. Im Rahmen der medizinischen Diagnostik liefert es wichtige Informationen zu eventuell vorhandenen Krankheiten.

Mit Hilfe des Blutes kann man auch eine Desoxyribonukleinsäure-DNA-Analyse durchführen, die Informationen über den Verdächtigen beziehungsweise über den Täter liefert. Liegt das DNA-Profil des Täters bereits in einer DNA-Datenbank vor, lässt sich aus Blutspuren die Identität des Verdächtigen ableiten. [2] Blutspuren liefern meist auch Informationen über die eingesetzte Waffe und die Art der Gewalt. Die Bewegungsrichtungen der Personen im Tatverlauf können anhand der Blutspuren nachvollzogen werden. Außerdem besteht die Möglichkeit anhand der Blutflecken die postmortale Liegezeit zu ermitteln [3].

Bei der Analyse der Blutflecken spielen die biochemisch-physikalischen Eigenschaften des Blutes wie Oberflächenspannung, Farbe und Dichte eine wichtige Rolle. [3]

Die vorliegende Arbeit thematisiert mit den Methoden der Blutaltersschätzung ein zentrales Problem der Forensik. Mit Hilfe von blutaltersschätzenden Methoden lassen sich Aussagen von Zeugen oder Verdächtigen überprüfen. Beispielsweise kann kontrolliert werden, ob ein Alibi die Tatzeit abdeckt. Für forensische Ermittler ist es von großer Bedeutung, mit solchen Methoden die genaue Uhrzeit des Verbrechens einzuschätzen. [2]

Daher wird an der Entwicklung blutaltersschätzender Methoden seit einigen Jahren intensiv geforscht, wobei die Erfolge bisher begrenzt sind. Im Zuge dieser Forschungsbemühungen wurden verschiedene Techniken entwickelt, die das Alter des Blutes bestimmen sollen. Diese Methoden können sich teilweise gegenseitig ergänzen. Aktuell wird nach Methoden gesucht, die die forensischen Ermittler langfristig nutzen können und die sie am Tatort verwenden können. Existierende Methoden weisen eine hohe Fehleranfälligkeit auf und sind meist nicht genau genug. [2]

In der vorliegenden Arbeit werden die blutaltersschätzenden Methoden vorgestellt, die seit dem Jahr 1901 entwickelt wurden. Die Struktur der Arbeit basiert auf der Struktur der Veröffentlichung „Forensic quest for age determination of bloodstains“ der Arbeitsgruppe um Rolf H. Bremmer. In diesem Bericht stellen die Autoren alle blutaltersschätzenden Methoden, die in der Vergangenheit entwickelt wurden, vor. Weiter thematisiert der Text die Bedeutung und die Schwierigkeiten der Bestimmung des Alters des Blutes am Tatort. Anhand solcher Informationen ist es möglich den Tathergang zu rekonstruieren. Neben der Entwicklung der Methoden thematisieren Bremmer et al. auch die spezifischen Probleme der Methoden, was den Überblick über die Thematik ergänzt. [2] In der Veröffentlichung werden die Methoden anhand der nachgewiesenen Bestandteile des Blutes – rote Blutkörperchen, weiße Blutkörperchen und Blutplättchen – kategorisiert. Im Gegensatz zum Vorgehen von Bremmer et al. erfolgt in der vorliegenden Arbeit eine chronologische Darstellung der blutaltersschätzenden Methoden. [2] Dabei werden neben der Entwicklung der blutaltersschätzenden Methoden, auch deren Probleme und Fehler in der Praxis dargestellt.

Bei den Blutspuren sind nicht nur die biochemisch-physikalischen Merkmale zu beachten, sondern auch die Umweltfaktoren, die die Ergebnisse der blutaltersschätzenden Methoden beeinflussen können. Die Verbesserung der Techniken zielen darauf ab, diese Umwelteinflüsse zu analysieren, um die Genauigkeit der Ergebnisse der Untersuchung der Blutspuren zu verbessern. Durch Umweltereignisse verfälschte Werte können bei der Analyse falsch interpretiert werden. Auf der Basis solcher falschen Informationen ist dann keine korrekte Rekonstruktion des Tathergangs möglich. Im besten Fall liefern blutaltersschätzende Methoden Informationen, die das Gericht akzeptiert. [2]

Diese Arbeit dient als Vergleichsmaterial für die zukünftigen Arbeiten. Außerdem soll diese Arbeit dem forensischen Team der Hochschule Mittweida als Review-Arbeit mit mehreren Publikationen dienen.

2 Grundlagen

In diesem Abschnitt werden die biochemischen und physiologischen Charakteristika des Blutes dargestellt, um einen besseren Zugang zum Thema zu ermöglichen.

2.1 Blut

Das Blut ist ein überlebenswichtiger Bestandteil unseres Körpers. Zu den Hauptaufgaben des Blutes zählt der Transport lebenswichtiger Stoffe, die für die Funktion unseres Körpers essentiell sind. Daneben ist das Blut auch für die Regulierung des Wärmehaushaltes und für die Abwehr von Krankheitserregern zuständig.

Das Blut besteht zu ca. 45 % aus festen, zellulären Bestandteilen. Der flüssige Anteil, das Blutplasma, macht ca. 55 % aus. Der feste Anteil des Blutes enthält rote und weiße Blutkörperchen sowie Blutplättchen. Die einzelnen Bestandteile werden in den folgenden Abschnitten beschrieben. [3]

Die Temperatur des Blutes liegt bei ca. 37 °C und der pH-Wert bei ca. 7,4. Die Blutparameter hängen vom Geschlecht, vom Lebensalter und von der Spezies ab. Das durchschnittliche Blutvolumen eines Erwachsenen macht ca. 6–8 % des Körpergewichtes aus. Es variiert zwischen den Geschlechtern. Bei Kindern liegt der Anteil des Blutes dagegen bei 8–9 % des Körpergewichts. Der Anteil der Blutkörperchen am Gesamtblut wird Hämatokrit genannt. Da die roten Blutkörperchen den weitaus größten Anteil der Zellen im Blut ausmachen, wird der Hämatokrit oft als Synonym für den Erythrokrit verwendet, der den Anteil der roten Blutkörperchen bezeichnet. Der Hämatokrit ist je nach Geschlecht unterschiedliche. Bei Frauen beträgt der Hämatokrit 41–43 % und bei Männern 44–46 %. [3]

2.2 Funktion des Blutes

Das Blut spielt aufgrund seiner multiplen Funktionen eine zentrale Rolle im Körper. Zu einen diesen wichtigen Aufgaben gehört der Sauerstofftransport. Der Sauerstoff wird in der Lunge vom Körper aufgenommen und gelangt ins Blut. Dort wird er physikalisch gelöst und chemisch gebunden. Über das Blut wird der Sauerstoff zu den Geweben und Organen transportiert. Dort wird der Sauerstoff für die Energiegewinnung beispielsweise aus Kohlenhydraten benötigt. Das dabei entstehende Kohlenstoffdioxid (CO₂) wird vom Blut zur Lunge zurücktransportiert, wo es ausgeatmet wird. Das Blut versorgt den Körper aber nicht nur mit Sauerstoff, sondern auch mit Nährstoffen. Zudem transportiert es Hor-

mone von den produzierenden Organen zu den Zielorganen und Stoffwechselendprodukte zur Leber bzw. Niere. [3]

Eine weitere Aufgabe des Blutes ist die Regulation des Wärmehaushaltes. Es sorgt dafür, dass die Temperatur im Körper konstant zwischen 36,5 und 37,5 °C liegt. Die Wärmeenergie, die bei den Stoffwechselprozessen gewonnen wird, wird im ganzen Körper verteilt und über die Haut nach außen abgegeben. Der zweite Weg, über den die Wärmeenergie aus dem Körper geschleust wird, ist die Atemluft. [3]

Weiter übernimmt das Blut wichtige Funktionen im Rahmen der Abwehr von Krankheitserreger und aufgenommenen Fremdstoffen. Diese werden mit Hilfe verschiedener Bestandteile, die sich im Blut befinden, erkannt und unschädlich gemacht. Wichtige Akteure in diesem Kontext sind Antikörper und die verschiedenen Leukozyten-Subpopulationen (siehe Kapitel 2.4). Bei Verletzungen wird die Blutung durch das im Blut vorkommende Gerinnungssystem gestoppt und die Wunde verheilt langsam. Auch an dieser Aufgabe sind spezifische Blutzellen beteiligt (siehe Kapitel 2.5). [3]

2.3 Erythrozyten

Zu den zellulären Hauptbestandteilen des Blutes zählen die roten Blutkörperchen, die auch als Erythrozyten bezeichnet werden. Die Erythrozyten haben eine scheibenförmige Form mit einer zentralen Delle. Sie sind Träger des roten Blutfarbstoffs, der auch Hämoglobin genannt wird. Die roten Blutkörperchen besitzen keinen Zellkern. Daher können sich die roten Blutkörperchen nicht teilen. Sie werden nach ca. 120 Tage in der Milz oder Leber abgebaut. [5]

Die Erythrozyten werden über einen mehrstufigen Prozess (Erythropoese) im Knochenmark produziert. Pro Sekunde entstehen ca. 3 Millionen neue rote Blutkörperchen. Bei einem gesunden Mann enthält ein Mikroliter Blut 4,8–5,9 Millionen Erythrozyten, bei Frauen sind es mit 4,3–5,2 Millionen Erythrozyten etwas weniger.[5]

Die wichtige Aufgabe der Erythrozyten ist der Transport des Sauerstoffs aus der Lunge in alle Gewebe und Organe des Körpers. Für den Transport bindet der Sauerstoff an das Hämoglobin. Die Körperzellen benötigen den Sauerstoff, um Energie aus Kohlenhydraten zu produzieren. Das dabei entstehende Kohlenstoffdioxid (CO₂) wird von roten Blutkörperchen zurück zur Lunge transportiert und dort mit der Atemluft ausgeatmet. [6]

2.4 Leukozyten

Neben den roten Blutkörperchen gibt es im Blut auch weiße Blutkörperchen, die auch als Leukozyten bezeichnet werden. Anders als die Erythrozyten enthalten sie kein Hämoglobin und sind daher auch nicht rot gefärbt. [5] Im Gegensatz zu den roten Blutkörperchen weisen manche Leukozyten eine deutlich längere Lebensdauer auf. Die Lebensdauer reicht von mehreren Tagen bis zu mehreren Jahren und hängt von der Funktion der weißen Blutkörperchen ab. Die Leukozyten können durch die Kapillarwand der Blutgefäße durchtreten und somit in verschiedene Gewebe einwandern. Auf die gleiche Weise können sie auch wieder in die Blutgefäße zurückkehren. Dieses Phänomen wird amöboiden Bewegung genannt.[4] Leukozyten finden sich daher nicht nur im Blut, sondern auch in Geweben, in den Schleimhäuten und in den Lymphknoten. [5]

Die Aufgabe der weißen Blutkörperchen ist die Abwehr von Krankheitserregern. Die verschiedenen Leukozyten-Zelltypen stammen von gemeinsamen Vorläuferzellen ab, besitzen aber unterschiedliche Aufgaben. Diese Vorläuferzellen liegen im Knochenmark. Da sie verschiedene Leukozyten-Zelltypen bilden können, werden sie als pluripotente Stammzellen bezeichnet. Über einen mehrstufigen Prozess (Leukozytopoese) entstehen aus den Vorläuferzellen durch Zellteilungen reife Leukozyten; dazu zählen Monozyten, Granulozyten und Lymphozyten. [5]

Monozyten können körperfremdes Material wie beispielsweise Bakterien in sich aufnehmen und diese dadurch unschädlich machen. Dieser Prozess wird Phagozytose genannt. Monozyten werden daher umgangssprachlich auch als Fresszellen bezeichnet. [5] Die Monozyten sind mit einem Durchmesser von 10–18 μm die größten weißen Blutkörperchen. Im Gegensatz zu den roten Blutkörperchen besitzen Monozyten einen Chromatinreichen Zellkern, der oval bis nierenförmig aussehen kann. Im Zytoplasma der Monozyten befinden sich Mitochondrien, das endoplasmatische Retikulum (ER), Ribosomen, ein umfangreicher Golgi-Apparat und zahlreiche Lysosomen. Nach ihrer Entstehung verbleiben die Monozyten entweder im Blutstrom oder treten durch die Kapillarwände durch und wandern in verschiedene Gewebe ein. In Abhängigkeit von ihrer Umgebung entwickeln sich die Zellen zu unterschiedlichen Makrophagen-Typen. [4]

Auch die Granulozyten zählen zu den weißen Blutkörperchen. Der Name „Granulozyt“ bezieht sich auf das „körnertig“ erscheinende Innere der Zellen. [5] Der Durchmesser der Granulozyten beträgt 10–15 μm . Der Zellkern kann unterschiedlich aussehen und eine stabförmige bis stark gelappte Form aufweisen. Unterschieden werden segmentkernige und stabkernige Granulozyten. Bei den segmentkernigen Granulozyten mit geteiltem Zellkern handelt es sich um reife Granulozyten. Die stabkernigen Granulozyten mit nicht segmentiertem Zellkern sind dagegen unreife Zellen. Mehr als 50 % der Leukozyten sind

segmentkernige Granulozyten. Der Anteil der stabkernigen Granulozyten ist mit 2–3 % deutlich niedriger. [5]

Bei den Granulozyten gibt es verschiedene Typen, die sich anhand der Anfärbung der Zellbestandteile unterscheiden lassen. Die drei Formen werden als basophile, neutrophile und eosinophile Granulozyten bezeichnet. Jeder Granulozyten-Typ übernimmt bei der Abwehr von Krankheitserregern unterschiedliche Aufgaben. [7]

Neutrophile Granulozyten sind mit einem Anteil von 55–65 % an allen Leukozyten die häufigsten Granulozyten. Neutrophile Granulozyten können ähnlich wie Monozyten Krankheitserreger aufnehmen und damit unschädlich machen. [4]

Der Anteil der eosinophilen Granulozyten an allen Leukozyten liegt bei 2–4 %. Eosinophile Granulozyten sind im Vergleich zu den vorher beschriebenen neutrophilen Granulozyten größer. Im Zellinnern enthalten eosinophile Granulozyten grobe Granula, die sich mit dem sauren Farbstoff Eosin intensiv rot anfärben lassen. Zu den Aufgaben eosinophiler Granulozyten gehören die Kontrolle allergischer Reaktionen und die Bekämpfung von Parasiten. [4]

Mit einem Anteil von weniger als 1 % an allen Leukozyten sind die basophilen Granulozyten am seltensten. Im Zellinnern besitzen basophile Granulozyten grobe Granula, die sich mit basischen Farbstoffen anfärben lassen, wobei eine tiefblauschwarze Farbe entsteht. Basophile Granulozyten steuern gemeinsam mit eosinophilen Granulozyten allergische Reaktionen und bekämpfen Parasiten. [4]

Ein weiterer Zelltyp der weißen Blutkörperchen sind Lymphozyten. Sie machen im peripheren Blut etwa 20–35 % der weißen Blutkörperchen aus. [4]

Bei den Lymphozyten werden mit B- und T-Lymphozyten sowie natürlichen Killerzellen drei verschiedene Zellpopulationen unterschieden. B-Zellen und T-Zellen bilden das sogenannte erworbene Immunsystem. Beide Zelltypen werden im Knochenmark gebildet, reifen aber an unterschiedlichen Orten (B-Zellen im Knochenmark (engl. bone marrow) und T-Zellen im Thymus). Die erworbene Immunantwort basiert auf von B- und T-Zellen produzierten Proteinen gegen Fremdstoffe (Antigene). [4] Jeder Lymphozyt synthetisiert immer nur Proteine gegen ein bestimmtes Antigen. Beim Kontakt mit dem Antigen, beginnt diese spezifische Lymphozytenpopulation mit der Zellteilung, so dass nach einiger Zeit zahlreiche Lymphozyten Antigen-spezifische zur Verfügung stehen, die die eingedrungenen Krankheitserreger eliminieren können. Ist die Infektion bekämpft, verbleiben einige der Antigen-spezifischen Lymphozyten als sogenannte Gedächtniszellen im Körper des Menschen, so dass bei einem erneuten Kontakt mit dem Krankheitserreger schnell reagiert werden kann. Daher können Menschen manche Krankheiten nur einmal im Leben bekommen. B-Zellen produzieren Antikörper, die beispielsweise an Oberflächenantigene von Bakterien binden. Die so markierten Bakterien werden von anderen Zellen (Granulozyten, Monozyten) aufgenommen. Zu den T-Zellen zählen T-Helfer-Zellen, die durch

die Produktion löslicher Botenstoffe andere Zellen des Immunsystems aktivieren, und zytotoxische T-Zellen, die mit Viren infizierte Zellen erkennen und abtöten. [4]

Natürliche Killerzellen sind große granulierte Lymphozyten, die anders als B- und T-Zellen keine Antigen-spezifischen Strukturen auf ihrer Zelloberfläche besitzen. Sie spielen bei der Eliminierung von mit Viren befallenen Zellen und Tumorzellen eine Rolle. [4]

2.5 Thrombozyten

Neben den weißen und roten Blutkörperchen kommen im Blut auch Blutplättchen vor. Die Blutplättchen besitzen wie die roten Blutkörperchen keinen Zellkern. Blutplättchen sind mit einem Durchmesser von 2–4 μm kleiner als die anderen Blutzellen. Der Zellkörper der Thrombozyten ist im inaktiven Zustand der Zellen scheibenförmig. [5] Bei Aktivierung bilden die Thrombozyten jedoch Ausläufer, über die sie sich untereinander vernetzen oder an andere Strukturen anhaften können.

