

SCIENTIFIC & TECHNICAL

The physical properties of blood – forensic considerations

MA RAYMOND*

Victoria Forensic Science Centre, Macleod, Victoria 3085, Australia

and

ER SMITH and J LIESEGANG

Faculty of Science and Technology, La Trobe University, Bundoora, Victoria 3083, Australia

Science & Justice 1996; 36: 153–160

Received 20 April 1995; accepted 4 October 1995

An informed understanding and appreciation of blood related crime scenes is only achieved through practical experimentation of simulated blood spatter. Because of the increasing frequency of the HIV, Hepatitis B and C viruses, the use of human blood may be hazardous for those involved in such experimentation. Porcine (pig) blood has been cited by some as a reasonable alternative, and this paper presents a comparison of the physical parameters (surface tension, viscosity and density) of ageing pig and fresh human blood, under a variety of conditions, as well as measurements of droplet trajectories and stain patterns. The results support the use of porcine blood (up to two weeks old) in representing the behaviour of freshly spilled human blood.

Une compréhension adéquate et une évaluation correcte des phénomènes d'éclaboussures de sang sur les scènes de crime ne peuvent être obtenues qu'à travers d'expériences en situation simulées. Du fait de l'incidence croissante des virus HIV, hépatite B et C, l'utilisation de sang humain peut être dangereuse pour les expérimentateurs. Le sang de porc a été proposé comme alternative raisonnable, et cet article présente une comparaison des caractéristiques physiques (tension de surface, viscosité et densité) du sang de porc de différents degrés de fraîcheur avec celles du sang humain frais, dans diverses conditions. Sont également comparées des mesures de trajectoires de gouttelettes et des images d'éclaboussures. Les résultats soutiennent l'usage de sang de porc (jusqu'à 2 semaines après prélèvement) comme représentatif du comportement du sang humain fraîchement versé.

Ein tieferes Verständnis von Tatorten wird nur in praktischen Experimenten durch Simulation von Blutsprenbildern erhalten. Wegen der Verbreitung von HIV sowie Hepatitis B und C ist für die Ausführenden solcher Experimente die Verwendung von Menschenblut allerdings riskant. Einige Autoren schlagen Schweineblut als Alternative vor. Die Arbeit berichtet über physikalische Werte (Oberflächenspannung, Viskosität, Dichte) von alterndem Schweineblut im Vergleich zu frischem Menschenblut bei verschiedenen Versuchsbedingungen und über die Messung der Tropfenflugbahnen und der Verteilungsbilder. Die Ergebnisse zeigen, daß mit Schweineblut (bis zu 2 Wochen alt) das Spritzverhalten von frischem Menschenblut gut dargestellt werden kann.

La apreciación y comprensión del escenario del crimen sólo se consigue a través de una experimentación práctica de simulación de salpicadura de sangre. Dado el aumento en la frecuencia de HIV y Hepatitis B y C, el uso de sangre humana para los que hacen este experimento puede ser peligroso. Se ha propuesto como alternativa razonable el uso de la sangre de cerdo. En este trabajo se presenta una comparación de los parámetros físicos (tensión superficial, viscosidad y densidad) de envejecimiento de la sangre de cerdo y la humana bajo una variedad de condiciones, así como medidas de trayectoria de las gotas y patrones de manchas. Los resultados apoyan el uso de la sangre porcina (de hasta dos semanas) para representar el comportamiento de la sangre humana, derramada fresca.

Key Words: Forensic science; Human blood; Reconstruction; Pig blood; Blood stain pattern experimentation.

* Corresponding author

Science & Justice 1996; 36(3): 153–160

153

Introduction

There are numerous occasions when the importance of the physical characteristics of blood far outweigh the biochemical. Consequently, analysis of physical patterns like blood-stain patterns at scenes of crime or on items of clothing may reveal a wealth of significant information.

There are a number of typical scenarios where this may apply. The suspect may have legitimately come into contact with a bloodstained victim, or may plead self-defence. A police member may be shot and there may be allegations of impropriety. Other examples include a suspicious death (homicide versus suicide), or where two persons or more have bled at the scene and the blood may have mingled. There may also have been a combination of any of the above.

Crime scene reconstruction may be very important for the correct interpretation of evidence. It is widely accepted that an informed understanding and appreciation of crime scenes comes from practical experimentation, in conjunction with an understanding of the causal science [1–5], and associated texts carry a significant practical or practically-orientated component. Experimentation often means that a significant volume of human blood is used in situations which may be hazardous for those concerned, given the increasing frequency of the HIV, Hepatitis B and C viruses.

It is common knowledge that pig organ substitution in humans is being trialled successfully both in Australia and America and that pig and human blood have very similar Haematocrit (Ht) or Packed Cell Volumes (PCVs) when fresh. Porcine (pig) blood has been cited by some as a reasonable alternative to human blood, but a comparison between the physical parameters of ageing pig and fresh human blood has not been documented in the literature.

Surface tension, viscosity and relative density measurements as well as measurements on free-falling drops and resulting stains were therefore made for both human and porcine blood, under a variety of conditions. It was also deemed to be necessary to compare the effect of length of storage at 4°C on the physical parameters of blood, as is likely to be the case if, for instance, a forensic training course were being conducted over a period of days.

The pigs used included both the Landrace and Duroc Cross pedigrees. The experimental conditions were deliberately chosen to simulate, as closely as possible, those in which blood is normally collected, even though this can produce physiological changes not truly representative of typical protein level concentrations, thereby influencing the viscosity [6]. For instance, pigs stressed by 'the abattoir process' are prone to the so-called 'acute phase response' which markedly affects the albumen level (Richardson S, personal communication, 1994). In addition, blood samples from different animals of the same species were mixed, to

ascertain whether there was a measure of agglutination (as would be expected with different ABO human types), thereby markedly influencing viscosity.

Experimental*Surface tension*

The surface tension pertinent to crime scene reconstruction is essentially that surface energy or tension characterised by a particular blood droplet's surface and air interface. In the absence of competing forces, the molecules at the interface will be drawn inwards, minimising the surface area for a given volume to give a spherical shape to the drop. As the surface area decreases, molecules are withdrawn from the surface into the interior of the liquid minimising surface energy. One consequence of surface tension is that the pressure on the concave side of the sphere exceeds that on the convex. This force counteracts the effect of the surface tension and prevents droplet collapse.

The surface tension (α) acting on the circumference of a droplet diametric circle results in force $\alpha \cdot 2\pi r$ which equals the pressure acting over the circular slice cut through the sphere ($P \cdot \pi r^2$) at equilibrium [7].

$$P = 2\alpha/r \quad (1)$$

This shows that the internal pressure is inversely proportional to the radius. Thus for very small droplets, the greatest influence on shape is surface tension, irrespective of competing forces.

The blood used in this work was pooled porcine blood which was maintained at either room temperature or 4°C, for different periods of time, to study both the effect of time and temperature on the surface tension of blood. It was felt to be necessary also to measure the surface tension of pooled human blood under similar conditions, owing to the paucity of documentation for this parameter. Two reliable methods for surface tension determination were used to cross-reference and therefore corroborate the results.

The drop weight method This method was chosen simply because of the ease of construction of the apparatus, convenience, reasonable accuracy and more importantly, the fact that the method models a blood droplet leaving a finger or weapon. The procedure is simply to allow drops to form very slowly at the end of a nozzle. The gravitational pull on the drop mass ultimately overcomes the surface tension forces, whereupon the drop becomes detached and falls (Figure 1). In other words, the maximum force available to support the weight (W) of the drop is the product of the surface tension force per unit length and the circumference of the tip. This gives rise to Tate's Law: $W = 2\pi r\alpha$, where α represents surface tension and r the aperture radius.

It is well established, however, that only a portion W' of the droplet actually falls, as high speed photography clearly shows and as illustrated in Figure 1. The droplet forms a

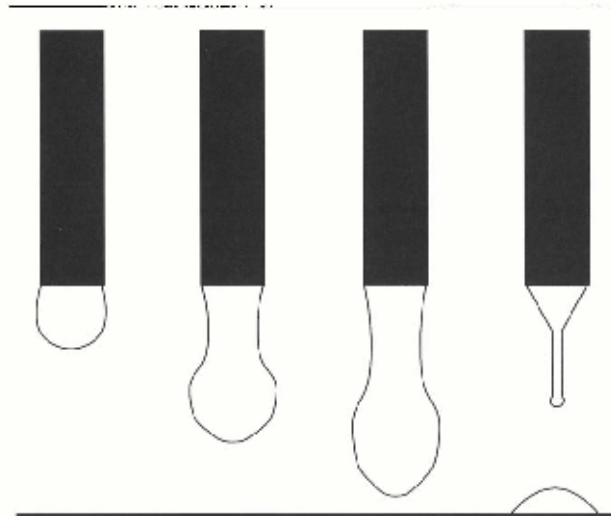


FIGURE 1 Droplet becoming detached and falling leaving a small volume of liquid remaining.

long thin neck just prior to falling and that neck, or at least most of it, remains adhered to the orifice tip. The narrowest part of the neck may break off to form a separate very small droplet. It has been estimated that as much as 40% of the liquid may remain attached to the tip. With blood, there is the additional complicating factor of the residual blood slowly drying at the edge of the circumference of the nozzle tip, leaving behind cellular matter and thereby altering the dimensions of the circumference. These non-wetting properties of blood mean that the internal radius of the tip should be used.

The inability to register a true mass was treated mathematically by the method of Harkins and Brown [8] who calculated that the actual drop weight should be represented by

$$W' = 2\pi r \alpha f \quad (2)$$

where $f = \psi(x/a) - \phi(r/V^{1/3})$, a is the capillary constant and V the drop volume which they verified experimentally. Thus surface tension can be obtained from tables of f and from

$$\alpha = mg/2\pi r f \quad (3)$$

where m is the mass of the drop and g the acceleration due to gravity (9.81 m/s^2).

It is desirable to use only those values of $r/V^{1/3}$ where the f value varies most slowly. This method is quoted as being accurate to 0.1–0.2% provided that the drops are formed very slowly, particularly just prior to detachment.