Thrombozyten entstehen aus mehrkernigen Megakaryozyten im Knochenmark durch Zellabschnürung. Im Innern der Blutplättchen sind zentrale Granula, kleine Mitochondrien sowie Vakuolen und Vesikeln erkennbar. [4]

Die Thrombozyten erfüllen eine wichtige Aufgabe bei der Blutgerinnung. Bei der Verletzung eines Blutgefäßes lagern sich die Blutplättchen an die Verletzungsstelle an. Durch die Thrombozyten-Aggregation wird das Gefäßleck verschlossen und die Blutung gestoppt. Weiter sind sie an der Aktivierung des Gerinnungssystems beteiligt. Das vom Gerinnungssystem gebildete Fibrin stabilisiert den Verschluss des Gefäßlecks durch die Thrombozyten. [5]

Die Lebensdauer von Blutplättchen beträgt ca. 5–9 Tage, Danach werden die Blutplättchen in der Milz, Leber und Lunge abgebaut. [5]

2.6 Blutplasma

Blut besteht nur zu 45 % aus festen Bestandteilen (Erythrozyten, Leukozyten, Thrombozyten). Der flüssige Anteil des Blutes wird als Blutplasma bezeichnet. Das Blutplasma macht ca. 55 % des Blutvolumens aus. Der Anteil der Proteine im Blutplasma beträgt 8 %. Beim

weitaus größten Anteil der Proteine (60 %) handelt es sich um Albumin. Zu den Aufgaben des Albumins zählt die Aufrechterhaltung des kolloidosmotischen Drucks im Blutplasma und der Transport schwer löslicher Substanzen wie Lipide. Die restlichen 40 % der Proteine sind Globuline. Zu diesen Globulinen zählen Immunglobuline (Antikörper) (siehe Kapitel 2.4) Fibrinogen. Das lösliche Fibrinogen ist eine Vorstufe des polymeren Fibrins (siehe Kapitel 2.5), das bei der Blutgerinnung eine wichtige Funktion übernimmt. Wenn man aus dem Blutplasma die Gerinnungsfaktoren (z. B. Fibrinogen) entfernt, entsteht Blutserum. [4]

2.7 Hämoglobin

Das Hämoglobin ist ein wichtiger Bestandteil der Erythrozyten (siehe Kapitel 2.3). Beim Hämoglobin handelt es sich um einen Proteinkomplex (siehe unten), der im Körper für den Sauerstofftransport zuständig ist. Der Sauerstoff bindet in den Lungenkapillaren an Hämoglobin. Über den Blutkreislauf gelangt dann der Sauerstoff in die Gewebekapillaren, wo er an die Zellen abgegeben. Ein mit Sauerstoff beladenes Hämoglobin wird als Oxyhämoglobin (HbO_2) bezeichnet. Dieser Prozess wird Oxygenierung genannt. Die Abgabe des Sauerstoffes bezeichnet man als Deoxygenierung und das sauerstofffreie Hämoglobin als Deoxyhämoglobin. [8] Nach Abgabe des Sauerstoffes an die Zellen kann das Deoxyhämoglobin das bei der Zellatmung entstandene Kohlenstoffdioxid (CO_2) binden und zur Lunge transportieren, wo es ausgeatmet wird. [8]

Hämoglobin besteht aus dem Protein Globin und dem eisenhaltigen Häm (siehe Abbildung 2). [9] Hämoglobin enthält vier Globin-Ketten (siehe Abbildung 1). Beim Menschen gibt vier verschiedene Globine (α -, β -, γ - und δ -Kette). Das Hämoglobin beim Fötus besteht aus zwei α - und zwei δ -Ketten und bei Erwachsenen H aus zwei α - und zwei β -Ketten. [3]

Durch Oxidation kann sich beim Hämoglobin das zentrale Fe^{2+} in ein Fe^{3+} umwandeln. Die entstehende Farbstoffkomponente wird als Oxyhäm und das gesamte Molekül als Hämoglobin oder Methämoglobin (MetHb). MetHb ist nicht in der Lage Sauerstoff zu binden. [8]

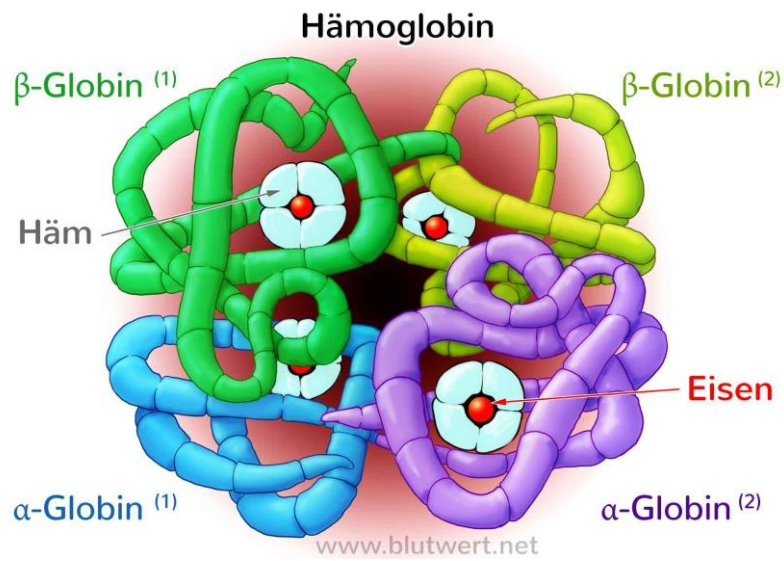


Abbildung 1 „Struktur des Hämoglobins“ [10]

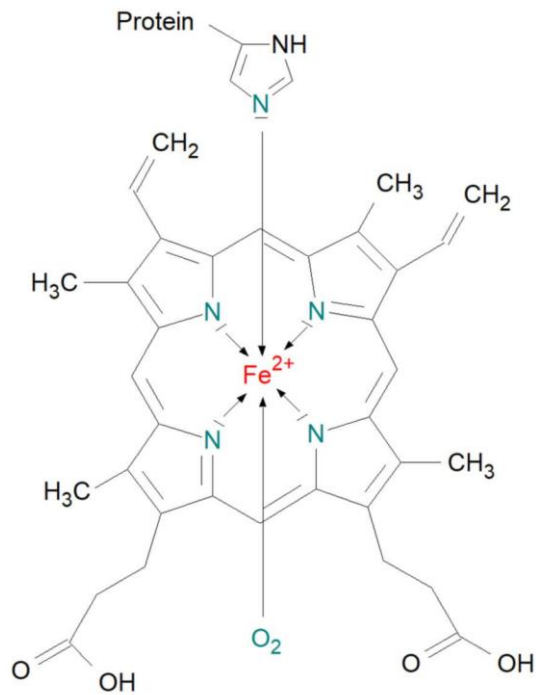


Abbildung 2 „Chemische Struktur des Häms“ [11]

2.8 Funktion des Blutes in der Forensik

Für ein besseres Verständnis der Bedeutung des Blutes in der Forensik soll hier zunächst der Begriff „Forensik“ erklärt werden. Die Bezeichnung „Forensik“ stammt von dem lateinischen Wort „forum“ ab, dass als Marktplatz übersetzt werden kann. Früher fanden Gerichtsverfahren, Urteilsverkündungen, Strafvollzüge und juristische Untersuchungen öffentlich auf dem Marktplatz statt. Aktuell werden unter dem Begriff „Forensik“ alle Bereiche, die kriminelle Handlungen analysieren, rekonstruieren oder identifizieren, zusammengefasst. Die Forensik lässt sich in verschiedene Bereiche wie Forensische Psychiatrie, Ballistik, Informationstechnologie-(IT)-Forensik und Rechtsmedizin unterteilen. [12] Für die vorliegende Arbeit ist die Rechtsmedizin von Bedeutung, da sich dieser Bereich mit dem Blut beschäftigt. Die Rechtsmedizin wird manchmal auch als Forensische Medizin bezeichnet. In diesem Bereich sind medizinische und naturwissenschaftliche Kenntnisse erforderlich, um die Rechtslage zu verstehen und diese zu analysieren. [12]

Am Tatort finden forensische Ermittler häufig Blutspuren, die bei der Rekonstruktion des Tathergangs eine wichtige Rolle spielen. Weiter dienen die Blutspuren zur Überprüfung von Zeugenaussagen und Alibis der Verdächtigen. Eine DNA-Analyse des Blutes kann zudem wichtige Informationen über den Täter und / oder das Opfer liefern. Bei der Untersuchung von Blutspuren wäre auch eine Bestimmung des Alters wünschenswert. Derzeit arbeiten zahlreiche Wissenschaftler an Methoden zur Bestimmung des Alters des Blutes. [2] Derzeit ist aber eine solche Bestimmung am Tatort nicht möglich. [13]

Des Weiteren werden im forensischen Bereich Blutflecken für die Blutspurenmusteranalyse (engl. bloodstain pattern analysis, BPA) verwendet. Mit Hilfe der Blutspurenmusteranalyse wird das Tatgeschehen rekonstruiert. Bei dieser Analyse spielt die Morphologie eine zentrale Rolle, da sich aus ihr wichtige Informationen ableiten lassen. Diese Art der Untersuchungen entwickelte der polnische Wissenschaftler Eduard Piotrowski und veröffentlichte 1895 die Arbeit „Über Entstehung, Form, Richtung und Ausbreitung der Blutspuren nach Hieb- und Stichwunden des Kopfes“. [3] Piotrowski führte die Experimente mit lebendigen Kaninchen durch, indem er ihnen die Schädel mit Steinen und Hämmern einschlug. Die dabei entstandenen Blutspuren zeichnete er auf. Der Wissenschaftler versuchte mit diesen Experimenten die Zusammenhänge zwischen der Ausrichtung und Ausziehung des Blutfleckes zu identifizieren. [3]

Für die Analyse der Blutspuren ist beispielsweise deren Flugrichtung beim Aufprall wichtig, da diese Information auf die Art der Gewalt schließen lässt. Die Blutspuren werden in vier Hauptgruppen kategorisiert. [14] Die Hauptgruppen und deren Untergruppierungen sind in Tabelle 1 dargestellt.

Tabelle 1 „Systematik der Blutspuren“

Passivspuren	Kontaktspuren	Projektionsspuren	Varia
Blutlache	Wischspur	Spritzspur	Blasenringe
Ablaufspur	Abdruckspur	Schleuderspur	Konturenspur
Geronnenes Blut	Durchwischspur	Rückwärtsspritzer	Insektenspur

2.9 Blutalterung

Es ist nicht unüblich, dass die forensischen Ermittler am Tatort als einzige Spur Blut finden. Daher sind Blutspuren oft die einzige Möglichkeit, Informationen über den Tathergang zu erhalten. [2] Für spätere Analysen ist die zeitliche Reihenfolge des Tathergangs wichtig. Bei den meisten Verletzungen gelangt das Blut außerhalb des Körpers, was als *ex vivo* bezeichnet wird. Die forensischen Ermittler am Tatort sollten sich mit den Prozessen bei der Blutalterung auskennen. Machen die forensischen Mitarbeiter Fehler, besteht die Möglichkeit, dass wichtige Informationen verschwinden. Am Tatort sollten nicht nur die anatomischen Faktoren beachtet werden, sondern auch äußere Parameter, da diese die Blutalterung beeinflussen. Zu diesen äußeren Faktoren zählen die Luftfeuchtigkeit, die Umgebungstemperatur, die Art und die Beschaffenheit des Untergrundes sowie die Windgeschwindigkeit. [3] 1983 veröffentlichten Laber und Epstein einen Artikel über diese Umwelteinflüsse mit dem Titel „Experiments and Practical Exercises in Bloodstain Pattern Analysis“. In dieser Studie wird nochmals auf die Bedeutung der Berücksichtigung der Auswirkungen von Umwelteinflüssen bei der Analyse von Blutspuren hingewiesen. [3] Einer der Hauptgründe für die fehlende Existenz einer validen blutaltersschätzenden Methode, sind äußere Einflüsse, die die Befunde beeinflussen. An den Tatorten trocknen Blutspuren bei bestimmten äußeren Einflüssen sehr schnell aus. Bei ausgetrockneten Blutflecken ist die Altersbestimmung erschwert, so dass Untersuchungen häufig falsche Daten liefern. Eine langandauernde Lichtexposition verändert die Farbe des Blutes von rot hinzu rostbraun bis schwarz.

Auch andere äußere Einflüsse verändern den roten Blutfarbstoff Hämoglobin. Bei der Oxidierung des HbO_2 zu MetHb spielt die Temperatur und Luftfeuchtigkeit eine zentrale Rolle. [3] Hämoglobin verlässt den Körper als HbO_2 und wird dann zu MetHb oxidiert. Das Oxydierungsprozess kann nur im Körper rückgängig gemacht werden. [3] Für die Umwandlung von MetHb zu HbO_2 wird ein Enzym benötigt; diese MetHb-Reduktase kann außerhalb des Körpers nicht gebildet werden. [15] Der Gehalt an MetHb steigt daher ex vivo mit der Zeit an. Dieser Prozess kann Tage bis wenige Wochen dauern, dann ist das Hämoglobin komplett oxydiert. Nach der zweiten bis der dritten Woche bindet die Aminosäure Histidin an das zentrale Eisenatom, wodurch die Häm-Gruppe inaktiviert wird. [3] Dieser Zustand des Hämoglobins wird als Hämichrom (HC) bezeichnet. Ursache für diesen Prozess ist die Denaturierung des Globinanteils. Insgesamt bewirken diese Prozesse einen Farbumschlag von ex vivo Blutflecken von hellrot (HbO_2) über braun (MetHb) bis hin zu schwarz (HC). [3]

Die ersten Analysen zum Thema Blutalterung erfolgten 1901. Der Gerichtsmediziner Ernst Ziemke legte den Grundstein zu dieser Forschungsrichtung, indem er die Absorptionsbanden von Hämoglobinderivaten bestimmte. Auf der Basis dieser Untersuchungen stellte Patterson 1960 fest, dass Alterungsprozesse bei den Blutflecken von Umweltfaktoren abhängen. [3] Die ersten Untersuchungen zu Farbveränderungen bei Blutspuren fanden 1907 statt. Louis Tomellini veröffentlichte eine Farbskala mit unterschiedlichen Altersstadien (Zeitraum ein Jahr) der Blutspuren. Mit der Zeit wurden die Blutflecken immer dunkler. 1910 brachte Leers die Farbveränderung mit biochemischen Prozessen der MetHb-Bildung in Zusammenhang. [3] Im Jahr 1930 entdeckte Schwarzacher die abnehmende Wasserlöslichkeit mit zunehmendem Alter der Blutflecken. [15]

1950 entschlüsselte der Wissenschaftler die chemischen Prozesse bei der Farbänderung bei der Blutalterung. [3] Zehn Jahr später wurde mit Hilfe der Foto-Spektroskopie nachgewiesen, dass Umwelteinflüsse die Prozesse der Blutalterung beeinflussen. [15] Wissenschaftler Kleihauer und Kind haben die Untersuchungen von Patterson fortgeführt und verbessert.

Darüber hinaus stellte Nuorteva fest, dass sich das Blutalter auch mit Hilfe der Entomologie bestimmen lässt. Bei einem Leichenfund werden häufig entomologischen Untersuchungen durchgeführt. Die Fliegen legen ihre Eier aber nicht nur auf den Leichen ab, sondern auch auf blutbeschmierten Gegenständen oder Kleidungsstücken. Die Eier bzw. die daraus sich entwickelnden Larven werden eingesammelt und analysiert. Durch die Analyse der Fliegenspezies und des Larvenstadiums lassen sich Informationen über die Zeit des Blutaustritts gewinnen. [3]

Seit Beginn des 20. Jahrhunderts wurden immer wieder neue Methoden zur Bestimmung des Blutalters entwickelt. Damals wurden diese Methoden jedoch kaum publiziert. Zudem wurden die Verfahren häufig nicht so weit entwickelt, dass sie am Tatort einsetzbar waren. Aktuell gibt es eine Vielzahl von Methoden zu dieser Thematik. Für forensische Er-

mittlungen sind diese Methoden jedoch meist zu aufwendig und zu teuer. Deshalb werden sie in der Praxis kaum angewandt. [15]

3 Methoden

In diesem Abschnitt wird die Methodik der vorliegenden Arbeit dargestellt. Das Ziel der Arbeit war die Analyse der blutaltersschätzenden Methoden, die bisher entwickelt wurden. Dazu werden die Methoden, die in verschiedenen wissenschaftlichen Veröffentlichungen präsentiert wurden, vorgestellt. Die Daten für die Arbeit wurden über eine Literaturrecherche gesammelt. Die in den Ergebnissen vorgestellten Paper, wurden auf der Seite ScienceDirect gefunden und die entnommene Paper, benutzte man für die eine Literaturrecherche.

Die Literaturrecherche soll zunächst einen Überblick über den aktuellen Forschungsstand geben. Eine der Veröffentlichungen dient als Vorbild für die Struktur der vorliegenden Arbeit. Dabei handelt es sich um die Veröffentlichung „Forensic quest for age determination of bloodstains“ von Bremmer und sein Team. In dieser Studie stellen die Autoren die verschiedenen blutaltersschätzende Methoden dar; dabei werden die Methoden nach den Bestandteilen des Blutes (rote und weiße Blutkörperchen bzw. Blutplättchen) unterteilt. Im Gegensatz zu diesem Vorgehen werden die Methoden in dieser Arbeit für einen besseren Überblick chronologisch nach dem Zeitpunkt ihrer Entwicklung sortiert. Alle vorgestellten Arbeiten basieren auf der Analyse des Abbaus von Hämoglobin. Zur Erhöhung des Verständnisses werden Diagramme und Tabellen aus den Veröffentlichungen zu den blutaltersschätzenden Methoden übernommen.

4 Ergebnisse

In diesem Abschnitt werden die verschiedenen Papers chronologisch dargestellt. Zuerst stellt die Tabelle 2 „Chronologische Reihenfolge“ der Paper dar. In der Tabelle erfährt der Leser, wann das Paper veröffentlicht wurde, die Methode, den Zeitraum, Fehlerquote und kurze Beschreibung zu dem Paper. Danach wurden sechs Paper rausgesucht, um die Thematik besser vorzustellen. Die fünf Paper stellen verschiedene Arten von Spektrometrie dar, dies ist eine verbreitete Methode in diesem Bereich. Außerdem wurde auch eine neue Methode dargestellt, die eine Studentin entwickelt hat, eine App, die das Alter der Blutflecken bestimmen kann.