The apparatus, designed by the authors and used for this method, was a 'Droplet Delivery Mechanism Apparatus', which allowed the throughput of droplets of liquid of a pre-determined constant mass (or radius), at a pre-set constant temperature. The apparatus consisted of a reservoir which fed into a thermostatically-controlled, constant-head tank

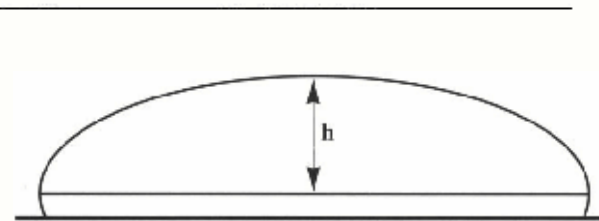


FIGURE 2 A sessile drop, illustrating how the height 'h' is measured.

(to ensure uniform drop-mass delivery). The header tank also housed an electric stirrer to ensure temperature consistency. Droplet size, temperature and delivery rate were fixed for a given investigation. The aperture which modified drop size was an interchangeable brass funnel connected via an 'O' ring to a needle valve housed internally in the apparatus with only the valve tap protruding through the top of the apparatus. This meant that the valve could easily be controlled manually, but more importantly, that all of the fluid right up to the interchangeable brass funnel, was maintained at the predetermined temperature. Drop mass was thus regulated and controlled by the constant head and the temperature could be maintained at $37 \pm 0.5^\circ\text{C}$.

The images of the droplets leaving the tip were captured by two cameras positioned at 90 degrees to one another. This ensured that, within experimental error, the drops were photographed when situated at the centre of the camera viewfinders to minimise any parallax error.

The sessile drop method This well known procedure is one commonly used for liquids with high surface tensions. The method and theory is covered by Adamson [7] and Burdon [9]. A large drop of the liquid is formed in either a cup-shaped depression, a concave surface or on a plane. The vertical distance h , is measured between the summit and the plane (through the points at which the tangent to the surface is vertical (usually termed the equatorial plane)). Therefore measurements are made on the part of the drop not in contact with the solid and results should be independent of the surface and its properties. The large drop size provides an internal check against drop contour irregularities due to irregular wetting. As the size of the drop increases, the curvature at the apex becomes less pronounced and tends to zero as the drop size approaches infinity. For very large drops, therefore, only one radius of curvature (that in the plane of the drawings) need be considered, Figure 2. This means that surface tension is simply described by the formula

$$\alpha = \Delta pgh^2/2 \quad (4)$$

where Δp represents the differential pressure across the surface of the drop. Experimental data have shown that this formula holds adequately for drops of radius of

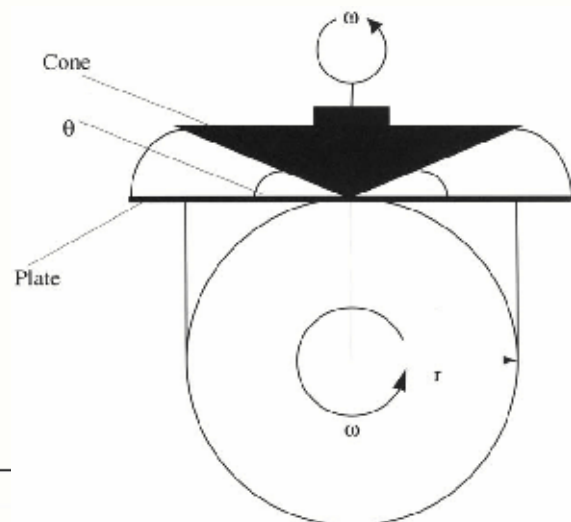
approximately two centimetres with no correction factor necessary.

It was found to be necessary with sessile blood drops to coat the surface of the plane surface, upon which the drop sat, with an even deposit of high viscosity grease. Otherwise, it was extremely difficult even with a clean hydrophobic surface to ensure that the drop shape was not adversely influenced by surface tension 'point' variation effects between the surface and the drop.

The droplets were photographed using Technical Pan Film, f stop 5.6 at a shutter speed of 1/15s. The contrast of the product was enhanced by treating the film as ASA 50. The camera was mounted relative to the drop in such a way that the focal distance did not alter between photographs.

Finally, a vertical scale was photographed at the same distance to enable accurate measurements of the drop photographs against the scale reference to be made, using a Wild Leitz TM-9010 System Monitor. This is an optical microscope interfaced with a digital length measuring apparatus and can be calibrated by tracking against a scale to give a very accurate estimate of the actual dimensions of the drop. The camera and drop surfaces were levelled prior to photography with a spirit level and the surface was placed on a flatbed electrophoresis unit connected to a water pump system, which could be held at $37 \pm 0.5^\circ\text{C}$ during data collection.

Photographs were taken of distilled water and mercury as internal controls, human blood in both ACD and EDTA anticoagulants from a number of sources and porcine blood taken from four different animals. The large drops of pig blood were photographically captured fresh, and after one and two weeks of 4°C incubation.



156

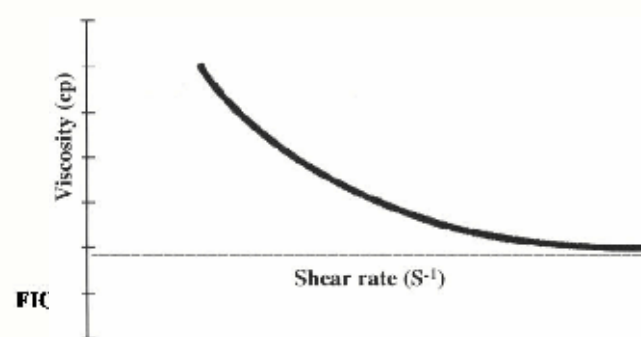
Viscosity

Ten porcine blood samples were collected directly into EDTA anti-coagulant bottles from the necks of animals killed at the abattoirs.