Tabelle 2, „Chronologische Reihenfolge“

Jahr	Methode	Zeitraum	Fehler der Altersvorhersage	Kurze Beschreibung
1954 [16]	Chloridbild	1 Jahr	Keine Angaben	<ul style="list-style-type: none"> -Es werden Versuche mit Blutproben durchgeführt unter unterschiedlichen Umwelteinflüssen - Die Chloridmethode wurde zuerst für Analyse der Tintenschriften entwickelt - Blutproben wurden auf 40 verschiedenen Papiersorten aufgetragen -Chloridbild erweitert sich im Laufe der Zeit (auf dem Papier) - Die Menge des Chlorid wirkt nicht auf die Geschwindigkeit der Ausbreitung des Chlorids - extrem hohe Luftfeuchtigkeit hat einen Einfluss auf die Ausbreitung des Chlorids -Ausbreitung der Chloride

				<p>findet im Winter langsamer (in geheizten Räumen) statt als im Sommer (ungeheizten Räumen)</p> <p>-Auf den Textilien ist die Lage komplizierter</p> <p>- Die Oberflächen wie Holz und Mauerwerk wurden nicht analysiert</p> <p>- Die Methode kann nicht bei hoher Luftfeuchtigkeit angewendet werden</p>
2005 [17]	EPR-Spektrometer	775 Tage	25 %	-die weiteren Informationen sind in der ausführlichen Form unten zu finden
2010 [13]	Diffuse Reflexionsspektroskopie	Ca. 63 Tage	<p>Nach einem Tag für 20 spuren s 0.65 +- 0.02</p> <p>Nach einem Tag für 40 Spuren s 0.66+- 0.02</p> <p>Nach 17 Tgen für 20 Spuren 0,33 +- 0,04</p> <p>Für 40 Spuren 0,33 +- 0,03</p>	- die weiteren Informationen sind in der ausführlichen Form unten zu finden
2011 [18]	Raman-Spektroskopie	unbekannt	Keine genauen Informationen	<p>-Das Alter der Blutflecken wurde mit Hilfe der Raman-Spektrometer bestimmt</p> <p>-Früher wurde Raman-Spektrometer für die Analyse der Textilien benutzt, erst seit der kurzen Zeit wurde festgestellt, dass die es für Blutanalyse auch geeignet ist</p> <p>-es wurde verdünntes Blut verwendet</p> <p>- einige Proben wurde mit der Säure EDTA vermischt</p>

				<ul style="list-style-type: none"> - Es wurde ein Tatort simuliert, in dem die Blutproben auf verschiedenen Gegenständen aufgetragen wurden - Die Fluoreszenz und die Substanzen können ein Problem bei der Analyse darstellen - Bei dem frischen Blut waren zusätzliche Peaks bei der Analyse vorhanden, diese konnten man bei den getrockneten Blutproben nicht feststellen -Die Oxyhämoglobin-Peaks wurden nur bei den getrockneten Proben gefunden -Wenn die Probe länger als eine Woche in einem Behälter mit EDTA sich befindet, dann sind die Ergebnisse der Peaks sehr schwach
2011 [19]	Mikro-Spektrometer	37 Tage	<p>0,71 Tage(fast ein Tag), wenn die Blutflecken nicht älter als 19 Tagen waren</p> <p>3,08 Tage (3 Tage), wenn die Blutflecken älter als 23 Tagen waren, aber jünger als 37 Tage</p>	-die weiteren Informationen sind in der ausführlichen Form unten zu finden
2012 [20]	NIR-Reflexions-spektroskopie, Partial-Least-Squares-Regression	77 Tage	8,9% für 1 Monat	<ul style="list-style-type: none"> -Die dunkle Oberflächen erschweren die Untersuchungen bei den Blutflecken - Partial-Least-Squares-Regression gibt die Möglichkeit, das Alter der Blutspuren auf farbigen Untergründen zu bestimmen - NIR-Reflexionsspektroskopie liefert mehr Details über die chemischen Strukturen der Blutproben -Basiert auf Hämoglobin De-

				<p>private</p> <ul style="list-style-type: none"> - Folgende Blutbestandteile wurden verglichen: Harnstoff, Cholesterin, Glukose, Albumin, Globulin, Triglyceride, Methämoglobin, Oxyhämoglobin -Baumwolle hat starken Einfluss auf Absorptionsspekten - Für jede Farbe wurde PLS-Modell erstellt -bei den dunklen Hintergründen entstehen Probleme bei den Messungen -Nicht-destruktiv -NIR-Spektroskopie ist sehr spezifisch und empfindlich
2013 [21]	Smartphone-Kamera kombiniert mit kostengünstigen Beleuchtungssystem, lineare Regression, maschinelles Lernverfahren Random Forest™-Klassifikationsalgorithmus	42 Tage	12 %	<ul style="list-style-type: none"> -Die Blutproben wurden auf verschiedenen Untergründen platziert und mit der Smartphone-Kamera fotografiert -erste Studie, die sich mit Smartphone-Kameras beschäftigt, um das Blutalter zu bestimmen -Umwelteinflüsse wurde mit erforscht - messbare Farbveränderung -basiert auf Hämoglobin-Derivaten - alle Blutproben lagen in einem dunklen Raum bei 25 +- 8°C, außer die Blutproben, die auf Licht und Temperatur kontrolliert wurden - Maschinelles Lernverfahren wurde für Vorhersage des Alters der Blutprobe eingesetzt - Viele Faktoren beeinflussen

				<p>die Farbveränderung der Blutflecken</p> <p>-Die 2160 Blutbilder wurden in zwei Gruppen aufgeteilt: die Trainingsset (70%) und Validierungsset (30%)</p> <p>-Samsung Galaxy S Plus als Smartphone bestet geeignet und liefert stabile Ergebnisse</p> <p>-Es wurde ein Substrat auf die Blutproben aufgetragen, diese führt zu Farbveränderungen</p> <p>-EDTA und Herapin hatten keine Wirkung auf die Farbveränderung</p>
2017 [15]	App	Min.3 Tage	- wird individuell bei Bereichen ausgerechnet	- die weiteren Informationen sind in der ausführlichen Form unten zu finden
2017 [22]	ATR-Spektrometer FTIR-Spektrometer, Partial-Least-Squares (PLS) PLS-DA	107 Tage		- die weiteren Informationen sind in der ausführlichen Form unten zu finden
2018 [23]	qPCR-Assay-Methode, Varianzanalyse	Ein Jahr	Fehlerquote variiert nach dem Alter der Blutflecken Keine genauen Angaben	<p>-In dieser Studie wurde RNA in unterschiedlichen Körperflüssigkeiten analysiert</p> <p>-Es wurde auch eine Analyse durchgeführt, um zu erfahren, ob es möglich ist anhand der RNA das Alter der Blutflecken zu erfahren</p> <p>-RNA wurde in die cDNA umgewandelt</p> <p>- vier RNA-Transkripte, für</p>

				<p>diese Transkripte wurden besondere Primer entwickelt</p> <p>-Es wurden Cq-Werte für jeden Blutfleck ausgerechnet</p> <p>- Die Cq-Werte pro Blutprobe pro Spender wurden zusammengefasst und ein Durchschnittswert kam raus</p> <p>- Mit einem molekularen Assay ist es möglich das Alter der Blutproben zu bestimmen</p> <p>-weiter Studien erforderlich</p>
2021 [24]	EDTA-Säure, UV/VIS-Spektrometer	3 Wochen		-die weiteren Informationen sind in der ausführlichen Form unten zu finden
2023 [25]	qPCR-Test, Regressionsanalyse, Machine-Learning-Modelle, Schmelzkurveanalyse	Labor 1: 357 T. Separater Teilnehmer: 1200 Tage Labor 2: 2310 Tage	Mean Square Error und Mean Absolute Error -MAD: Labor 1: 4,6 Tage (bei der Lagerzeit von weniger als 100 Tage)	<ul style="list-style-type: none"> - Zeitabhängiger Abbau - Basiert auf dem Paper von Fu und Allen - Vier RNA-Transkripte: B2M, LGALS2, S100A12, CLC - 2 bis 4 Wochen für Flecken, die jünger als 6 Monate sind - 4-6 Wochen für die älteren Blutflecken - Die Proben wurden in zwei Laboren untersucht - Unter Umweltbedingungen ausgesetzt - Statistischen Analysen führte man an den Proben aus dem Außenbereich - Fast alle Cq-Werte

				<p>wurden erkannt</p> <ul style="list-style-type: none"> - Im Labor zwei waren nicht alle qPCR-Negativkontrollen negativ - Im Labor 2 weisen die Schmelzkurven auf die Primer-Dimeren - Regressionsanalyse pro Marker - Für die maschinelle Lernmodelle wurden die Daten von den Außenproben aus dem zweiten Labor nicht verwendet - ALAS2-Ergebnis aus Labor 1 wurde entfernt - Fast alle Marker sind für die Bestimmung des Alters wichtig
--	--	--	--	--

Schätzung des Alters von menschlichen Blutflecken durch Elektronen-Paramagnetische-Resonanz-Spektroskopie: Langzeit-Kontrollexperiment zu den Auswirkungen von Umweltfaktoren (2005) [17]

Das Team einer japanischen Universität führt eine Untersuchung der Blutspuren. Sie verwenden eine Methode, mit der man das Alter der Blutspuren bestimmen kann. Für die Experimente wurde die Elektronen-Paramagnetresonanz-Spektroskopie, die auch EPR genannt wird, benutzt. Diese Methode basiert auf die Messung der Denaturierung von Hämoproteine. In der Methode das doppellogarithmierte EPR-Intensitätsverhältnis von Niedrigspin-Eisen (II)/ Nicht-Häm-Eisen (III) gegen die Anzahl der Tage seit Auftreten der Blutung als eine lineare Korrelation, unter kontrollierten Umgebungsbedingungen dargestellt. Die Zeit der Untersuchung dauerte 775 Tage. Es wurden Umweltfaktoren wie Licht und Temperatur in der Untersuchung einbezogen.[17]

Das Blut wurde von gesunden Menschen freiwillig gespendet. Es wurden mehrere Proben auf Filterpapier und Gaze sofort aufgetragen und bei 20 °C an der Luft getrocknet. Drei Proben auf Filterpapier und eine Probe auf Gaze wurden jeweils in eine Probengefäß aus Quarzglas gelegt. Die Proben auf dem Filterpapier wurden bei 25°C unter Fluoreszenz-

licht gelegt. Weitere zwölf Blutproben auf Filterpapier und acht Blutproben auf Gaze wurden bei 20°C gelagert und lagen dabei ebenfalls unter Fluoreszenzlicht gelegt. [17]

Die restlichen drei Blutproben, die auf Filterpapier aufgetragen wurden, wurden in drei Gruppen eingeteilt. Zwei Gruppen wurden in lichtundurchlässigen Behälter verpackt. Die erste der beiden Proben wurde bei 20°C in einem temperaturkontrollierten Raum gelagert. Die zweite Probe wurde ebenfalls in einem Raum, dessen Temperatur überwacht wurde, jedoch bei 40°C gelagert. Die dritte Probe wurde in einer Quarzröhre verpackt und für 268 Tage unter direktes Sonnenlicht gelegt.[17]

Die entstandenen EPR-Spektren wurden mit flüssigem Stickstoff in einem Spektrometer mit einer Feldmodulation und einer Mikrowellenleistung von 5 mW aufgezeichnet. Es wurde die Intensität jedes EPR-Signals aus der Spitzenhöhe des individuellen Signals durch die Amplitude dividiert, und somit berechnet. Die EPR-Spektren wurden täglich gemessen. [17]

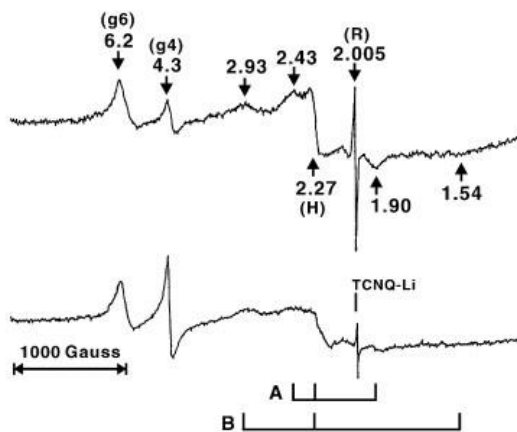


Abbildung 3 „EPR-Spektren von getrocknetem menschlichem Blut auf Filterpapier am 1.Tag (oben) und am 775 Tag (unter) nach der Extraktion“

Die Abbildung „“ zeigt die Veränderungen der EPR-Spektren von Blutprobe 1, welche auf Filterpapier aufgetragen und bei 20°C gelagert wurde. Die Abbildung stellt die EPR-Spektren des ersten Tages (obere Grafik) und des 775. Tages (untere Grafik) nach der Gewinnung der Blutproben dar. [17]

Beide Grafiken zeigen EPR Signale, die aufgrund ferrischer Bestandteile gemessen wurden. G6 hat den Wert 6,2, was bedeutet, dass es sich hierbei um eine ferrische Hämspezies handelt. G4 wiederum hat einen Wert von 4,3 und ist somit eine ferrische Nicht-Hämeisen-Spezies. G1 (2,93) und g2 (2,27) gehören zu den niedrig-spin ferrischen Hämspezies (H). G3 (1,54) und g0 (2,43) (A) gehören ebenfalls zu den niedrig-spin-Spezies. Die Gruppe B, stellt den Wert $g = 1,90$, dies stellt den nWert der Cystein-Häme-Imidazol-Konformation. Der letzte Wert ist $g = 2,005$ und die soll die freien Radikale darstellen. Bereits vor diesem Versuch analysierte das Team Blutflecken, jedoch wurden diesmal auch Blutproben, die älter als ein Jahr alt waren, untersucht. [17]

In der weiteren Abbildung, wird gezeigt, wie diese Werte aus der Abbildung „ sich im Laufe der Zeit verändern. In der Grafik sieht man, dass das g4-Signal mit der Zeit steigt, im Gegensatz zu g4, nimmt H-Wert ab. Die Graphen von G6 und R verlaufen konstant.[17]

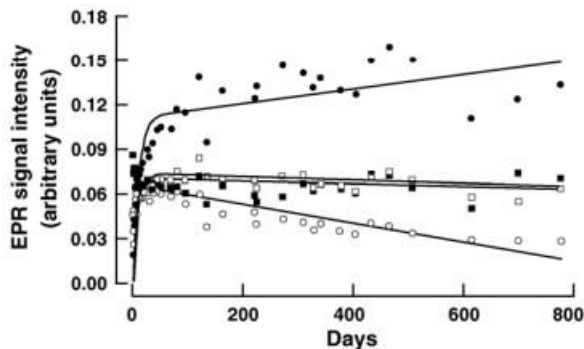


Abbildung 4 „Veränderungen der EPR-Signale bei g6,g4, H und R in Abhängigkeit von der Inkubationszeit bei 25°C“

Die Veränderungen wurden mit der folgenden Formel berechnet. Hierbei ist I die EPR-Signalintensität. A, B, C, D und E sind Konstanten und t das Alter der Blutprobe.

$$I = A \times (1 - e^{-Bt}) + C \times (1 - e^{-Dt}) + E \times t$$

Für die Berechnung der doppellogarithmischen Diagramme hat das Team die Werte von $\log(H/g4)$ und $\log(\text{Tage})$ genommen. Diese sollten am besten für die Altersschätzung der Blutspuren geeignet sein, da diese beide Werte die geringste Abweichung aufweisen, im Gegensatz zu den anderen Möglichkeiten: $R/g4$ und $g4/g6$. Die Berechnung zu den folgenden linearen Korrelationen, findet man in der folgenden Abbildung. Hier kann man paar Werte vergleichen, um zu sehen, ob das Alter richtig geschätzt wurde. Bei der Berechnung handelt es sich immer noch um die Probe 1 die auf Filterpapier aufgetragen. Zum Beispiel an Tag 133, zeigt die Abbildung geschätzte Alter von $129 \text{ Tagen} \pm 26 \text{ Tage}$. Am 432. Tag liegt das geschätzte Alter bei $488 \text{ Tagen} \pm 97 \text{ Tage}$. Nach 698 Tagen liegt das geschätzte Alter bei $835 \text{ Tagen} \pm 236 \text{ Tagen}$.

Die Methode zeigt die Abschätzung des Blutalters nach über einem Jahr, jedoch liegt der Fehlerbereich bei $\pm 25\%$ gegenüber der tatsächlichen Anzahl der Tage.

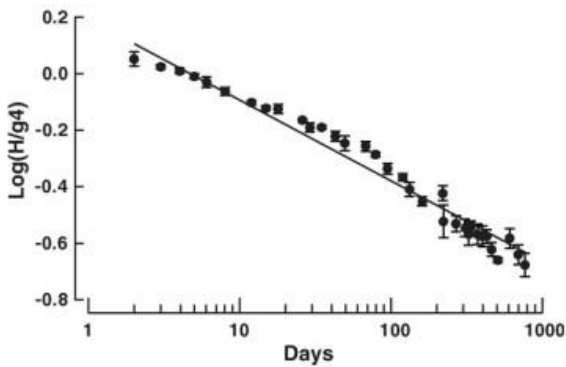


Abbildung 5 „Logarithmische Darstellung von Intensitätsverhältnisses (H/g4) der beiden unterschiedlichen EPR-Signale in Abhängigkeit vom Alter der getrockneten menschlichen Blutspuren“

Als nächstes wurden die Proben, die 649 Tage überwacht wurden, analysiert. Die Signale, die bei den Messungen entstanden sind, wurden aufgenommen und für die Analyse genutzt.

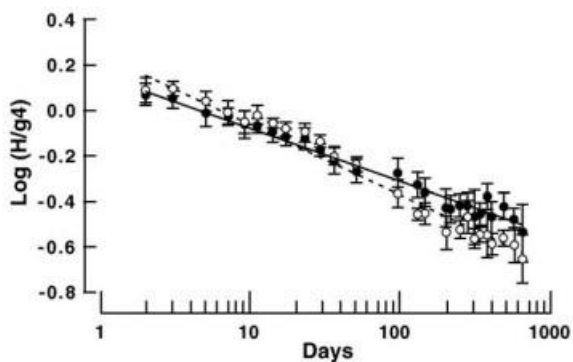


Abbildung 6 „Logarithmische Darstellung des Intensitätsverhältnisses (H/g4) der beiden unterschiedlichen EPR-Signale in Abhängigkeit vom Alter von getrocknetem menschlichem Blut auf Filterpapier“

In der folgenden Abbildung werden die Grafiken für die beiden Proben 2 und 3, die auf Filterpapier und Gaze aufgetragen wurden, dargestellt. Die approximierten Steigung in Abbildung 5 zeigt die theoretische Gleichung $[\log(\text{Tage}) = -4,30 \cdot \log(\text{H/g4}) + 0,66]$ für Filterpapier, $\log(\text{Tage}) = -3,23 \cdot \log(\text{H/g4}) + 0,80$ für Gaze. Dies weist darauf, dass die Abschätzung des Alters von menschlichen Blutproben von unterschiedlichen Materialien beeinflusst wird.

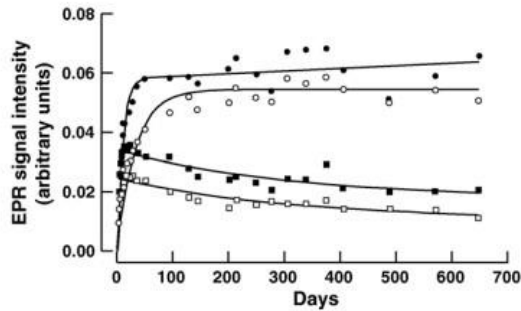


Abbildung 7 „Veränderungen der EPR-Signale bei g4 (geschlossene Kreise, Filterpapier; offene Kreise) und H (geschlossene Quadrate, Filterpapier; offene Quadrate) in Abhängigkeit von der Inkubationszeit bei 20 °C“

Die Grafik zeigt die Steigerung der Intensitäten der EPR-Signale (H), die von Niedrigspin Eisen abgeleitet werden. Außerdem stiegen die Intensitäten der EPR-Signale (g4), die von Nicht-Häm abgeleitet werden. Die Probe, die auf dem Filterpapier aufgetragen wurde, verläuft zum Schluss linear. Die Werte der Probe, die sich auf Gaze befindet, bleiben bis zum Ende konstant.

Die weiteren Proben wurden auf die Umgebungsfaktoren analysiert. Für die folgende Analyse waren die Veränderungen der EPR-Spektren von Blutspuren wichtig. Die Blutprobe lag 268 Tage unter dem Sonnenlicht.

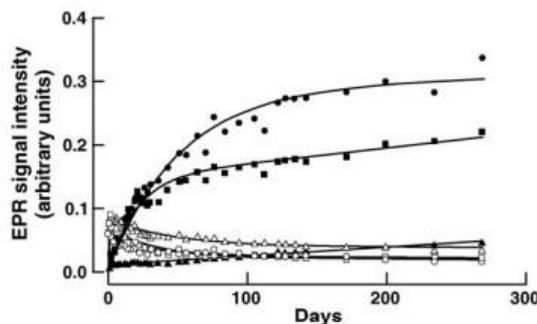


Abbildung 8 „Veränderungen der EPR-Signale bei g4 (geschlossene Dreiecke, P1; geschlossene Kreise, P2; geschlossene Quadrate, P3) und H (offene Dreiecke, P1; offene Kreise, P2; offene Quadrate, P3) in Abhängigkeit von der Inkubationszeit unter verschiedenen experimentellen Bedingungen“

Die folgende Abbildung zeigt, dass die Erhöhung der Lagertemperatur und das Sonnenlicht zu einer Vergrößerung der EPR-Signalintensität von Nicht-Häm-Eisen (g4) im Vergleich zu Probe 1 (20 °C, im Dunkeln) führt. Anschließend erkennt man, dass der Abbau des Niedrigspin-Hämkomplexes (Signal H) durch die erhöhte Temperatur und die Sonnenlichtexposition verstärkt wird. Diese Bedingungen führten dazu, dass das doppellogarithmische Diagramm von H/g4 gegen die Tage seit der Blutung eine klare Korrelation vorweist. Die Gleichung von der ersten Probe: $\log(H/g4) = -0,48 \cdot \log(\text{Tage}) + 1,23$, $r^2 = 0,90$; für die zweite Probe: $\log(H/g4) = -0,71 \cdot \log(\text{Tage}) + 0,46$, $r^2 = 0,99$; für die dritte Probe: $\log(H/g4) = -0,72 \cdot \log(\text{Tage}) + 0,61$, $r^2 = 0,97$. R^2 steht für die lineare Korrelation.

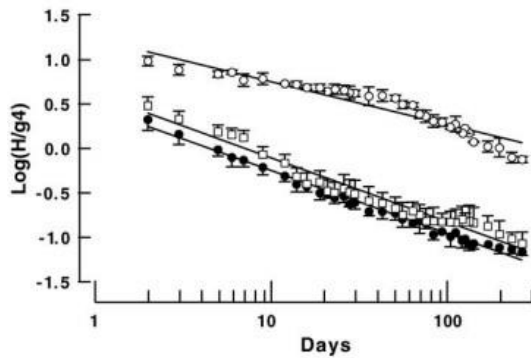


Abbildung 9 „Logarithmische Darstellung des Intensitätsverhältnisses (H/g4) der beiden unterschiedlichen EPR-Signale in Abhängigkeit vom Alter von getrocknetem menschlichem Blut auf Filterpapier, das bei 20 °C im Dunkeln aufbewahrt wurde“

Altersschätzung von Blutspuren durch Bestimmung der Hämoglobin-Derivate mittels Reflexionsspektroskopie (2010) [13]

Reflexionsspektroskopie

Für das Verständnis der Methode der Altersbestimmung von Blutspuren sind Kenntnisse zur Funktionsweise der Reflexionsspektroskopie erforderlich. Die Reflexionsspektroskopie ist ein Teilgebiet der Spektroskopie, die reflektierte Strahlen misst. Wissenschaftler nutzen diese Form der Spektroskopie, um lichtundurchlässige und / oder unlösliche Proben zu untersuchen. Bei der Reflexion werden zwei Fälle unterschieden. Bei einer ideal glatten Oberfläche wird der einfallende Lichtstrahl gespiegelt und verlässt die Oberfläche in einer Richtung. Dies wird als reguläre Reflexion bezeichnet. Bei einer unregelmäßigen Oberfläche dringt die Strahlung in die Probe ein, wird teilweise absorbiert und mehrfach gestreut und schließlich in alle Richtungen reflektiert (diffuse Reflexion).

Die Lichtstrahlen treffen bei der Altersbestimmung von Blutspuren auf die zu untersuchende Objektoberfläche, wobei ein Teil der Strahlung reflektiert wird. Für das Ausmaß der Reflexion spielt die Färbung des Untergrunds eine zentrale Rolle; helle Farben reflektieren mehr Strahlung als dunkle Farben. Die Funktionsweise der Reflexionsspektroskopie unterscheidet sich je nach Gerät.

Die Messungen bei der Reflexionsspektroskopie erfolgen mit Spektralphotometern. Für die Messungen wird die Reflexion der Probe mit der Reflexion eines Standards (Weißstandard (MgO), Milchglas) verglichen. Zur Vermeidung des Einflusses des Einfallswinkels der Strahlung auf die Reflexion wird die Probe mit einer Photometerkugel beleuchtet, die innen mit einem reflektierenden weißen Belag (MgO) beschichtet ist. Das reflektierte Licht wird mit Hilfe einer Photozelle detektiert. Aufgrund der unterschiedlichen Reflexion von Licht verschiedener Wellenlänge erfolgt eine spektrale Zerlegung des reflektierten Lichtes, so dass ein Reflexionsspektrum entsteht. [26]

Die folgende Methode wurde von Bremmer et al. entwickelt. Mit dem Verfahren sollen die zu verschiedenen Zeitpunkten auftretenden Zustände des Hämoglobins (siehe Kapitel 2.7) in einer Blutspur nachgewiesen werden. Aus den Anteilen dieser Zustände ist das Blutalter ableitbar. Die Untersuchungen der Arbeitsgruppe um Bremmer basieren auf der Lichttransporttheorie, wonach sich chemische Veränderungen in den Blutspuren anhand spektroskopischer Veränderungen nachweisen lassen. Insgesamt waren es 40 Blutspuren, 20 davon wurden im externen Labor analysiert, mit den anderen 20 wurden Experimente durchgeführt. Die Untersuchung ergab einen Zusammenhang zwischen der chemischen Struktur der Blutspur und dem Alter. [13]

Bei den Versuchen wurde die diffuse Reflexionsspektroskopie (DRS) zur Bestimmung des Blutalters benutzt. Die DRS ermöglicht eine detaillierte Analyse des Blutes anhand seiner optischen Eigenschaften. Bei der Verwendung der modernen DRS-Technik werden die Chromophore der Blutflecken durch sogenannte Mehrkomponenten-Spektralanpassungen (multi-component spectral fits) quantifiziert. Mit Hilfe der DRS lassen sich die chemischen Prozesse in den Blutspuren nachvollziehen. In ihrer Studie stellte das Team um Bremmer die Forschungsfrage, ob es möglich ist über die Bestimmung der Anteile der verschiedenen Hämoglobin-Derivate unter kontrollierten Umweltbedingungen das Alter der Blutspur einzuschätzen. [13]

Das Blut stammte von acht gesunden Männern. Das entnommene Blut (5 ml) wurde auf zwei Röhrchen aufgeteilt. Eines der Röhrchen enthielt Antikoagulans. Aus dieser Probe wurde der Hämatokrit bestimmt. Dieser lag bei 44 ± 2 %. Mit dem Blut aus dem zweiten Röhrchen ohne Antikoagulans wurden fünf Blutspuren pro Spender auf weißer Baumwolle erstellt. Der Spurendurchmesser betrug 21 ± 4 mm. Zwischen der Blutentnahme und der Erstellung der Blutspur lagen etwa 15 Sekunden. Die Temperatur im Labor betrug $22,3$ °C. [13]

Die Untersuchung erfolgte mit Hilfe der nicht kontaktierenden DRS. Für die Messung wurde eine Wolfram-Halogen-Lichtquelle und einer Reflexionssonde in fester Position aus sechs Lieferfasern mit einem Kern-Durchmesser von $400 \mu\text{m}$ verwendet. Der Durchmesser des Beleuchtungsflecks betrug 5 mm. Für die Erstellung einer Referenz (R_0) erfolgte eine Messung der Reflektanz des weißen Baumwollstoffes ohne Blutspur. Danach wurde die Reflektanz der Blutspur (R) gemessen. Für die Datenanalyse wurde das Differenz zwischen R und R_0 berechnet (Reflektanzsignal). Die Reflektanzsignale der 40 Blutspuren wurden über einen Zeitraum von 60 Tagen bestimmt. Insgesamt wurden so 1412 Reflektanzspektren erhoben. In den ersten 10 Tagen erfolgten die Messungen mindestens einmal pro Tag. Dann wurde alle 2 Tagen gemessen und ab der 4. Woche einmal pro Woche. [13]

Für die Datenanalyse verwendeten die Autoren die Zwei-Fluss-Lösung der allgemeinen Strahlungstransporttheorie, die diffuse Reflexionssignale (siehe oben) beschreibt. Außerdem werden mit Hilfe dieser Theorie, die Absorptions- und Streukoeffizienten der Kubelka-Munk-Theorie mit der Transporttheorie verbunden. Für eine solche Analyse sollten die

Proben drei Eigenschaften – Inhomogenität, geringe Probendicke, diffuses Lichtfeld besitzen. Blutspuren erfüllen diese Voraussetzungen. Das Hämoglobin ist ausschließlich in den roten Blutkörperchen enthalten. Der Durchmesser der Zellen ist deutlich geringer als die Dicke der Blutspur. Außerdem wurde die Blutspur auf einem diffusen reflektierenden Hintergrund (Baumwolle) aufgetragen. [13]

Anhand der theoretischen Überlegungen wurde eine Formel erstellt, um die Probandaten zu analysieren. Für die Bestimmung der Anteile von HbO₂, MetHb und HC (siehe Kapitel 2.9) in der Blutspur wurde ein Linear-least-Square- Algorithmus (LLS) erstellt. Die Reflexionssignale von Blutspuren liegen im Bereich von 450–800 nm. Die drei Hämoglobin-Zustände dienen als Eingabe bei dem LLS-Algorithmus. Zwischen dem Reflexionssignal und dem LLS-Algorithmus besteht eine hohe Korrelation. Eine schlechte Korrelation würde bedeuten, dass einer der Zustände überkompensiert wird, was zu fehlerhaften Ergebnissen führen könnte. Um dies zu vermeiden, wurde ein Qualitätstest zwischen den Rohdaten und den Daten nach der Anpassung durchgeführt. Bei dem von der Arbeitsgruppe um Bremmer benutzten LLS-Algorithmus lag der Korrelationskoeffizient R² höher als 0,98, was einer exzellenten Korrelation entspricht. [13]

Die 40 Blutspuren wurden zu gleichen Teilen aufgeteilt. 20 Spuren von vier Spendern wurden mittels Labor-Blutstain-Kalibrationskinetik analysiert und 20 Blutspuren der anderen vier Spendern mittels DRS durch die Arbeitsgruppe um Bremmer. Die Werte der 20 Spuren, die im Labor untersucht wurden, wurden als Standard verwendet. Die mit den beiden Methoden ermittelten Werte der drei Hämoglobinzustände wurden miteinander verglichen.[13]

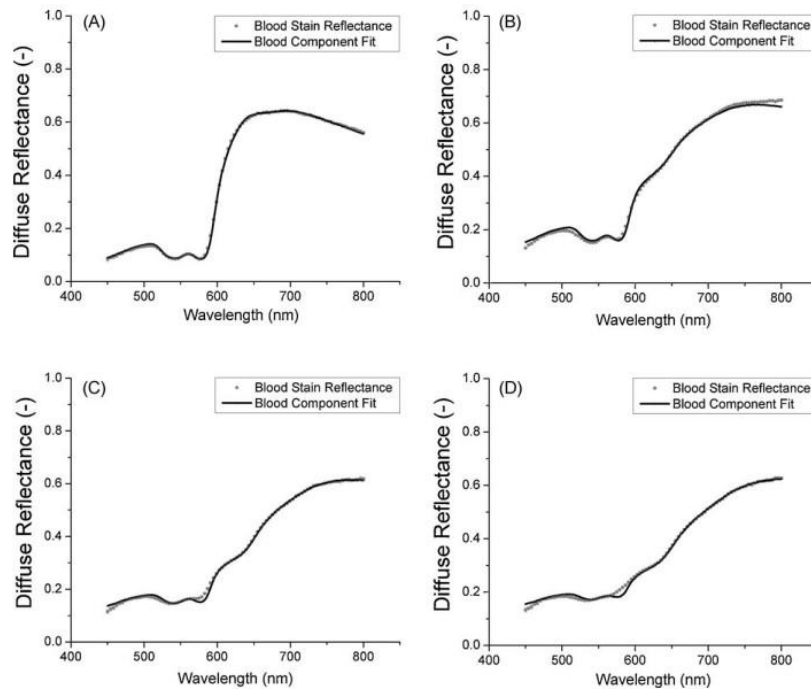


Abbildung 10 „Vier typische Reflektionsmessungen von Blutflecken. (A) Alter = 1 Stunde; (B) Alter = 1 Tag; (C) Alter = 7 Tage; (D) Alter = 63 Tage. Die grauen Punkte sind das aufgezeichnete Reflektionsspektrum, die durchgezogene schwarze Linie ist die Anpassung an die Blutkomponente“

In Abbildung 10 sind vier Reflexionsspektren der Blutspuren zu unterschiedlichen Zeitpunkten dargestellt. Das Diagramm links oben zeigt das Reflexionsspektren nach 1 Stunde. In dem Spektrum sind deutliche Minima bei 540 nm und 576 nm erkennbar. Der steile Anstieg zwischen 600 und 650 nm weist auf das Fehlen von MetHb und HC hin. Im Diagramm rechts oben ist die Blutspur 1 Tag alt. Anhand des Reflexionsspektrums ist erkennbar, dass HC entstanden ist. Die Minima werden immer kleiner (Abnahme von HbO₂) und der Anstieg im höheren Wellenlängenbereich ist weniger steil. Mit zunehmender Zeitdauer (links unten Tag 7, rechts unten Tag 63) verstärken sich diese Effekte. [13]

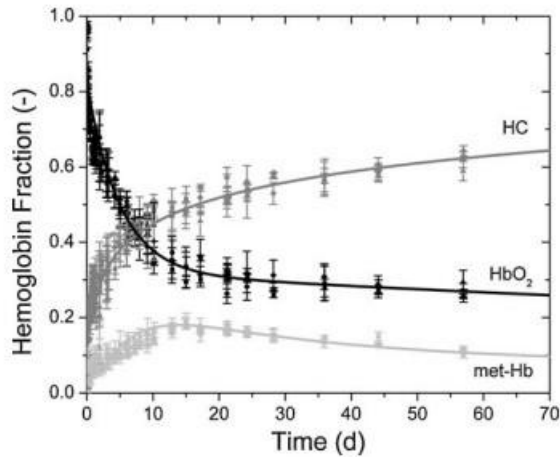


Abbildung 11 „Durchschnittliche Anteile von HbO₂, Met-Hb und HC für 20 Blutflecken aus dem Trainingsdatensatz.“

Abbildung 11 stellt die die Anteile der Hämoglobin-Zustände im zeitlichen Verlauf dar. Das HbO₂ macht zu Beginn den größten Anteil aus und nimmt mit der Zeit deutlich ab. Parallel dazu entsteht MetHb und HC. Der Übergang von HbO₂ zu MetHb und HC geschieht zunächst sehr schnell, die Geschwindigkeit der Umsetzung nimmt jedoch mit der Zeit ab. Der Anteil von MetHb ist geringer als der HC-Anteil. Der MetHb-Anteil erreicht mit circa 20 % nach etwa 15 Tagen ein Maximum und nimmt danach stetig ab. Nach einer gewissen Zeit bleiben die Anteile der drei Hämoglobin-Zustände konstant. Damit wird HbO₂ ausschließlich zu MetHb und anschließend zu HC umgewandelt; andere Zustände gibt es nicht. Durch den Vergleich der Verfahren (Labor-Blutstain-Kalibrationskinetik vs. DRS im Labor) wurde festgestellt, dass die biologische Variation und Messungenauigkeiten zu fehlerhaften Werten führen kann. Abbildung 12 zeigt die Abweichung der geschätzten Werte vom echten Alter. Beispielsweise variieren bei der 3 Tage alten Blutspur die geschätzten Alterswerte zwischen 1,5 und 6 Tage. Bei der 35 Tage alten Blutspur reicht das geschätzte Alter von 25 bis 55 Tage. [13]

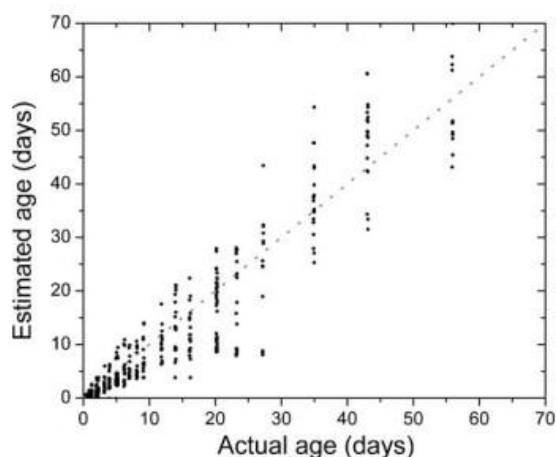


Abbildung 12 „Die Abweichungen der geschätzten Werte vom echten Alter „

Die Schätzung des Alters einer Blutspur mithilfe der Reflexionsspektroskopie mit einem Mikrospektrophotometer, spektraler Vorverarbeitung und linearer Diskriminanzanalyse. (2011) [19]

Das Team von Li untersucht im Jahr 2011 eine weitere Methode, um das Alter der Blutspuren zu bestimmen. Für die Messungen erstellte das Team eine neue, nicht-destruktive Methode. Innerhalb dieser Studie werden mittels Mikrospektrometer, auch MSP genannt, die Hämoglobinzustände untersucht. Hier wurden die Wellenlängen zwischen 442 nm und 585 nm verwendet. Für die Versuche wurde Pferdeblut verwendet, da dies dem menschlichen Blut in seinen Eigenschaften ähnelt. Aus den rechtlichen Gründen kann man das menschliche Blut nicht für langzeitversuche nutzen. Die Blutproben wurden auf weiße Fliesen aufgetragen und im Zeitraum von 1 bis 37 Tagen kontrolliert. [19]

Aufgrund von Feiertagen und Wochenenden wurden nur 26 Aufzeichnungen gemacht. Um die Proben auswerten zu können, werden zwei Merkmalsauswahlmethoden genutzt. Diese basieren auf der Fischer-Gewichts-Methode und der Fourier-Transformation (FT). Dies wird dazu genutzt, um eine lineare Diskriminanzanalyse (LDA) zu erstellen. Mit Hilfe linearen Diskriminanzanalyse wurden Trainings und Testdatensätze erstellt. Die Klassifikationsrate (CCR) betrug 91,5 % für 20 Eingangsfrequenzen. Das statistische Klassifikationsmodell (LDA) wurde verwendet, um die Genauigkeit der Altersbestimmung von Blutflecken zwischen 1 und 37 Tagen mithilfe von Leave-one-out-Kreuzvalidierung zu testen. [19]

Die Proben wurden bei einer Temperatur von 22°C und Luftfeuchtigkeit von etwa 40% gelagert. Für die Ablagerung wurde ein Substrat angewendet. Für den Vergleich wurden zwei separate Blutspuren auf den weißen glatten Fliesen erzeugt. Es gab die Möglichkeit, eine Blutspur für den Trainingsdatensatz zu verwenden, den man für die Erstellung der Spektren nutzte. Die andere Blutprobe wurde für den Testdatensatz benutzt, die eine Erstellung eines Testdatensatzes des Spektrums ermöglicht. Diese Blutspuren wurden mit einer anderen Probe von dem Pferdeblut als die anderen Proben erstellt. [19]

Für die Untersuchungen wurde ein MSP aus einem Olympus BX51 Mikroskop, das an ein Spektrometer gekoppelt war, benutzt. Der Spektrometer verfügte Reflektionsspektren im Wellenlängenbereich von 380 bis 780 nm. Jede Blutprobe hatte 10 Reflektionsspektren von bestimmten Stellen, welche als Trainingsdatensatz für die Spektren dienten. Von einer weiteren Blutprobe wurden 10 Reflektionsspektren für den Testdatensatz gesammelt. [19]