The method chosen for accuracy and speed was that using the cone plate viscometer [10–15]. The Wells-Brookfield Cone/Plate Viscometer (Figure 3) is a torque measuring system which utilizes a calibrated beryllium/copper spring to quantify the resistance offered by a sample fluid to a rotating cone. The fluid sits between the cone spinning at a predetermined speed and a stationary plate. The resistance to the cone rotation is proportional to the shear stress in the fluid where shear stress is itself defined as the rate of deformation of the fluid. The shear rate is a function both of the cone rotational speed and the gap between the cone and the plate. The viscosity is the ratio of the shear stress to the shear rate and may be considered to be a constant for a Newtonian fluid. Blood as a non-Newtonian fluid, however, may be expected to have a viscosity which is dependent on the shear rate (Figure 4).

Viscosity measurements were also made using a Wells-Brookfield Programmable Rheometer according to the specifications laid down by that manufacturer. The instrument was calibrated by a National Association of Testing Authorities, Australia (NATA) registered laboratory prior to use and re-calibrated at 37°C using the Brookfield Viscosity Standard Fluid 10, Lot No. H2288, before and after the generation of each set of data points. This oil has a viscosity of 9.6 centipoise (cps) at 25°C and should have a value of 7.7 ± 0.1 cps at 37°C .

Haematocrit (Ht) value Since viscosity is considered to be a function of the haematocrit value, the estimation of the packed cell volume, it was thought necessary to determine the Ht value of fresh and aged pig blood, to be able to make comparisons with those figures cited in the literature for both fresh human and fresh pig blood [16]. The technique used was the standard Australian method as laid down by the National Association of Testing Authorities (NATA)



Science & Justice 1996; 36(3): 153-160

which requires that the blood Ht tubes be centrifuged at 12000 rpm for 3–5 minutes. Haematocrit measurements were made and normalisation effected according to the formula

$$\left[\frac{\text{The Ht value from analysis}}{\text{the Ht value required}} \right] - 1 = \frac{\text{Volume of sample plasma needed to add to}}{\text{1 ml of sample whole blood}} \quad (5)$$

Analyses were commenced within three hours of acquisition of the samples. The same ten pig blood samples were split into 4°C and room temperature regimes and re-tested (unadjusted) after eight days and again after 14 days. These samples were not normalised as there was significant lysis which varied considerably from sample to sample. This would have made such an analysis fairly meaningless, particularly as some of the samples appeared to have been significantly affected by yeast and/or bacterial contamination.

In addition, equal volumes of the ten samples were mixed and subjected to exactly the same conditions as those described. The rationale was simply to determine whether the agglutinins of some of the pigs formed complexes or reacted with the agglutinogens of others, in such a way as to influence the viscosity of the mixture in the short or long term.

Finally, as blood is a non-Newtonian fluid, whose viscosity typically approaches a limiting value at shear rates in excess of 200s⁻¹, a comparison was made between the velocity of the blood in the moving droplet with the velocity of the blood between the cone and plate of the rheometer, to ascertain whether the two were sufficiently similar to allow meaningful viscosity comparisons to be made.

Relative density (specific gravity)

The method used was essentially that described by Nelkon and Ogborn [17]. The relative density of the blood was measured using a pycnometer graduated to hold a volume of 10ml at 20°C. The pycnometer was weighed dry at 37°C, with distilled water as a reference sample at 37°C, with fresh human blood from a number of individuals and finally with fresh pig blood. The anticoagulant used for the human sources was both EDTA and ACD. This process was repeated for one- and two week old pig blood which had been stored at 4°C. Four different pigs were tested in each case. All weighings were made by a Mettler top-loading balance in a 37°C ± 0.5°C incubator which had been calibrated at that temperature after equilibration. Time was allowed for equilibration after each step in the weighing process.

Blood stain size versus blood droplet size

The drop-weight apparatus was used to ensure that the blood droplets were of a consistent and measurable weight and were being propagated at a temperature of approximately 37°C. This meant that an accurate radius could be

determined and measured against the resulting stain size. Two different aperture sizes were used to generate different size drops. The target surfaces were those typically associated with a crime scene comprising a gloss acrylic and a low sheen paint surface, linoleum, laminate, glass and face brick. The drop distance from aperture to target surface (1.7m) was chosen such that the droplet velocity was, firstly, not substantially different from terminal velocity and secondly, approximately the distance between an adult male face and the ground.

Results and discussion

There are five factors influencing the shape of a liquid droplet: surface tension, hydrostatic pressure, aerodynamic pressure, internal circulation and electric stress. Research suggests that internal circulation would have minimal effect on drop shape and the electric field stress is not applicable here. Hydrostatic and aerodynamic pressures are more complicated than the aqueous drop at terminal velocity model, as the velocity and direction of the crime scene blood droplet are almost always changing in flight.

Blood is a unique fluid, with physiological properties (such as its ability to clot), which potentially also serve to complicate computations. Clotting and drying times, however, appear to be of an order of magnitude unlikely to influence the ballistic nature of blood droplets [18].

Blood is not a medium which easily lends itself to some aspects of analysis characterisation. Once outside the body, a number of complex mechanisms come into play, which make the fluid unique. In addition to the normal liquid drying factors, namely ambient temperature, prevailing air currents and humidity, blood both clots and, under certain conditions, differentiates into two principal components – the particulate matter and the plasma.

The speed with which an assault takes place, where blood is airborne for a fraction of a second, means that the concerns over clotting, drying or separation factors are largely unfounded. The bloodstain patterns generated by the dynamics of an assault are a result of small drops or stains of blood impacting on surfaces. The parameters above may only be an issue if the assault is protracted, or is effected in stages.

There are only three physical properties which directly influence the flight characteristics and the non-Newtonian properties of the blood drops or smears: namely, surface tension, viscosity and specific gravity or density. Consequently, in any reconstruction, re-enactment or simulation, it is important to know that the blood being used closely approximates human blood leaving the body. For instance, it is generally necessary to use an anti-coagulant and, if large volumes are needed, it is not uncommon to use animal blood in lieu of human. Animal blood is easily obtained in volume from an abattoir and believed to be free

Of from the HIV and hepatitis viruses associated with human blood. The other consideration is the way in which liquid blood performs after storage at room temperature, 4°C or -70°C. It appears to be only specific gravity or density measurements of blood from various species that have been well documented by Wintrobe [16].

Surface tension

Falling drop method The falling drop apparatus as devised required approximately 0.5 litres of liquid to maintain a constant head at 37°C ± 0.5°C. The apparatus was tested with distilled water and gave a surface tension range value of 6.6–7.0 × 10⁻² Newtons per metre (N/m) using two different sized apertures. Table 1 gives a literature value of 7.14 × 10⁻² N/m. Fresh human blood preserved in acid citrate dextrose (ACD) gave a value of 6.1 × 10⁻² N/m. ACD was the preservative used by the Victorian Blood Transfusion Service.

TABLE 1 Surface tension results obtained by drop weight and sessile drop methods.

	Surface tension (x 10 ⁻² N/m)	
	drop weight	sessile drop
Distilled water	6.6–7.0	6.9–7.25
Human blood	6.1	5.1–5.7
Pig blood (fresh)	5.1	5.3–5.8
Pig blood (7 days)	5.6	5.3–5.65
Pig blood (14 days)	5.7	5.1–5.6

Pooled pig blood, preserved in EDTA, gave values of 5.1 × 10⁻² N/m for fresh blood, and 5.6 and 5.7 × 10⁻² N/m for pig blood, one- and two-weeks old respectively. The blood was stored at 4°C when not under test conditions. The major problem associated with this method was the propensity of the blood to leave a small residue of cellular matter on the aperture circumference which built up over a period of time thereby altering the effective diameter of the aperture. Consequently, the apparatus aperture needed constant monitoring and cleaning. In addition, it was not possible to use small apertures, as small radii values give rise to significant errors in the value of the corrective factor *f*, as in equations 2 and 3.

The sessile drop method The small volume of blood necessary for this technique (< 2 ml) meant that blood samples from a number of persons could be analysed with relative ease. Distilled water test results ranged from 6.9–7.25 × 10⁻² N/m. The surface tension of blood taken from five individuals was analysed as 5.1–5.7 × 10⁻² N/m (Table 1). The difference in anticoagulants, on the small number of samples tested, did not appear to have significantly influenced results.

The surface tension results obtained for the four pig bloods, each tested fresh and at one and two weeks of age, were 5.1–5.8, 5.3–5.65 and 5.1–5.6 × 10⁻² N/m respectively, and were very similar to values obtained for humans. In addition, there was no significant change in surface tension with storage at 4°C.

Viscosity

The haematocrit value (Ht) is generally considered to be a useful guide to the viscosity of a fluid. The typical Ht value for pig blood is not at all dissimilar to that of human blood (Table 2). The viscosity of pig blood, however, is approximately 20% higher than fresh human blood (Table 3). This difference is extended to 60% after two weeks incubation at 4°C. Incubation at body temperature for that period, not surprisingly, gave results that rendered it entirely unsuitable for further use. Mixing blood from different pigs did not appear to influence the resultant viscosity in any measurable way.

TABLE 2 Change of haematocrit values of pig blood over time and temperature. Published range of pig blood: 38.9–46.3. Published range of human blood: 40.0–45.0.

Age of blood	Temperature	
	4°C	37°C
Fresh pig blood	40.5	
1 week old	44.6	45.0
2 weeks old	47.0	50.0

TABLE 3 Range of viscosities obtained for pig blood. Typical published range of human blood: 3.2–4.4.

Age of blood	Temperature	
	4°C	37°C
Fresh pig blood	3.9–5.4	
8 days old	4.9–6.3	6.3–8.8
2 weeks old	5.5–6.9	6.8–>10

Velocity within a droplet Given that the viscosity of a non-Newtonian fluid varies with shear stress, it was important to determine whether the velocity in a typical airborne droplet was of a similar magnitude to the blood under test. It is possible to calculate the velocity *V* at the maximum droplet distortion by taking the distance *r* from the droplet centre to the furthest point on the droplet surface to be

$$r = R + \epsilon(t) \quad (6)$$

where *R* is the radius in the equilibrium position and $\epsilon(t)$ represents the change (distortion) at time *t*. From potential flow theory of small oscillations [19] where $V_r(R)$ represents, we have

$$V_t(R)_{\max} = 2aRY_{20\max} \quad (7)$$

where a is an arbitrary small constant from the mathematical analysis.

$$\text{Hence } V_t(R)_{\max} = \omega(r_{\max} - R) \quad (8)$$

From the theory for small oscillations of droplets, we have

$$r_{\max} = R + 2aRY_{20\max} / \omega \quad (9)$$

where ω is the angular frequency of oscillation and $Y_{20\max}$ is the maximum of a spherical harmonic function, so that a is a measure of the amplitude of the oscillation.