Die Rauheit und Dicke der Blutflecken auf der Probestelle unterscheidet sich immer und wieder, weshalb geeignete Vorverarbeitungstechniken notwendig sind. Dies hilft auch die Unterschiede zwischen den Reflektionsspektren von Blutproben gleichen Alters zu minimieren. Die Umweltfaktoren sind die häufigste Ursache für Unterschiede zwischen Spektren gleichen. [19]

Für die LDA werden Trainingsdaten benötigt, die dazu dienen ein statistisches Klassifikationsmodell zu erstellen. Jede Funktion in LDA hat Merkmale als ausgewählte Variable. [19]

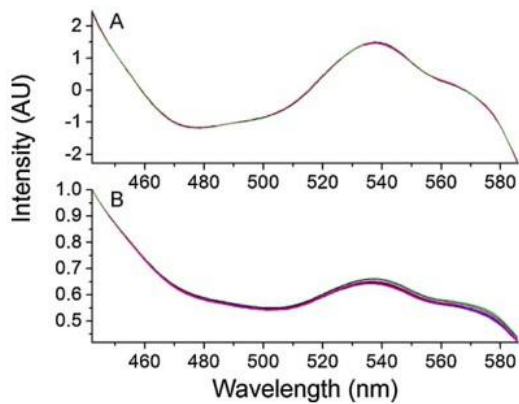


Abbildung 13 „Reflexionsspektren von einem 8 Tage alten Blutfleck (a) mit Vorverarbeitung und (b) ohne Vorverarbeitung“

In der Abbildung 13 sieht man die Ergebnisse der Vorverarbeitung der Proben. Die untere Grafik zeigt die rohen Reflexionsspektren, die von 10 ausgewählten Stellen aus einer Blutprobe nach 8 Tagen aufgenommen wurden. Die obere Grafik, zeigt die bearbeitete Version. Es sind große Unterschiede in dem Bereich der a- und b- Bänder zu sehen. Mit der Verarbeitung der Daten, ist es einfacher das Alter des Blutfleckes zu ermitteln. Für die Erstellung der Grafik, wurde folgende Funktion benutzt. [19]

$$y(x_i) = a(x_i) + b(x_i) + \varepsilon_i$$

Für die weiteren Untersuchungen wurde die Fischer-Methode verwendet. Die Fischer-Methode ist ein kombinierter Wahrscheinlichkeitstest. Diese wird für unabhängige Teststatistiken benutzt. [19]

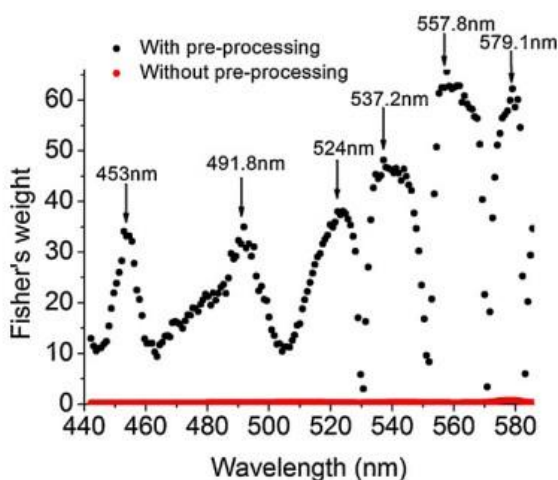


Abbildung 14 „Die Fisher-Gewichte in Abhängigkeit von der Wellenlänge für Spektren mit und ohne Vorverarbeitung. „

Die Abbildung 14 zeigt auf der y-Achse die Fischer-Gewichte. Diese wurden vorherberechnet und in dieser Grafik dargestellt. Auf der x-Achse sind die Wellenlängen zu sehen. Die Grafik zeigt die Abhängigkeit der Fischer-Gewichte von den Wellenlängen. In der Abbildung sind beide Varianten vorhanden, einmal ohne Bearbeitung (rot) und einmal mit. Man erkennt, dass die Werte der Gruppe ohne Vorverarbeitung kleiner als 1 sind und es somit schwer ist die Merkmale im Diagramm zu erkennen. In der Abbildung sieht man bei der Gruppe mit der Verarbeitung, 20 Werte, die für die weitere Studie wichtig sind. [19]

Die nächste Merkmalsauswahl war die Fourier-Transformation Methode. Diese für jedes Spektrum als Methode der Merkmalsauswahl angewendet. Die Transformation führte dazu, dass 175 Frequenzen berechnet wurden. Es sollte nicht unerwähnt bleiben, dass es in jedem Datensatz 260 Spektren gab (10 Spektren * 26 Tage). Dies bedeutet, dass in jedem Diskriminanzmodell höchstens 86 Frequenzen verwendet werden können. Ein Vorteil der FT-Methode zur Merkmalsauswahl besteht darin, dass die Variablen nach der Fourier-Transformation unkorreliert sind. Im Gegensatz zu Fischer-Methode, muss keine besondere Sorgfalt angewendet werden, wenn bestimmte Frequenzen ausgewählt werden. [19]

Die beiden Methoden wurden benutzt, um deren Ergebnisse später für die LDA-Modelle zu nutzen. LDA-Modelle wurden verwendet, um das Alter eines Spektrums eines Blutflecks vorherzusagen, indem die Leave-One-Out-Kreuzvalidierung verwendet wurde. Diese Methode beinhaltet die Verwendung einer einzelnen Beobachtung aus dem ursprünglichen Datensatz, um eine Funktion zu testen, die auf Grundlage der Trainingsdaten berechnet wurde. Daher wurden in den ersten Experimenten die Trainings- und Testdatensätze aus demselben Blutfleck gewonnen. Dies wird oft bei der Leave-One-Out-Kreuzvalidierung gemacht. [19]

Für das erste LDA-Modell wurden die 20 Wellenlänge aus der Abbildung 15 genommen. Die Ausgabe des LDA-Modells erfolgt in Form einer korrekten Klassifizierungsrate (CCR) für jeden Tag. Die Gesamt-CCR nach der Leave-One-Out-Kreuzvalidierung für alle Proben betrug 91,5%, und wenn die Fehlertoleranz einen Tag beträgt, erhöht sich die CCR auf 96,9 %. [19]

Die meisten falsch klassifizierten Fälle wurden nach 23 Tagen gefunden. Die Gesamt-CCR war ähnlich wie die, die durch die Methode der Fisher-Gewichte erhalten wurde. [19]

Da die beiden vorherigen Methoden aus einer Blutprobe stammen, kann es dazukommen, dass diese Untersuchungen nicht akzeptiert werden. Aus diesem Grund führte das Team nochmal einen Test mit der separaten Blutprobe. Bei der separaten Blutprobe wurde der Test mit Fischer-Methode durchgeführt. Es kam zu dem Ergebnis, dass der CCR-Wert viel schlechter abschneidet als bei den anderen Proben. Der Wert betrug 31,5 %. Für die Berechnung des durchschnittlichen Gesamtfehler wurde, folgende Gleichung verwendet. Die D_{act} zeigt das tatsächliche Alter des Blutflecks und D_{pred} das vorhersagte Alter. Die Variable F steht für den Anteil der Proben in jeder vorhergesagten Gruppe. [19]

$$\Delta Err = \sum |D_{act} - D_{pred}| \times F$$

Es wurde festgestellt, dass die CCR nach 19 Tagen schlechter wird. Die Berechnung von CCR wurden in zwei Teile aufgeteilt. Der erste Teil zeigt den CCR-Wert zwischen dem ersten und 19. Tag, während der zweite Teil den CCR-Wert zwischen dem 23. Und 37. Tag zeigt.[19]

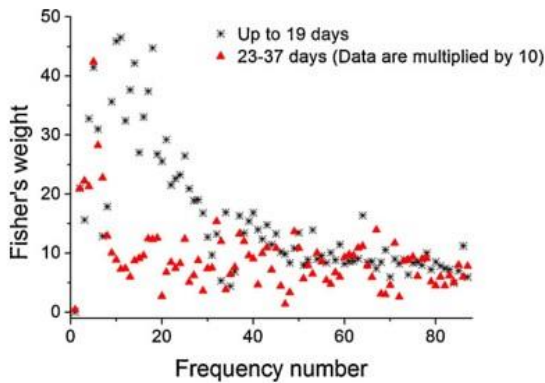


Abbildung 15 „Die Fisher-Gewichte in Abhängigkeit von der Frequenznummer für Blutflecken (1–19 Tage) und (23–37 Tage)“

Die Abbildung 15 stellt die Fisher-Gewichtswerte in Abhängigkeit der zunehmenden Häufigkeit der beiden Gruppen dar. Blau symbolisiert die Gruppe von bis zu 19 Tagen und rot die Gruppe zwischen 23 und 27 Tagen. Auf der x-Achse sind die Frequenznummern der Gruppen erkennbar. Die y-Achse stellt die Fisher-Gewichte dar. In der Abbildung 15 sieht man, dass die älteren Blutflecken, eine schnellere Steigerungs- und Abnahmerate haben. [19]

Entwicklung einer Smartphone-App zur Blutaltersbestimmung (2017) [15]

Eine Studentin der Hochschule Mittweida hat 2017 eine App entwickelt, mit deren Hilfe das Alter von Blutspuren bestimmt werden soll. Für die Entwicklung der App wurde menschliches Blut auf unterschiedlichen Flächen (Stoff, Papier, Holz, Glas) übertragen und analysiert. Für die Oberflächen Stoff, Holz und Glas wurden drei Blutproben untersucht. Die erste Probe wurde zwei Tage vor Testbeginn auf die Oberflächen aufgetragen, die zweite Probe ein Tag vor Testbeginn und die dritte zwei Stunden vor Testbeginn. Die Blutproben wurden im Labor bei ca. 25° C gelagert. Die Bilder wurden mit einem Smartphone Sony aufgenommen. Der Abstand zwischen der Kamera und der Blutprobe betrug 8 cm. [15]

Die App wurde auf einem Android-Gerät installiert. Die App enthielt eine Funktion zur Wahl des Untergrundes, da dieser Parameter die Färbung (Magenta-Werte) und damit die

Altersschätzung beeinflusst. Die App wurde so konzipiert, dass weitere Untergründe ergänzt werden können. Die Bilder mit den Blutspuren wurden in die App transferiert und dort auf eine Größe von 200 x 200 Pixel geschnitten, um einen besseren Überblick zu erhalten. Mit der Vergrößerung ließen sich die dunklen Ränder und die Oberfläche, auf die die Blutspuren aufgetragen wurden, besser analysieren. Die App wurde mit der Programmiersprache Java erstellt. [15]

Eine weitere wichtige Eigenschaft der App war die Möglichkeit der Berechnung des Blutalters. Diese Berechnung findet parallel zur Auswahl des Untergrundes statt. Für dieses Feature wurde die Java-Klasse „Utils.java“ erstellt, die ist mit der Activity „SelectSurface.java“ verbunden war. Wie erwähnt, erfolgte die Berechnung mit dem zugeschnittenen Bild. Außerdem wurde für die Berechnung die Methode „getMagenta“ verwendet, die ein Bestandteil der for-Schleife war. Bei der for-Schleife erhöhte sich jeder Pixel. Für jedes Pixel des Bildes wurde der Magenta-Anteil bestimmt. Die Werte wurden deklariert, um die Möglichkeit zu erschaffen, die Gleitkommazahl als Ausgabewert zu auszugeben. Diese Methode basiert auf dem Rot-Grün-Blau-(RGB)-Farbraum. Die Anteile der Farben wurden als Byte kodiert, wodurch 255 Werte entstanden sind. Bei dem Cyan-Magenta-Yellow-Key-(CMYK)-Farbmodell gibt es keine Werte zwischen 0 bis 255, sondern nur Prozentwerte. Um die prozentualen Werte zu erhalten, werden die Grundfarben (Cyan, Magenta, Yellow) vor Beginn der for-Schleife jeweils durch den Wert 255 geteilt (siehe Abbildung 16). Mit der folgenden Formel lässt sich der Wert der schwarzen Farbe (Key) in Java berechnen. [15]

$$\text{double } k = 1.0 - \text{Math.max}(r, \text{Math.max}(g, b));$$

Über eine weitere Formel wurde der Magenta-Anteil im Bild bestimmt:

$$\text{double } m = (1.0 - g - k) / (1 - k);$$

```
double getMagenta(Bitmap currentBitmap){
    //Bitmap currentBitmap = BitmapFactory.decodeFile(photoPath);

    double magentaValue = 0;

    for (int y = 0; y < currentBitmap.getHeight(); y++){
        for (int x = 0; x < currentBitmap.getWidth(); x++){
            int rgb = currentBitmap.getPixel(x, y);

            double r = Color.red(rgb) /255.0;
            double g = Color.green(rgb) /255.0;
            double b = Color.blue(rgb) /255.0;

            double k = 1.0 - Math.max(r, Math.max(g, b));
            double m = (1.0 - g - k) / (1.0 -k);

            magentaValue += m;
        }
    }

    magentaValue = magentaValue / (currentBitmap.getWidth() * currentBitmap.getHeight());
    Log.d("magenta",magentaValue+"");
    return magentaValue;
}
```

Abbildung 16 „Beginn der for-Schleife, Teilung durch 255“

Die in die App programmierten Oberflächen wurden mit switchcase-Anweisungen in der Klasse Util.java hingefügt. Anschließend wurden die Farbanteile mit den Zeitbereichen verbunden (siehe Abbildung 17). Diese Zeitintervalle werden in den if-Anweisungen so programmiert, dass sie mit dem vorher berechneten Magenta-Durchschnittswert verglichen wurden. Als Ergebnis wurde das mögliche Blutalter in Stunden oder Tagen ausgegeben (siehe Abbildung 18). [15]

```
String comparison(String surface, double magentaValue){
    String result = "";
    switch (surface) {
        case "Cotton":
            if (magentaValue >= 0.6 && magentaValue <= 1) {
                result = "The estimated age of the blood trail is: 0-1h";
            } else if (magentaValue >= 0.4 && magentaValue <= 0.59) {
                result = "The estimated age of the blood trail is: 1-2h";
            } else if (magentaValue >= 0.3 && magentaValue <= 0.39) {
                result = "The estimated age of the blood trail is: 2-3h";
            } else if (magentaValue >= 0.2 && magentaValue <= 0.29) {
                result = "The estimated age of the blood trail is: 3h - 2 days";
            } else if (magentaValue >= 0 && magentaValue <= 0.19) {
                result = "The estimated age of the blood trail is: 3 days or older";
            } else {
                result = "determination not possible";
            }
        return result;
    }
}
```

Abbildung 17 „switch-Anweisungen“

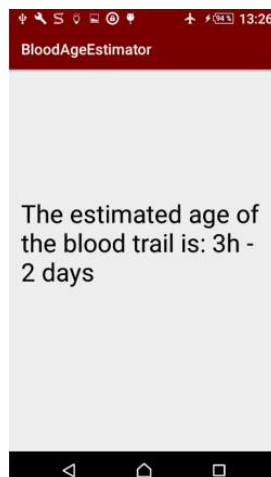


Abbildung 18 „Das Ergebnis der App, das geschätzte Alter der Blutprobe“

In der Arbeit von Frau Stark wurden die Blutproben auf verschiedenen Oberflächen aufgetragen, um mögliche Unterschiede zu detektieren (siehe Abbildung 18). Deutlich wurde, dass Blutflecken auf unterschiedlichen Oberflächen unterschiedlich schnell altern. Bei den Oberflächen Holz oder Baumwolle dringt das Blut schnell in die Fasern ein, wodurch der Trocknungsprozess schneller abläuft. Auf allen Oberflächen wechselt die Farbe des Blutes von hellrot über braun bis schwarz. [15]

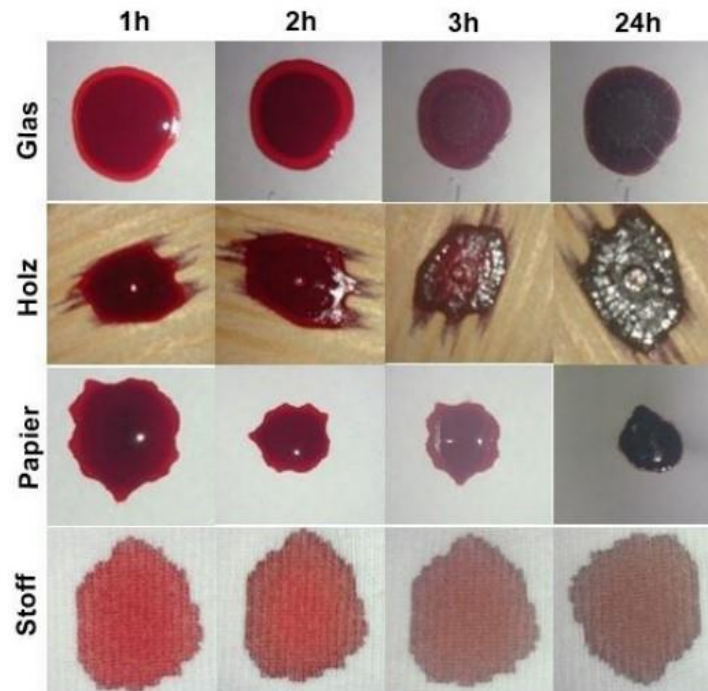


Abbildung 19 „Blutproben auf verschiedenen Oberflächen in den ersten 24 Stunden“

Die in Abbildung 19 dargestellten Oberflächen wurden von der Studentin genutzt, um die App zu programmieren. Die Untersuchung ergab unterschiedliche Reflektionswerte bei den Aufnahmen des Blutes auf verschiedenen Untergründen. [15]

Als nächstes hat die Studentin die prozentualen Anteile der Sättigung und der Helligkeit für eine Farbqualität auf den Untergründen Stoff und Glas bestimmt (siehe Abbildung 20 und 21) Die Helligkeit steht dafür, ob das Objekt hell oder dunkel ist.[15]

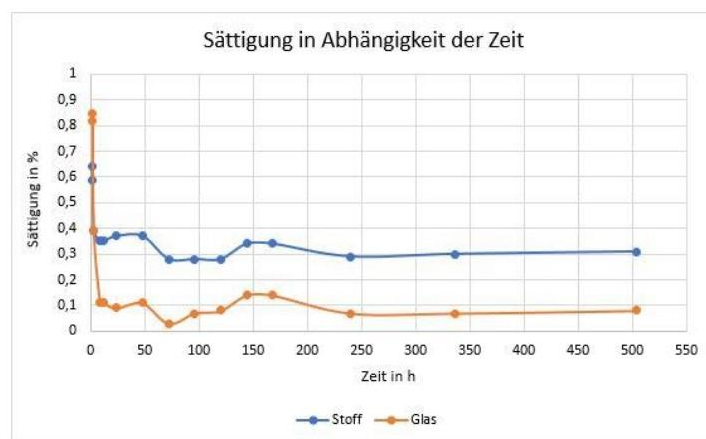


Abbildung 20 „Sättigung in Abhängigkeit der Zeit“

In Abbildung 20 ist zu erkennen man, dass die Sättigungswerte beim Glas am Anfang viel höher lagen als beim Stoff. Die Sättigungswerte sanken, aber beim Glas nach wenigen Stunden ab. Die Abnahme der Sättigungswerte war beim Stoff deutlich geringer, so dass

bei den späteren Zeitpunkten höhere Sättigungswerte als beim Glas nachgewiesen wurden. Fast über den gesamten Zeitraum betragen die Sättigungswerte beim Glas 30 % und beim Stoff etwa 8 %. [15]