This allows us to make a comparison between the velocity of the blood in the droplet against the velocity of the blood between the cone and plate of the rheometer used for measurement.

An 'extreme' velocity likely to be encountered can be modelled thus

$$R = 2.25\text{mm}; 80\%A = 0.45\text{mm}; T = 0.03\text{s}$$

$$\text{Internal velocity} = 30 \text{ mm/s} \quad (10)$$

For a rheometer cone radius of 24mm where the cone is being rotated at 60 revolutions per minute (rpm), the velocity at a point on the circumference of the cone is

$$60 \times 2\pi \times 24 / 60 = 150 \text{ mm/s}$$

A smaller droplet will have an oscillation period of $< 0.03\text{s}$, (a 1.0mm drop, for instance, has a period T of 0.01s) and so $V_t(R)_{\max}$ will be $> 100\text{mm/s}$, which is approximately equal

to the viscosity measured by the cone/plate method at 60 rpm. At this revolution speed, which implies a shear rate of 230s^{-1} , the viscosity of blood approaches a limit as illustrated in Figure 4.

Relative density

The relative density measured for human blood containing ACD or EDTA anti-coagulant was found to be almost identical to the published range; (1.052–1.063 versus 1.056–1.061) [16]. The values determined for fresh, one- and two-week-old pig blood were again not significantly different from either the human values or one another; 1.062, 1.058 and 1.058 respectively (Table 4).

Blood stain size versus blood drop size

The stain size ranges produced by droplets of controlled size are shown in Table 5. As may be seen, the stain sizes showed little variation with target surface. It should be remembered that, unlike carpet or fabric, none of the surfaces used could be considered to be absorbent; stains on absorbent material do not accurately reflect drop size or direction. There did not appear to be any significant difference between the stain diameter sizes produced by human or pig blood drops. There was, however, a distinct trend towards a slightly decreasing pig blood stain width with age of the blood, despite the lack of change of surface tension with time. This may be due to the change in frictional properties (viscosity) of the blood over time, as the cellular material in the blood lyses and degrades with age and exposure to the atmosphere.

Two different aperture sizes were used. The stain widths generated on all surfaces tested were found to be 4.5–5.0 times the diameter of the blood drops, at approximately 37°C , that produced them. This gives a measure of the 'flying' drop size which produces any given stain on a non-absorbent surface. These results are entirely consistent with those obtained by other researchers using water as their medium [20].

Conclusion

The comparison of fresh human blood with fresh and aged porcine blood using the parameters surface tension, viscosity and relative density, shows a remarkable similarity between the two. This means that it is valid to use pig blood

TABLE 4 Effect of ageing on relative density of pig blood. Typical published human range: 1.052–1.063.

Blood	Specific gravity (relative density)
Fresh human	1.056–1.061
Fresh pig	1.062
1 week old pig	1.058
2 week old pig	1.058

TABLE 5 Stain sizes (mm) obtained on different target surfaces from controlled drop volumes. Two different aperture sizes indicated by λ . Blood stored at 4°C between tests.

Blood	Surface					
	gloss acrylic	low sheen	linoleum	laminar	glass	face brick
Fresh human	21.0/19.8	20.2/19.0	19.8/18.9	20.0/19.7	20.6/19.3	20.0/18.2
Fresh pig	19.7/18.6	19.2/18.7	19.8/19.4	19.9/19.5	20.1/19.8	18.8/18.1
1 week old pig	19.6/19.0	19.3/18.7	19.7/19.4	19.7/18.4	18.3/18.2	19.3/18.7
2 week old pig	18.5/18.3	18.7/17.8	19.0/18.4	18.9/18.3	18.6/18.2	18.4/18.0

instead of human blood for the re-enactment of a crime scene or for educational purposes, even when the pig blood is up to two weeks old, provided it has been incubated at 4°C for that period. It should be remembered, however, that the viscosity of pig blood is higher than that of human blood and consequently will dampen drop distortion faster than is the case for human blood. The extent of this effect and the implications for impact angle measurement may be calculated.

Finally, the fact that the human blood stain width/drop diameter ratio (4.5–5.0) is comparable to that of pig blood, not only allows drop size estimation, but also confirms the validity of the latter as a safe, convenient alternative to human blood with all its associated health hazards.

Acknowledgements

Thanks are due to Robert Hall, David Grace and Max Jones of the Victorian Forensic Science Centre for their invaluable photographic expertise and assistance, to Horst Dressel and Joe Tomallyay from the mechanical, and electronic workshops respectively, School of Physics, La Trobe University, to the Heidelberg Repatriation Hospital for the use of their viscometer, and to the National Institute of Forensic Science, Australia for financial support. Elements of this paper were presented at the 12th Australian and New Zealand International Symposium on the Forensic Sciences, November 1994.

References

- MacDonell HL. *Bloodstain Pattern Interpretation*. New York: Laboratory of Forensic Science Publishers, 1982.
- MacDonell HL. *Bloodstain Patterns*. New York: Laboratory of Forensic Science Publishers, 1993.
- Laher TL and Epstein BP. *Bloodstain Pattern Analysis*. Minneapolis, MN: Callan Publishing, Inc., 1983.
- Stephens BG and Allen TB. Backscatter of Blood from Gunshot Wounds – Observations and Experimental Simulations. *Journal of Forensic Sciences* 1983; 28(2): 437–439.
- Lukert WG and James SH. *Interpretation of Bloodstain Evidence at Crime Scenes*. The Netherlands: Elsevier Science Publishing Co., Inc., 1989.
- Schreiber G. Synthesis, Processing and Secretion of Plasma Proteins by the Liver and Other Organs and their Regulation. In: *The Plasma Proteins*, Vol. V, 2nd edition. Sydney: Academic Press, 1987.
- Adamson A. *Physical Chemistry of Surfaces*. 3rd edition. New York: Interscience, Wiley, 1976: 1–45.
- Harkins WD and Brown FE. The determination of surface tension (free surface energy) and the weight of falling drops: the surface tension of water and benzene by the capillary height method. *Journal of the American Chemical Society* 1919; 41: 499–523.
- Burdon RS. The surface tension of mercury in a silica apparatus. *Transactions of the Faraday Society* 1922; XXVIII: 866–876.
- Wells RE, Denton R and Merrill EW. Measurement of viscosity of biologic fluids by cone plate viscometer. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine* 1964; 57(4): 646–656.
- Stuart J. Measurement of blood rheology. *Hematology* 1968; August/September edition: 19–21.
- Clarrn SE and Kurland GS. A Comparison of Couette, Cone and Plate and Capillary Tube Viscometers for Blood. 5th European Conference Microcirculation, Gothenburg 1968. *Bibliotheca Anatomica*; 10: 83–91.
- Clarrn SE and Kurland GS. Discrepancy in measuring blood in couette, cone and plate, and capillary tube viscometers. *Journal of Applied Physiology* 1968; 25(6): 786–789.
- Copley AL. Non-Newtonian behavior of surface layers of human plasma protein systems and a new concept of the initiation of thrombosis. *Biorheology* 1971; 8: 79–84.
- Ernst E, Monshausen Ch. and Maurai A. Blood viscosity – a comparative study on three rotational instruments. *Biorheology* 1985; 22: 471–475.
- Wintrobe MM. *Clinical Haematology*. 7th edition. Philadelphia: Lea and Febiger, 1975.
- Nelson M and Ogborn JM. *Advanced Level Practical Physics*. 2nd Edition. London: Heinemann Educational Books Ltd., 1962: 246–247.
- Dacie JV and Lewis SM. *Practical Haematology*. 5th edition. Edinburgh: Longman Group Ltd., 1975.
- Landau LD and Lifshitz EM. *Fluid Mechanics*. Volume 6 of *Course of Theoretical Physics*. Oxford: Pergamon Press, 1986.
- Fukui I, Shūba Y, Yamamoto I, Miyatake O, Poulifakos D, Megaridis CM and Zhao Z. Wetting effects on the spreading of a liquid droplet colliding with a flat surface: experiment and modeling. *Physical Fluids* 1995; 7(2): 236–247.



The Physical Properties of bloods – Forensic Considerations

การพิจารณาคุณสมบัติทางกายภาพของเลือด

ตามกระบวนการทางนิติวิทยาศาสตร์

MA RAYMOND (Corresponding author) Victoria Forensic Science Centre, Macleod,

Victoria 3085, Australia

ER SMITH and J LIESEGANG Faculty of Science and Technology, La Trobe University,

Bundoora, Victoria 3085, Australia

จัดทำโดย

นายพิชิตพล แม่นวงศ์

รหัสนักศึกษา 52312327

เสนอ

รศ.ดร.ธนิต ผิวนิยม

กระบวนการสัมมนานิติวิทยาศาสตร์ 1 (510701) ภาคเรียนที่ 1 ปีการศึกษา 2553

หลักสูตรปริญญาโท สาขานิติวิทยาศาสตร์

คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร วิทยาเขตพระราชวังสนามจันทร์

คำนำ

รายงานสัมมนาเรื่อง The Physical Properties of Blood – Forensic considerations "การพิจารณาคุณสมบัติของเลือดตามกระบวนการทางนิติวิทยาศาสตร์ เล่มนี้ ใช้เพื่อประกอบการเรียนการสอนในกระบวนวิชาสัมมนานิติวิทยาศาสตร์ 1 ปีการศึกษา 2553 ภายในเนื้อหาจะกล่าวถึงการทดลองในเลือดสุกซึ่งผู้ที่ได้ทำการวิจัยเรื่องนี้ได้นำมาหาค่าแรงตึงผิว ความหนืด และความหนาแน่นเพื่อเปรียบเทียบกับค่าปกติในเลือดมนุษย์ การวิจัยเรื่องนี้เพื่ออำนวยความสะดวกและเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่จะนำเลือดสุกมาใช้ในการจำลองสถานที่เกิดเหตุแทนที่จะใช้เลือดมนุษย์ซึ่งพบว่ามีความเสี่ยงต่อเชื้อ HIV ไวรัสตับอักเสบบี และไวรัสตับอักเสบบี C ซึ่งผู้จัดทำรายงานเรื่องนี้หวังไว้เป็นอย่างยิ่งว่าจะเป็นประโยชน์ต่อผู้อ่านและผู้สนใจในใคร่รู้ไม่มากก็น้อย