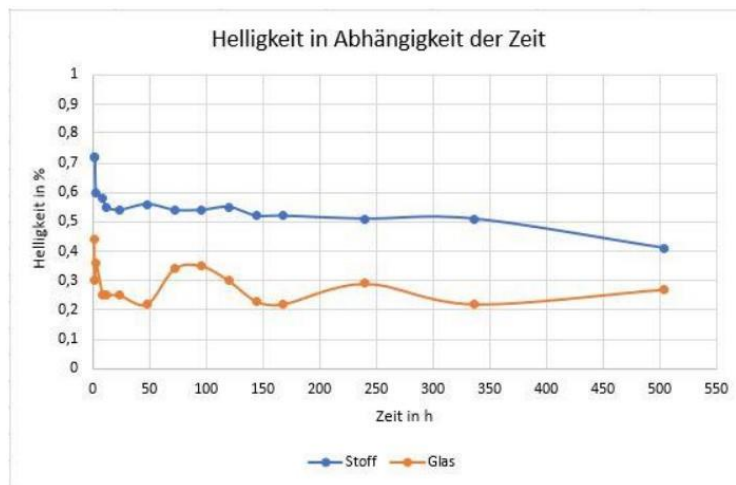


Abbildung 21 „Helligkeit in Abhängigkeit der Zeit“

Die Analyse der Helligkeit ergab für den Stoff als Untergrund im Vergleich zu Glas als Untergrund höhere Werte im gesamten Messzeitraum (siehe Abbildung 21). [15]

Weiter wurden die Magenta-Werte in Abhängigkeit der Zeit für alle Oberflächen ausgerechnet. Für diese Berechnungen wurde das CMYK-Farbmodell benutzt (siehe Abbildung 22). [15]

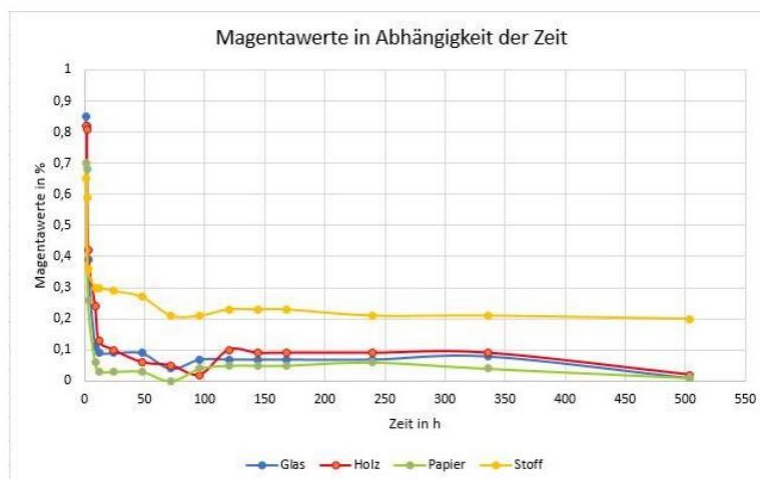


Abbildung 22 „Magentawerte in Abhängigkeit der Zeit auf verschiedenen Oberflächen“

Die Magenta-Werte entwickelten sich im Zeitverlauf auf allen Oberflächen ähnlich bei unterschiedlichen Anfangswerten (siehe Abbildung 22). Die größten Veränderungen geschahen in den ersten 24 Stunden; nach 72–96 Stunden waren nur noch kleine Veränderungen erkennbar. Nach mehr als 96 Stunden blieben die Magenta-Werte auf allen Oberflächen weitgehend konstant. Nach der Berechnung war der Magenta-Wert auf Papier

nach drei Wochen auf 0 % gefallen (siehe Abbildung 23). Die Werte werden in der App für die jeweiligen Oberflächen benutzt und es ist möglich diese für weitere App-Entwicklungen verwendet werden. [15]

Glas	
<u>Magentawerte in %</u>	100-85 84-50 49-20 19-10 9-5 4-0
Zeitspanne	0-1h 1-2h 2-3h 3-9h 9-48h 3d oder älter

Baumwolle	
<u>Magentawerte in %</u>	100-60 59-40 39-30 29-20 19-0
Zeitspanne	0-1h 1-2h 2-3h 3h-2d 3d oder älter

Papier	
<u>Magentawerte in %</u>	100-50 49-20 19-5 4-2 2-0
Zeitspanne	1-2h 2-3h 3-9h 1-2d 3d oder älter

Holz	
<u>Magentawerte in %</u>	100-60 59-30 29-20 19-10 9-5 4-0
Zeitspanne	1-2h 2-3h 3-9h 9-24h 1-3d 3d oder älter

Abbildung 23 „Magentawerte in % für Glas, Baumwolle, Papier und Holz“

Laut den Versuchen konnte die App das Alter frischer Blutproben richtig einschätzen (siehe Abbildung 24). Für die 1 Tag alten Proben gab die App nur Zeitintervalle an. Beim Untergrund Stoff lag das Zeitintervall zwischen 3 Stunden und 2 Tage, beim Glas betrug die Zeitspanne zwischen 9 und 48 Stunden und beim Holz zwischen 3 und 9 Stunden. Problematisch waren die Messergebnisse der älteren Blutproben, die durchweg zu alt eingeschätzt wurden.[15]

Untergrund	Probe 1	Probe 2	Probe 3
Baumwolle	Tatsächliches Alter: 2 Tage (angelegt am 09.08.2017)	Tatsächliches Alter: 1 Tag (angelegt am 10.08.2017)	Tatsächliches Alter: 2 Stunden (angelegt am 11.08.2017 um 9.00 Uhr)
	Von der App geschätztes Alter: 3 Tage oder älter	Von der App geschätztes Alter: 3h – 2 Tage	Von der App geschätztes Alter: 2-3h
Glas	Tatsächliches Alter: 2 Tage (angelegt am 09.08.2017)	Tatsächliches Alter: 1 Tag (angelegt am 10.08.2017)	Tatsächliches Alter: 2 Stunden (angelegt am 11.08.2017 um 9.00 Uhr)
	Von der App geschätztes Alter: 3 Tage oder älter	Von der App geschätztes Alter: 9-48h	Von der App geschätztes Alter: 2-3h
Holz	Tatsächliches Alter: 2 Tage (angelegt am 09.08.2017)	Tatsächliches Alter: 1 Tag (angelegt am 10.08.2017)	Tatsächliches Alter: 2 Stunden (angelegt am 11.08.2017 um 9.00 Uhr)
	Von der App geschätztes Alter: 3 Tage oder älter	Von der App geschätztes Alter: 3-9h	Von der App geschätztes Alter: 2-3h
Papier	Tatsächliches Alter: 2 Tage (angelegt am 09.08.2017)		
	Von der App geschätztes Alter: 3 Tage oder älter		

Abbildung 24 „Die gesamte Darstellung der Versuche von Frau Stark“

Schätzung des Alters von menschlichen Blutspuren unter simulierten Innen- und Außenbedingungen am Tatort durch Attenuated-total-reflection-Fourier-Transform-Infrarot-(ATR-FT-IR)-Spektroskopie (2017) [22]

Infrarot-Spektroskopie (IR)

Bei der IR-Spektroskopie wird Licht im infraroten Wellenlängenbereich (800–500nm) benutzt. Die IR-Spektroskopie gehört zu den physikalischen Analyseverfahren. Mit Hilfe dieser Methode lassen sich chemische Substanzen untersuchen. Mit der IR-Spektroskopie lassen sich unbekannte Substanzen analysieren. [27]

Attenuated-total-reflection-(ATR)-Spektroskopie

Die 1960 von Harrick entwickelte ATR-Spektroskopie ist eine IR-spektroskopische Methode. Sie wird für Oberflächenuntersuchungen von undurchsichtigen Stoffen (flüssige Stoffe) verwendet. Die Intensitätswerte des reflektierten Lichtes lassen Rückschlüsse auf das absorbierende Medium zu. [28]

Fourier-Transformation-(FT)-IR-Spektroskopie

Eine weitere Methode ist die von Albert Michelson entwickelte FT-IR-Spektroskopie. Bei dieser Methode wird mit Hilfe der mathematischen FT aus Interferogrammen das IR-Spektrum erzeugt. Durch die Variation der Wellenlängen wird die Intensität der Interferenz in einem Interferogramm abgebildet. [29]

In der Studie der Arbeitsgruppe um Lin aus dem Jahre 2017 wurde die ATR-Spektroskopie und FT-IR-Spektroskopie in Kombination mit chemometrischen Methoden (Partial-Least-Squares-PLS-Regression, PLS-Discrimination-Analysis) für die Untersuchung von Blutspuren verwendet. Dabei wurden Blutspuren im Außen- und Innenbereich untersucht, um variable und realistische Tatortbedingungen zu schaffen. Die Ergebnisse im Außen- und Innenbereich wurden mittels getrennter PLS-Regressionsmodelle generiert. [22]

Die von Lin et al. entwickelte Methode kann das Alter von Blutflecken über einen Zeitraum von 107 Tagen messen. Über die chemometrischen Methoden lassen sich aus den Proben nützliche Informationen ableiten. Die Methode zeichnet sich durch eine hohe Zuverlässigkeit aus. Außerdem wurde versucht Overfitting zu vermeiden. [22]

Die Blutproben stammten von vier gesunden Freiwilligen (zwei Frauen, zwei Männer). Für die Herstellung der Blutspuren für die Analyse wurden die Blutproben sofort auf Glasplatten aufgetragen. Die Kontrolle der Blutproben erfolgte zu 20 Zeitpunkten. Pro Spender wurden sechs Blutspuren generiert, von denen jeweils drei im Innen- und Außenbereich gelagert wurden. Die Blutspuren, die sich im Innenbereich befanden, waren tagsüber schwachem Sonnenlicht ausgesetzt; in der Nacht wurden sie nicht beleuchtet. Die Proben, die im Außenbereich gelagert wurden, waren Licht, Feuchtigkeit und Wärme ausgesetzt. [22]

Für die Untersuchungen wurden ein FT-IR-Spektrometer (Thermo Fischer Scientific, USA) und ein ATR-Spektrometer verwendet. Die Blutproben wurden vor jeder Messung in ein Eppendorf-Gefäß überführt und mit 10 μl Kochsalzlösung vermischt. 1 μl dieser Mischung wurde auf die ATR-Diamantkristallfläche (Durchmesser 2 mm) aufgetragen. Die Probe verblieb 4 Minuten auf dieser Fläche und wurde mit dem Lufttrockner getrocknet. Die Spektren wurden für Wellenlänge im Bereich von 900–1800 cm^{-1} aufgenommen und mit der Software OMNIC Version 9.2 dargestellt. Für die Berechnungen wurden der Basiskorrektor, die Einheitsvektor-Normalisierung und multiplikative Streukorrektor (MSC) verwendet. Bei der Analyse wurden so die Auswirkungen der Lichtstreuung reduziert. Für die Datenvorbereitung wurde die in Norwegen entwickelte Unscrambler 9.7 Software verwendet. [22]

Für die zuverlässige und stabile Vorhersage mittels der PLS-Regression- und PLS-Discrimination-Analysis-Modelle wurde eine Kreuzvalidierung (CV) durchgeführt. Diese beinhaltete 10 Felder im Venetian-Blind-Verfahren. Mit den im Vorfeld von zwei Personen

entnommen Proben wurde eine externe Validierung durchgeführt. Diese Proben wurden unter den gleichen Bedingungen wie die Proben aus der Studie gelagert und analysiert. In einer weiteren externen Validierung wurden die Testblutproben unter anderen Bedingungen analysiert. [22]

Mit Hilfe der Untersuchungen sollte der Einfluss verschiedener Umweltbedingungen auf die Blutalterung untersucht werden. Zu den verwendeten Hauptparametern zählten die Wurzel des mittleren quadratischen Fehlers (RMSE), der kalibrierte RMSE (RMSEC), der kreuzvalidierter RMSE (RMSECV), der vorhergesagte RMSE (RMSEP), R^2 und die Restvorhersageabweichung (RPD). Mit Hilfe dieser Parameter wurde die Zuverlässigkeit des Regressionsmodells bewertet. Hohe R^2 - und RPD-Werte und niedrige RMSE-Werte kennzeichnen ein gutes PLS-Regression-Modell. [22]

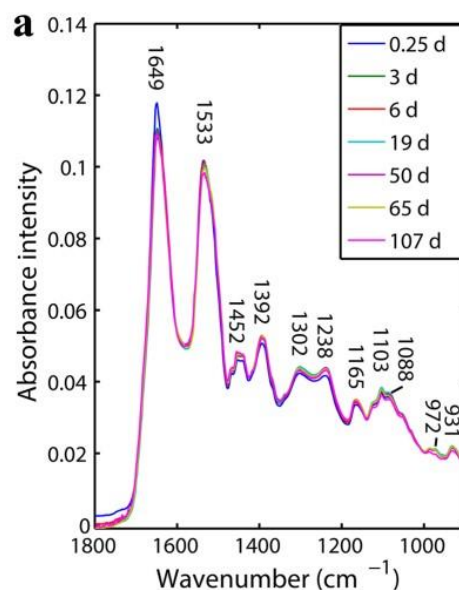


Abbildung 25 „Vergleich der Durchschnittsspektren der Attenuated-total-reflection-Fourier-Transform-Infrarot-(ATR-FT-IR)-Spektroskopie für Blutspuren im Außenbereich zu sieben Zeitpunkten“

Die Abbildung 25 vergleicht die Spektren (Wellenzahl: $1800\text{--}900\text{ cm}^{-1}$) der Proben des Innenbereichs für sieben Zeitpunkte. Mit abnehmender Wellenzahl steigt die Absorptionsintensität zunächst steil an und erreicht bei 1649 cm^{-1} und 1533 cm^{-1} jeweils ein Maximum. Danach sinkt die Absorptionsintensität kontinuierlich ab. Diese Abnahme resultiert aus den Veränderungen des Hämoglobins. Mit zunehmendem Alter der Blutspuren findet eine Oxidierung des Hämoglobins statt, dadurch entsteht MetHb, bei der anschließenden Denaturierung entsteht HC. Der Abbauprozess beginnt sofort und verlangsamt sich mit der Zeit. [22]

Mit Hilfe der FT-IR- bzw. ATR-Spektroskopie lassen sich Veränderungen beim Blutzucker und beim Hämoglobin nachweisen. Die Abschätzung des Alters der Blutspuren anhand der Intensitätsveränderungen der Absorptionsmaxima ist jedoch schwierig. Deshalb wur-

de multivariate chemometrische Methoden für das Altersbestimmung der Blutspuren eingesetzt, da diese leistungsfähiger sind. [22]

Die Autoren haben mit Hilfe der PLS-Regressionsanalyse Modelle zur Altersbestimmung erstellt, die den Bereich zwischen 25 Minuten und 107 Tage abdecken. [22]

Im oberen Diagramm in Abbildung 26 sind die Schätzwerte des Alters der Blutspuren (y-Achse), die sich im Innenbereich befanden (y-Achse) gegen die Zeit (x-Achse) aufgetragen. Der R²-Wert liegt bei 0,96 und der RMSEC-Wert bei 5,97. [22]

Das untere Diagramm zeigt die entsprechende Analyse der Blutspuren aus dem Außenbereich. Hier beträgt der R²-Wert 0,98 und der RMSEC-Wert 4,73. [22]

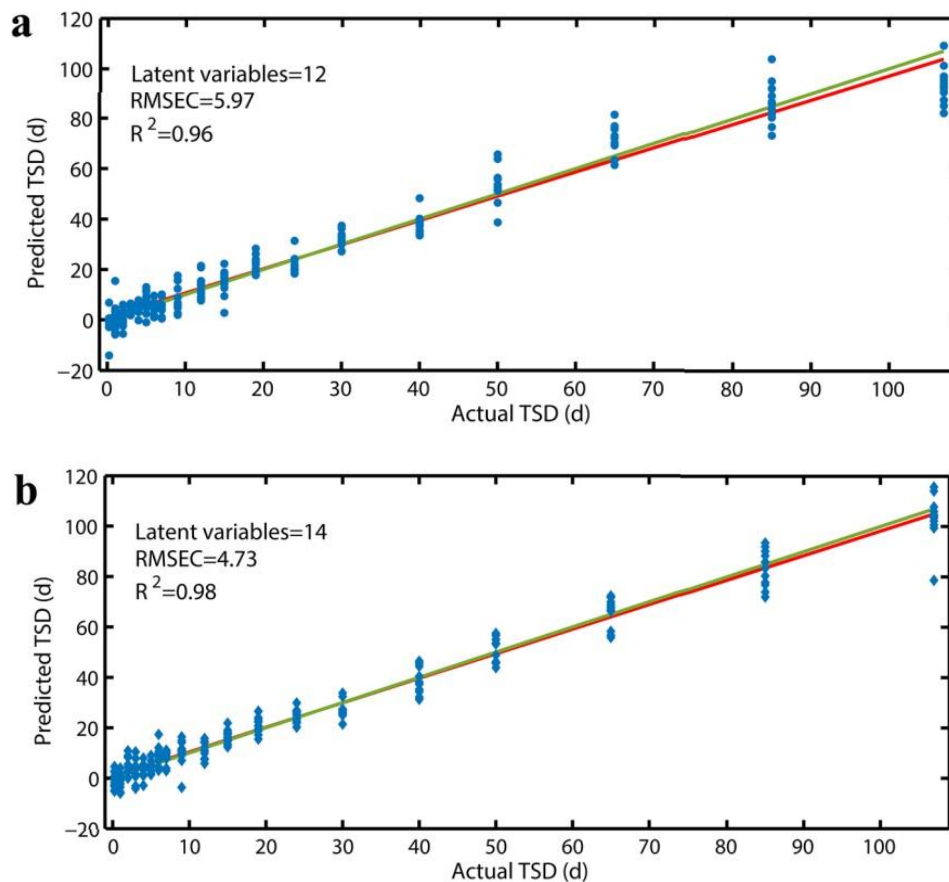


Abbildung 26 „PLSR-Diagramme für (a) Blutstropfenproben im Innenbereich und (b) im Außenbereich im Zeitraum von 0,25 bis 107 Tagen“

Abbildung 27 stellt die Gütewerte der PLS-Regressionsmodelle (Innenbereich und Außenbereich) für verschiedene Zeitintervalle (bis 7 Tage, 7–85 Tage, bis 107 Tage) gegenüber. Für die Nutzung der Methodik zur Bestimmung des Alters von Blutspuren sind hohe R^2 -Werte und niedrige RMSECV-Werte erforderlich. [22]

Die Kreuzvalidierung zeigt hohe R^2 - und niedrigen RMSECV-Werte. Mit zunehmender Dauer steigen jedoch die RMSECV-Werte an. Der RMSECV-Wert für den gesamten Zeitraum beträgt im Innenbereich 7,51, dies deutet auf gute Ergebnisse. Die Werte der Kreuzvalidierung stimmen mit den Werten aus der externen Validierung weitgehend überein, was für die Robustheit und Zuverlässigkeit beide PLS-Regressionsmodelle spricht. Die externe Validierung wurde durchgeführt, um die Zuverlässigkeit der PLS-Regressionsmodelle und die Eignung der Methodik für die Bestimmung des Alters der Blutflecke unter Umweltbedingungen zu analysieren. [22]

Time since deposition	Cross-validation		External validation			Expanding test		
	RMSECV	R ²	RMSEP	R ²	RPD	RMSEP	R ²	RPD
Indoor model								
0.25–7 d	1.20	0.72	1.18	0.72	1.90	1.53	0.53	1.19
7–85 d	5.88	0.94	5.83	0.94	4.08	12.93	0.71	1.73
0.25–107 d	7.51	0.94	7.24	0.94	4.20	13.34	0.80	2.24
Outdoor model								
0.25–7 d	0.91	0.84	1.10	0.76	2.09	2.15	0.08	0.99
7–85 d	6.35	0.93	4.77	0.96	5.14	19.99	0.31	0.70
0.25–107 d	6.31	0.96	6.43	0.95	4.42	23.61	0.38	0.77

Abbildung 27 „Die Validierungsergebnisse der PLSR-Modelle in den drei Zeitperioden.“

Laut den PLS-Regressionsmodellen zeigt das geschätzte Alter bei „frischen“ Blutflecken im Zeitraum zwischen 25 Minuten bis 7 Tage größere Abweichungen vom tatsächlichen Alter als älteren Blutflecken (siehe Abbildung 27). Die stärksten Abweichungen sind am ersten Tag im Innenbereich zu erkennen. Auch dieses Ergebnis spricht gegen die Eignung der Methode zur Bestimmung des Alters von Blutspuren. [22]

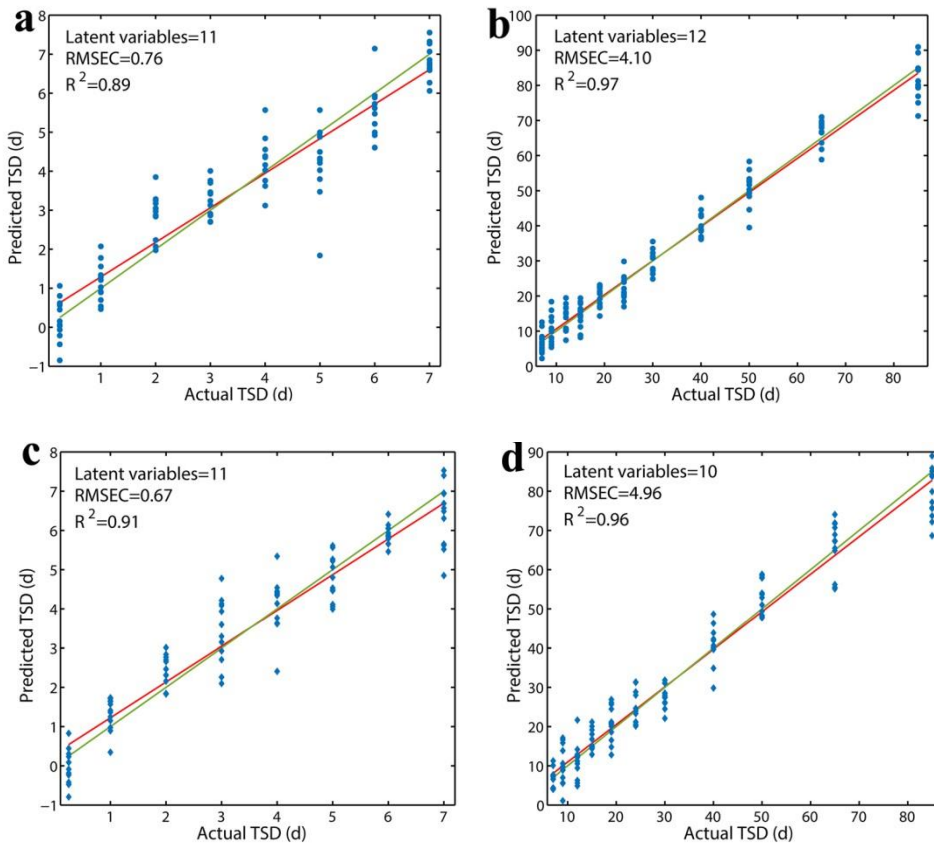


Abbildung 28 „PLSR-Diagramme für Blutstropfenproben im Innenbereich in den Zeiträumen (a) von 0,25 bis 7 Tagen und (b) von 7 bis 85 Tagen sowie für Blutstropfenproben im Freien in den Zeiträumen (c) von 0,25 bis 7 Tagen und (d) von 7 bis 85 Tagen, die die kalibrierten Altersvorhersagen gegen das tatsächliche Alter zeigen“

Weiter wurde in der Studie das Alter der Blutspuren mit dem PLS-Discrimination-Analysen-Modell bestimmt (siehe Abbildung 29). Es wurden jeweils 228 Spektren aus dem Innenbereich (siehe Abbildung 29 a) und Außenbereich (siehe Abbildung 29b) analysiert. Nicht alle Spektren wurden in der Grafik dargestellt. Die Spektren wurden als frisch – weniger als 1 Tag alt – oder alt – mindestens 1 Tag alt – klassifiziert. [22]

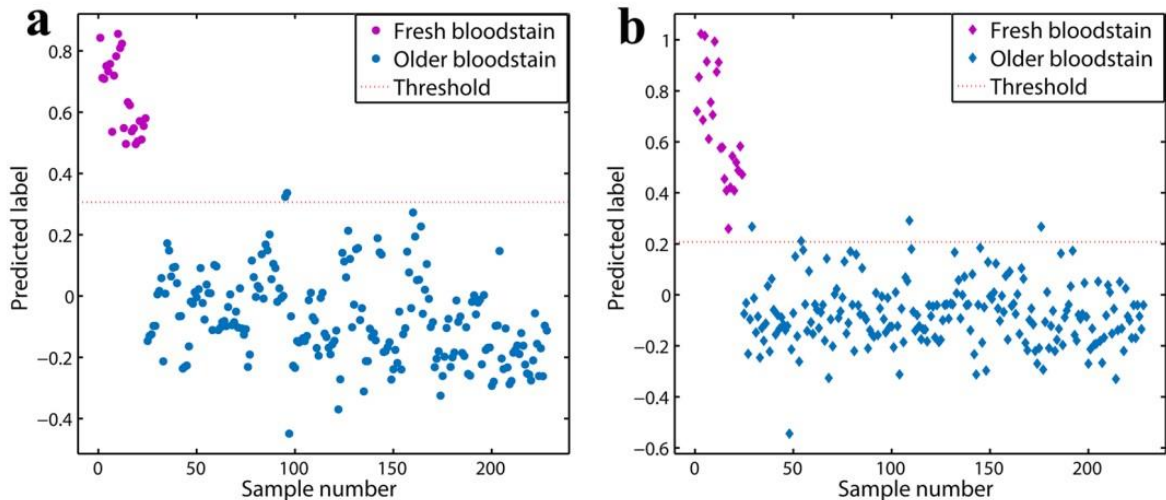


Abbildung 29 „(a) Vorhersage des Innen-Trainingsdatensatzes unter Verwendung des Innen-PLS-DA-Modells. (b) Vorhersage des Außen-Trainingsdatensatzes unter Verwendung des Außen-PLS-DA-Modells“

Die Modelle waren gut in der Lage zwischen älteren Blutspuren (blaue Punkte) und jüngeren Blutspuren (pinke Punkte) zu differenzieren. Die Genauigkeit der Klassifizierung lag in den Modellen bei 0,99 und 0,98. Die Receiver-Operating-Characteristic-Analysen (ROC) für die PLS-Discrimination-Analysis-Klassifikationsmodelle ergab Area-under-the-curve (AUC)-Werte von 1 (Innenbereich) und 0,9996 (Außenbereich). Diese beide Werte bestätigen die Klassifikationsfähigkeit der beiden Modelle. [22]

Analyse des Einflusses von mit Ethylendiamintetraacetat (EDTA) behandelten Referenzproben auf die forensische Schätzung des Alters von Blutflecken 2021 [24]

Spektroskopie mit Ultraviolettem und sichtbarem Licht (UV/VIS-Spektroskopie)

UV/VIS-Licht kann Elektronen in organischen Molekülen anregen. Daher ist es möglich mit der UV/VIS-Spektroskopie Bindungen in Molekülen zu analysieren. Dabei wird die Energie gemessen, die bei der Applikation von Strahlen eine bestimmte Wellenlänge absorbiert wird. [30] Der Spektralbereich des sichtbaren Lichtes liegt zwischen 400–800 nm, daran schließt sich der UV-Bereich mit Wellenlängen zwischen 100 und 400 nm an. [31]

Ethylendiamintetraacetat (EDTA)

EDTA wird in der Labordiagnostik als gerinnungshemmender Zusatz zu Blutproben verwendet. Weitere in der klinischen Praxis eingesetzte gerinnungshemmende Substanzen sind Heparin oder Citrat. [32]

In der Studie von Bergmann et al. wurden die Blutproben aus Menschen mit EDTA behandelt. EDTA verlangsamt die Blutgerinnungsmechanismen und die Alterung der Blutflecken, indem es Umwandlung von HbO_2 in MetHb und die Umwandlung von MetHb in HC verzögert. Da menschliches Blut nicht immer zur Verfügung steht, nutzen Wissenschaftler häufig Schweineblut. Schweine werden oft für medizinische Experimente eingesetzt, da die anatomischen Merkmale der Tiere, denen von Menschen ähneln. Im vorliegenden Kontext ist die Ähnlichkeit der roten Blutkörperchen, die das Hämoglobin beinhalten, von Bedeutung. Für die Analyse verwendeten Bergman et al. unbehandeltes Schweineblut, unbehandeltes Menschenblut und mit EDTA behandeltes Menschenblut verwendet. Das Ziel der Studie war die Analyse des potenziellen Einflusses von EDTA auf die spektroskopische Analyse von Blutspuren Ergebnissen. [24]

Das Blut stammt von freiwilligen Spendern (4 Frauen, 5 Männer). Jeweils drei Blutproben von weiblichen und männlichen Spendern wurden unbehandelt untersucht. Die restlichen Blutproben wurden mit EDTA behandelt. Jede Blutprobe hatte ein Volumen von 50 μl . Diese Probe wurde auf Baumwollstreifen aufgetragen. Die Zeit zwischen der Blutentnahme und dem Auftragen betrug weniger als zwei Minuten. [24]

Die Alterung der Blutproben erfolgte im forensischen Labor bei Temperaturen zwischen 21 °C und 25 °C. Die Luftfeuchtigkeit betrug während des gesamten Zeitraums zwischen 35 und 50 %. Die Blutproben wurden mit Hilfe der UV/VIS-Spektroskopie analysiert. In jeder Versuchsreihe waren 12 Messungen. Die Mehrzahl der Messungen fand innerhalb von 168 Stunden statt. Die Baumwollstreifen lagen in 100 ml destilliertem Wasser. Im destillierten Wasser findet die Lyse der Blutzellen, dadurch kann man bessere spektroskopische Analysen mit den Hämoglobin-Derivaten durchführen. [24]

Die Proben wurden im Spektrometer UV-1800 von Shimadzu analysiert. Der Wellenbereich betrug 450–650 nm. Dieser Wellenlängenbereich deckt die Signale der für die Untersuchung relevanten Hämoglobin-Derivate ab. [24]

Die gemessenen Spektren wurden mit dem Programm R analysiert. Durch die Messung von Referenzspektren der drei Hämoglobin-Derivate sollten die relevanten Wellenlängen für die weitere Analyse reduziert werden. Letztlich wurden 71 Wellenlängen in einem Bereich von 450–630 nm gemessen. [24]

Die Signal-Trenntechniken dienen für die Zerlegung der Spektren der Blutproben in die einzelnen Komponenten. Ein Signal wurde als getrennte Komponente betrachtet, wenn die Residuenquadratsumme (RSS) minimale Werte annimmt. [24]

$$RSS = \sum_{\lambda \in \Lambda} (I_{\lambda} - \alpha A_{\lambda} + \beta B_{\lambda} + \gamma C_{\lambda})^2$$

λ = Wellenlänge, Λ = Set der Referenzwellenlängen, I_{λ} = Intensität des Zielspektrums bei der Wellenlänge λ . α , β , γ = Parameter für die Optimierung. A_{λ} , B_{λ} , C_{λ} = Referenzspektren bei der Wellenlänge λ für Oxyhämoglobin, Methämoglobin und Hämochrom. [24]

Der Broyden-Fletcher-Goldfarb-Shanno-Algorithmus ist die die Lösung des Optimierungsproblems, Dieser wird für die Vorhersage der Werte für α , β und γ in einem Bereich von 0 und 1 implementiert. Die vorhergesagten Parameter können als Pseudo-Konzentrationen (CPC) betrachtet werden. Die Werte 0 und 1 stellen die minimale und maximale Konzentration der jeweiligen Verbindung dar. Zur Analyse der Ungenauigkeiten der gemessenen Werte benutzte man die Standardabweichung für jeden Messpunkt. Außerdem bestimmte man die Konfidenzintervalle (CI) mit der folgenden Formel: [24]

$$CI = \left(-z^* \frac{\sigma}{\sqrt{N}}, +z^* \frac{\sigma}{\sqrt{N}} \right)$$

σ = Standardabweichung, N = Anzahl der Blutproben, der Wert von $z^* = 1,96$ bei einem Konfidenzniveau von 95 %. [24]

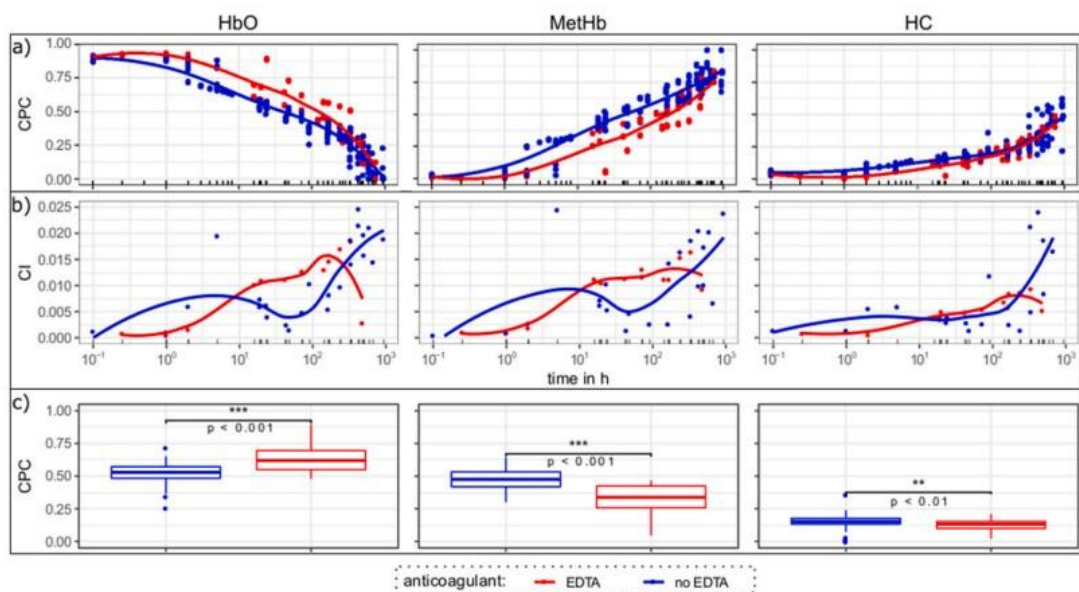


Abbildung 30 „Ergebnisse der spektralen Trennungsanalyse. Die erste Zeile der Diagramme (a) zeigt CPC der Hämoglobin-Derivate HbO, MetHb und HC über die Zeit. Die zweite Zeile (b)

beinhaltet die Konfidenzintervalle (CI) der Regression und die dritte Zeile (c) zeigt an die statistische Analyse potentieller Unterschiede der CPC in den Proben mit und ohne EDTA im Zeitraum von 5–100 Stunden. Rote Farbe repräsentieren EDTA-behandeltes Blut und blaue Farbe repräsentieren unbehandeltes Blut.“

In Abbildung 30a werden die berechneten CPC der Hämoglobin-Derivate HbO₂ (links), MetHb (Mitte) und HC (rechts) im Zeitverlauf für mit EDTA behandelte (rot) und unbehandelte Proben (blau) dargestellt. Abbildung 30b beinhaltet die Konfidenzintervalle (CI) der Regression. Abbildung 30c stellt die statistische Analyse potenzieller Unterschiede der CPC in den Proben mit und ohne EDTA im Zeitraum von 5–100 Stunden dar. Im Zeitverlauf nahmen die CPC-Werte für das HbO₂ ab und die Werte für das MetHb stiegen an. Der Anstieg der CPC-Werte für HC war deutlich geringer an. In den mit EDTA behandelten Proben erfolgte der HbO₂-Abbau langsamer. Parallel dazu fand auch die Bildung von MetHb verzögert statt. [24]

Die Konfidenzintervalle der CPC der Hämoglobin-Derivate lagen in den Blutproben mit EDTA am Anfang niedriger als in den unbehandelten Proben. [24]

Bei den CPC-Werten der Hämoglobin-Derivate aus den beiden Experimenten mit und ohne EDTA im Zeitraum von 5–100 Stunden sieht man Unterschiede. Der Wert für das HbO₂ ($p < 0,001$) lag in den Versuchsansätzen mit EDTA deutlich höher. Die Werte für das MetHb ($p < 0,001$) und HC ($p < 0,01$) dagegen niedriger. [24]

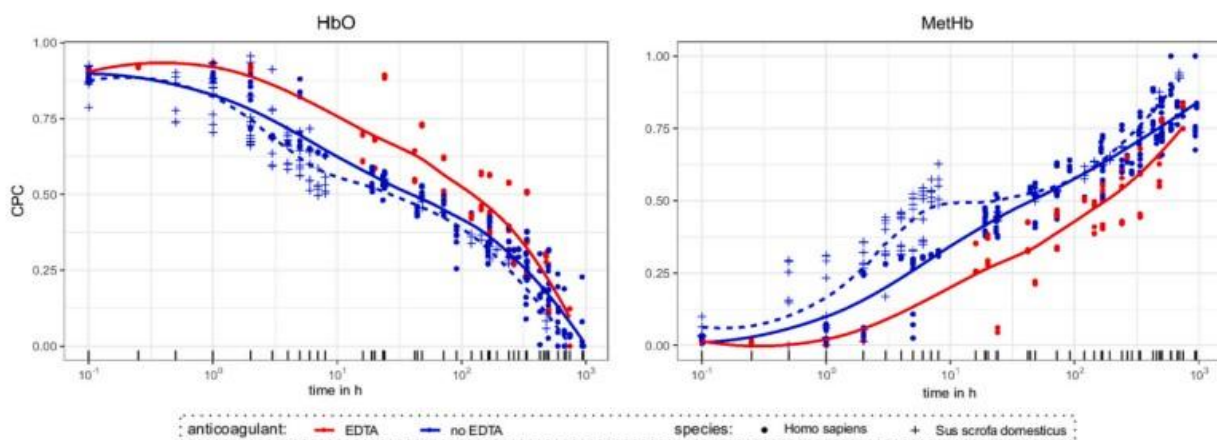


Abbildung 31 “ Vergleich der CPC-Werte für HbO₂ und MetHb in menschlichem Blut (mit und ohne EDTA) und in Schweineblut“

Abbildung 31 vergleicht die CPC-Werte für HbO₂ und MetHb in menschlichem Blut (mit und ohne EDTA) und in Schweineblut. Die CPC-Werte für HbO₂ lagen in dem unbehandelten Schweineblut häufig niedriger als in dem unbehandelten menschlichen Blut. Umgekehrt verhielt es sich für die CPC-Werte von MetHb. In den ersten 100 Stunden werden keine Unterschiede erkannt. [24]

5 Diskussion

Ziel dieser Arbeit war es verschiedene blutaltersschätzende Methoden chronologisch darzustellen. Vor allem waren die neusten Methoden für diese Arbeit sehr wichtig. Zunächst wurde Vorgeschichte der blutaltersschätzenden Methoden dargestellt. Anschließend wurden Paper, die blutaltersschätzende Methoden beschreiben, chronologisch präsentiert. Diese Chronologie ist in Tabelle 2 „Chronologische Reihenfolge“ zu sehen.

Sechs Paper aus der Tabelle wurden detaillierter vorgestellt. Fünf dieser Paper beschäftigen sich mit der Spektroskopie, welche eine verbreitete Methode in diesem Bereich ist. Seit Jahren wird an diesem Themengebiet geforscht und es kommen stetig neue Arten der Spektroskopie, mit der man die Wellenlänge der Blutproben bestimmen kann, hinzu. Zum Vergleich wurde eine Bachelorarbeit, die eine Smartphone-App zur Bestimmung des Blutalters vorstellt, herangezogen. [15] Die Mehrheit der Studien beschäftigte sich mit dem Blutfarbstoff Hämoglobin und seinen Derivaten, da dies besonders ausschlaggebend für die Farbveränderung während der Alterung des Blutes ist. Aufgrund dessen versuchen die meisten Forscher herauszufinden, welche Umstände den Prozess des Zerfalls des Hämoglobins beschleunigen oder hemmen. Jede Studie beschäftigt sich mit anderen Aspekten. Viele Studien untersuchen den Einfluss verschiedener Umweltfaktoren auf das Blut und analysieren den Verlauf der Blutalterung. Bereits in einer Studie aus dem Jahr 1954 (siehe Tabelle 2) beschäftigte man sich mit dem Einfluss verschiedener Umweltfaktoren. [16] Dies ist wichtig, da Tathergänge selten in einem geschützten und kontrollierten Raum, wie einem Labor, stattfinden. Die wissenschaftlichen Teams aus der ganzen Welt versuchen ihre eigenen Methoden zu verbessern und an verschiedene Umweltfaktoren anzupassen.

Ein weiteres Problem ist, dass die meisten Methoden ein ungenaues Alter und große Abweichung ergeben. Somit ist es nicht möglich diese Ergebnisse in Ermittlungen zu verwenden. Infolgedessen sind diese Methoden auch nicht vor Gericht anwendbar. Um dies zukünftig zu ermöglichen ist es wichtig, dass zukünftige Forschungen sich vermehrt mit dem Einfluss der Umwelt auf das Hämoglobin und der damit verbundenen Blutalterung, beschäftigen. Zum Beispiel bei dem Paper von Team Lin wurden Spuren in zwei verschiedenen Bereichen gelagert, um bessere Unterschiede zu sehen. [22] Dieses konnte man nicht bei jeder Studie beobachten, die meisten haben sich auf ein Bereich fokussiert.

Ebenfalls ist während der Recherche aufgefallen, dass die Oberfläche, auf der sich die Blutspur befindet, eine zentrale Rolle bei der Alterung des Blutes spielt. Im Rahmen der ersten Studie aus 1954 wurden Blutspuren auf Papier und auch auf Textilien erzeugt. [16] Dies ist sinnvoll, da sich an Tatorten Blutspuren häufig auf verschiedensten Textilien befinden. Aufgrund dessen ist es wichtig den Einfluss verschiedener Oberflächen zu untersuchen. Die meisten Studien sind auf die Bedeutung der Oberflächen eingegangen. Auch

die Farbe der Oberfläche spielt eine Rolle. Eine Studie aus dem Jahr 2012 ergab, dass die Farbe einen Einfluss auf den Absorptionswert haben und es somit zu Problemen bei den Aufnahmen der Absorption der Blutproben kam. [20] Jedoch wurden keine weiteren Studien zu diesem Aspekt durchgeführt.

Es ist nicht nur bei den spektrometrischen Analysen wichtig die Untergründe zu betrachten, sondern auch die Studie von Sandra Stark zeigt, dass die die Oberflächen eine wichtige Rolle für die Altersschätzung haben. Bei ihrer Studie sieht man, dass verschiedene Stoffe das Blut unterschiedlich schnell aufsaugen. Um das Blutalter von der Smartphone-App schätzen zu lassen, ist es nötig die Art der Oberfläche auszuwählen. Ihre Untersuchungen ergaben, dass der Verlauf der Blutalterung von der Oberfläche abhängig ist.[15]

Die weiteren Studien benutzten auch unterschiedliche Oberflächen, um die Unterschiede zu erkennen.

Außerdem ließ sich feststellen, dass die Bestimmung des Blutalters mit der Zeit immer fehlerhafter und ungenauer wurde. Die meisten Studien konnten das Alter der Blutproben ohne Fehler oder ganz geringen Fehlerquote feststellen, wenn die Blutflecken ganz frisch waren. Dies konnte man besonders in einer Studie, die das Mikrospektrometer anwendete, sehen. Es zeigte sich, dass Blutproben, die jünger als 19 Tage waren, einen von weniger als einem Tag (0,71 Tage) aufwiesen. Im Gegensatz dazu wiesen Blutspuren, die zwischen 23 und 37 Tagen alt waren, einen Fehler von mehr als drei Tagen (3,08 Tage) auf. Aufgrund dessen ist anzunehmen, dass die Fehlerquote mit zunehmendem Alter der Blutspur steigt. [19] Zu hohe Fehlerquoten bedeuten, dass diese Methoden und dessen Ergebnisse nicht in Ermittlungen anwendbar sind, auch die Studie, die eine Smartphone-App zur Bestimmung des Blutalters verwendete, erkannte das Alter der Blutspuren, die nur zwei Stunden alt waren, zu 100 Prozent richtig. [15] Blutspuren, die älter als zwei Tage waren, wiesen jedoch ebenfalls eine höhere Fehlerquote auf. Da aber viele Blutspuren, die an Tatorten vorkommen älter als zwei Tage, oft sogar älter als ein Tag, sind, ist diese Methode für die forensische Arbeit ungeeignet. Die Studien weisen eine zu hohe Fehlerquote bei den Blutflecken, die älter sind. Die verwendete EDTA-Säure aus der Studie von 2020 könnte man nicht verwenden für die forensische Arbeit, da dies die Werte verfälschen könnte [24].

Innerhalb der letzten Jahre wurden molekulare Methoden verwendet, solche wie qPCR. Jedoch konnte man nicht viele gute Ergebnisse erzielen. Deshalb braucht dieser Bereich auf jeden Fall mehr Forschungen.

Vieler der bearbeiteten Paper befinden sich noch in einer experimentellen Phase. Außerdem befinden sich die Methoden noch in der Untersuchungsphase, und werden meistens nur in Laboren benutzt. Dies sollte zukünftig geändert werden, indem tatortähnliche Bedingungen, zur Untersuchung der Blutalterung, geschaffen werden. Des Weiteren sollten Blutproben im Außenbereich gelagert werden, um die Einflüsse der Umwelt beobachten zu können. Studien der letzten Jahre bezogen dies vermehrt ein und untersuchten ebenfalls die Beschaffenheit der Oberflächen mit ein. Dies sollte man in der Zukunft mehr verwenden. Bisher werden diese Techniken nicht in der Praxis beim Tatort benutzt, da die meisten sehr ungenau sind oder einen zu hohen Fehlerwert haben. Aus diesem Grund

können folgende Techniken nicht für die Untersuchung von Tathergängen verwendet werden. Auch bei dem Gericht würden diese Methoden nicht akzeptiert werden.

Bereits vor einigen Jahren beschäftigte sich das Team um Bremmer mit der chronologischen Reihenfolge und Geschichte der Blutaltersbestimmung. [2] Seit seiner Studie haben sich viele Methoden weiterentwickelt. Es werden mehr Methoden mit maschinellem Lernen verwendet, vor allem Modelle, die sich mit Klassifikation beschäftigen. Es kann sein, dass man später auch die künstliche Intelligenz dafür nutzen wird. Viele neue Veröffentlichungen konnte man nicht analysieren, da man keinen Zugriff auf diese hatte. Vielleicht kann man für die späteren Bachelorarbeiten mehr Möglichkeit verschaffen, zum Beispiel den Zugriff auf die neuen Paper/Studien zu bekommen. Vielleicht hätte man auch für ein besseres Verständnis etwas praktisches untersuchen können. Es kommen immer mehr Veröffentlichungen in diesem Bereich raus.

Zukünftig wäre es sinnvoll, auch die genaue Uhrzeit der Entstehung einer Blutspur feststellen zu können. Jedoch wird es noch lange dauern, bis die Forschung so eine Methode entwickelt.

Zusammenfassend kann man sagen, dass die Wissenschaftler mehr Studien in diesem Bereich brauchen, um eine oder mehrere Methoden zu entwickeln, die das genaue Blutalter liefern. Außerdem sollte eine Methode günstig und am Tatort anwendbar sein. Ebenfalls ist es wichtig, dass die Fehlerquoten der Methoden, die in Zukunft entwickelt werden, sinken, damit sie in der Praxis verwertbar sind.

6 Ausblick

In dieser Arbeit wurden die Methoden vorgestellt, die das Blutalter bestimmen sollen. Die meisten Methoden analysierten das Hämoglobin und seine Derivate, da diese für die Farbe der Blutflecken zuständig sind. Hierzu wurde häufig ein Spektrometer genutzt, womit die Wellenlängen der Blutproben bestimmt werden können. Anhand dieser Ergebnisse ist es möglich das Alter des Blutes zu schätzen. Die Ansätze und die Untersuchungen waren bei allen unterschiedlich, jedoch erhielten die meisten ähnliche Ergebnisse. Mit der Zeit wurden immer mehr digitalisierte Methoden eingeführt, die das Alter anhand der neuen Techniken bestimmen sollten.

Fast in allen Studien tauchte das gleiche Problem, je älter die Blutspur war, desto schwieriger wurde es, das Alter zu bestimmen. Die meisten Teams untersuchten die Blutspuren innerhalb der ersten Stunden vermehrt, da hier die meisten Veränderungen auftreten. Dies ist darauf zurückzuführen, dass das Hämoglobin erst zu Met-Hämoglobin zerfällt und dann zu HC zerfällt. Die meisten Studien kommen zu keinen aussagekräftigen oder falschen Ergebnissen oder haben eine zu hohe Fehlerquote. Dies stellt ein Problem bei forensischen Ermittlungen dar, da man möglichst genaue Werte benötigt, um den Tathergang rekonstruieren zu können. Um die Ergebnisse der Untersuchungen für Ermittlungen nutzen zu können, sollten möglichst genaue Zeitpunkte erzielt werden. Wenn die Fehlerquote zu groß ist, wäre dies ein Problem, da man diese Daten nicht nutzen kann. Außerdem ist schwer, das Alter der Blutflecken genau zu berechnen, da die meisten Untersuchungen in einem Labor stattfinden. Deshalb sollten diese Messungen an tatortähnlichen Umgebungen stattfinden. Man sollte in der Zukunft mehr Wert darauflegen.

Mehrere Studien kamen zu dem Ergebnis, dass die Umweltfaktoren sehr wichtig für die das Blutalterung sind. Sie haben einen großen Einfluss auf die Blutalterung, weshalb man sie in zukünftigen Studien mehr einbeziehen sollte. Die meisten Blutproben wurden in geschlossenen Räumen und unter gleichbleibenden Bedingungen gelagert, was an Tatornten häufig nicht der Fall ist.

Ein weiterer wichtiger Grund für die Blutalterung, sind die Oberflächen. Jeder Oberfläche saugt das Blut unterschiedlich schnell auf, was einen Einfluss auf die Bestimmung des Alters hat. Es sollte mehr Studien geben, die diesen Aspekt nicht vernachlässigen.

Es wird noch lange dauern bis man eine Methode findet, die alle die Aspekte betrachtet. Nicht nur die Ergebnisse, sondern auch die Kosten zur Anwendung der Methoden sind zu beachten. Bisher sind die meisten Methoden sehr umständlich und nur in einem Labor nutzbar. Es wird noch lange dauern, bis die „perfekte“ Methode gefunden wird und diese auch anerkannt wird.

Da es viele verschiedene Versuche gab, das Alter von Blutspuren zu bestimmen, war es nicht möglich all diese innerhalb einer Bachelorarbeit darzustellen. Da die Chronologie Altersbestimmung nicht fertig ist, ist es sinnvoll zukünftig weiter an diesem Thema zu arbeiten. Die meisten Paper, die ab 2021 veröffentlicht wurden, konnte diese kaum finden oder hatte keinen Zugriff. Für die Zukunft sollte man dies beachten und vielleicht dafür

Lösungen finden. Zu diesem Thema werden immer und wieder neue Studien veröffentlicht.

Literatur

- [1] Locard, Edmond: Die Kriminaluntersuchung und ihre wissenschaftlichen Methoden
Berlin, Kameradschaft Verlagsges., 1930
- [2] Bremmer R., de Bruin K., van Gemert M., van Leeuwen T., Aalders M: Forensic quest for age determination of bloodstains,
Amsterdam, Elsevier, 2011
- [3] Labudde D., Mohaupt M.: Bioinformatik im Handlungsfeld der Forensik
Berlin, Springer, 2018
- [4] Schiebler, Th., Schmidt W., Zilles K.: Anatomie, Zytologie, Histologie, Entwicklungsgeschichte, makroskopische und mikroskopische Anatomie des Menschen
Springer, 1995
- [5] Classen, M.: Innere Medizin,
Urban Fischer Verlag, 2009

- [6] Niederau, C. und Böhm, B. O.: Klinikleitfaden Labordiagnostik, Urban & Fischer Verlag, 2021
- [7] Herold, G.: Innere Medizin, Selbstverlag, 2012
- [8] Schmidt R., Thews G.: Physiologie des Menschen
New York, Springer-Verlag Berli Heidelberg GmbH, 1997
- [9] Braun, T.: Kurzlehrbuch Physiologie
Elsevier, Urban Fischer, 2006
- [10] <https://www.blutwert.net/haemoglobin/bilder/haemoglobin.jpg>, verfügbar am 08.09.2023
- [11] https://dccdn.de/www.doccheck.com/data/b4/5d/ms/7f/jn/h6/ha_moglobin__md.jpg, verfügbar am 08.09.2023
- [12] Siller H.: Was ist „Forensik“?
<https://wirtschaftslexikon.gabler.de/definition/forensik-53390>, verfügbar am 08.09.2023

- [13] Bremmer R., Nadort A., van Gemert M., van Leeuwen T., Aalders M: Age estimation of blood stains by hemoglobin derivative determination using reflectance spectroscopy
Amstredam, Elsevier, 2010
- [14] Peschel O, Ramsthaler F, Rothschild M: Forensische Blutspuren-musteranalyse
Berlin, Lehmanns, 2015
- [15] Stark, S.: Entwicklung einer Smartphone-App zur Blutaltersbestimmung

Hochschule Mittweida, 2017
- [16] Weinig, E.: Eine Methode zur Altersbestimmung von Blut und Spermaflecken
Deutsche Zeitschrift für gerichtliche Medizin, 1954
- [17] Fujita Y., Tsuchiya K., Abe S, Takiguchi Y, Kubo S , Sakurai H.: Estimation of the age of human bloodstains by electron paramagnetic resonance spectroscopy: Long-term controlled experiment on the effects of environmental factors

Japan, Elsevier, 2005

- [18] Boyd S., Bertino F., Seashols S.: Raman spectroscopy of blood samples for forensic applications
Richmond, Elsevier, 2011
- [19] Li B., Beveridge P., O'Hare W, Islam M.: The estimation of the age of a blood stain using reflectance spectroscopy with a microspectrophotometer, spectral pre-processing and linear discriminant analysis
Middlesbrough, Elsevier, 2011
- [20] Edelman G., Manti V., van Ruth S. , van Leeuwen T., Aalders M.: Identification and age estimation of blood stains on colored backgrounds by near infrared spectroscopy
Amsterdam, Elsevier, 2012
- [21] Thanakiatkrai P., Yaodam A., Kitpipit Y.: Age estimation of blood-stains using smartphones and digital image analysis
Songkhla, Thailand, Elsevier, 2013
- [22] Lin H., Zhang Y., Wang Q., Li B., Huang P. & Wang Z.: Estimation of the age of human bloodstains under the simulated indoor and outdoor crime scene conditions by ATR-FTIR spectroscopy
Scientific Reports, 2017
- [23] Fu J., Allen R.: A method to estimate the age of bloodstains using quantitative PCR, in Forensic Science International: Genetics
Oklahoma, 2018

- [24] Bergmann T. , Leberecht Ch., Labudde D.: Analysis of the influence of EDTA-treated reference samples on forensic bloodstain age estimation
Mittweida, Elsevier, 2021
- [25] Hanggi N., Bleka O., Haas C., Fonneløp A. : Quantitative PCR analysis of bloodstains of different ages
Zürich, Oslo, Elsevier, 2023
- [26] Lexikon der Chemie: Reflexionsspektroskopie,
<https://www.spektrum.de/lexikon/chemie/reflexionsspektroskopie/7873>, verfügbar am 09.09.2023
- [27] Günzler H., Gremlich H-U.: IR-Spektroskopie: Eine Einführung
Wiley-VCH Verlag GmbH, 2003
- [28] Harrick, N.: SURFACE CHEMISTRY FROM SPECTRAL ANALYSIS OF TOTALLY INTERNALLY REFLECTED RADIATION,
Physical Chemistry, 1960

- [29] Uni Münster: FT-IR-Spektroskopie
https://www.uni-muenster.de/imperia/md/content/physikalische_chemie/praktikum/app_ir.pdf, verfügbar am 09.09.2023
- [30] Lehmann, T.: UV/VIS-Spektroskopie
Berlin, 1997-2009
https://www.bcp.fu-berlin.de/chemie/chemie/studium/ocpraktikum/_Unterlagen_Spektroskopie/uv.pdf, verfügbar am 09.09.2023
- [31] Aparentas: Laborpraxis Band 4: Analytische Methoden, 6 Auflage
Springer, 2017
- [32] Öffentliches Gesundheitsportal Österreichs: Ethylendiamintetraacetat
<https://www.gesundheit.gv.at/lexikon/E/edta1.html>, verfügbar am 09.09.2023

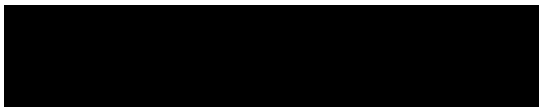
Selbstständigkeitserklärung

Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig und nur unter Verwendung der angegebenen Literatur und Hilfsmittel angefertigt habe.

Stellen, die wörtlich oder sinngemäß aus Quellen entnommen wurden, sind als solche kenntlich gemacht.

Diese Arbeit wurde in gleicher oder ähnlicher Form noch keiner anderen Prüfungsbehörde vorgelegt.

Köln, den 08.09.2023



Kristina Ostrovskaya