(นายพิชิตพล แม่นวงศ์)

ผู้จัดทำรายงาน

สารบัญ

เรื่อง	หน้าที่
Abstract	1
Introduction	2
Experimental	2
Result and discussion	5
Conclusion	7
References	8
บทคัดย่อ	9
บทนำ	10
วิธีการทดลอง	12
ผลการทดลองและวิจารณ์ผล	19
สรุปผลการทดลอง	25
เอกสารอ้างอิง	26
ภาคผนวก	28

บทคัดย่อ

ความเข้าใจและการตระหนักในข้อมูลเกี่ยวกับรอยเลือดที่พบในที่เกิดเหตุอาชญากรรมนั้น สามารถทำได้โดยผ่านการทดลองภาคปฏิบัติกับสถานการณ์จำลองที่เกิดเหตุการณ์ที่มีรอยเลือดสดกระเซ็นอยู่ เนื่องด้วยปัจจุบันมีการเพิ่มขึ้นของบุคคลที่เป็น HIV และโรคไวรัสตับอักเสบบี และ ซี เป็นจำนวนมาก ดังนั้นการใช้เลือดของมนุษย์ในการทดลองที่กล่าวไปนั้น จึงเป็นอะไรที่ค่อนข้างอันตราย เลือดของสุกรเป็นทางเลือกที่เหมาะสมทางหนึ่งที่ได้มีการอ้างอิงถึง ซึ่งในรายงานนี้จะเสนอเกี่ยวกับการเปรียบเทียบพารามิเตอร์ทางกายภาพ (แรงตึงผิว ความหนืด และความหนาแน่น) ของเลือดหมูที่มีอายุและเลือดมนุษย์สดที่สภาวะต่างๆ รวมทั้งการตรวจวัดรูปแบบของคราบเลือดอันเกี่ยวข้องกับวิถีกระสุน ซึ่งผลการทดลองการเปรียบเทียบที่กล่าวไปสนับสนุนให้ใช้เลือดของสุกร(ที่มีอายุมากกว่า 2 สัปดาห์ขึ้นไป) แทนวิธีการปฏิบัติที่ใช้เลือดของมนุษย์สดที่แยกออกมา

บทนำ

มีหลายครั้งหลายหนที่คุณลักษณะทางกายภาพของเลือดมีความสำคัญว่าคุณลักษณะทางชีวเคมีอยู่มาก การวิเคราะห์รูปแบบทางกายภาพ เช่น ลักษณะรอยเปื้อนเลือดบนสิ่งของหรือเสื้อผ้า ณ ที่เกิดเหตุอาชญากรรมจึงสามารถช่วยเปิดเผยข้อมูลที่มีนัยสำคัญต่อรูปคดีได้อย่างดี

อาจมีคดีพิเศษเฉพาะที่จะต้องใช้กระบวนการทางกายภาพนี้เพื่อมาตรวจสอบ ผู้ต้องสงสัยอาจสามารถกลายเป็นผู้บริสุทธิ์ได้ หรืออาจหาข้อแก้ต่างให้กับตนเองได้ โดยการเกี่ยวข้องกับลักษณะของรอยเปื้อนเลือด ตำรวจอาจถูกยิงและอาจมีข้อกล่าวหาที่ไม่ถูกต้องเกิดขึ้น ตัวอย่างอื่น ๆ ที่รวมอยู่ในการเสียชีวิตอย่างมีเงื่อนไข (โดนฆาตกรรม หรือ ฆ่าตัวตาย) หรือ ณ ที่เกิดเหตุที่ 2 บุคคลหรือมากกว่านั้น มีเลือดไหลออกมาปนกัน หรือเหตุการณ์ที่กล่าวไปทั้งหมดอาจเกิดขึ้นรวมกันก็ได้

การจำลองสถานการณ์ ณ ที่เกิดเหตุขึ้นมาใหม่ อาจเป็นสิ่งที่สำคัญมากเพื่อที่จะได้มาซึ่งหลักฐานที่ได้รับการแปลความอย่างถูกต้อง มีการยอมรับอย่างกว้างขวางว่า ความเข้าใจและการตระหนักในข้อมูลเกี่ยวกับรอยเลือดที่พบในที่เกิดเหตุอาชญากรรมนั้น สามารถทำได้โดยผ่านการทดลองภาคปฏิบัติกับสถานการณ์จำลองที่เกิดเหตุการณ์ ร่วมกับความเข้าใจในเหตุผลทางวิทยาศาสตร์[1-5], และเนื้อหาที่เกี่ยวข้องอื่น ๆ ที่เป็นประโยชน์และนำมาสู่องค์ประกอบที่สอดคล้องกับสถานการณ์ การทำการทดลองที่กล่าวถึงนี้ มีความหมายถึงการต้องใช้เลือดคนมนุษย์ปริมาณมาก ซึ่งอาจทำให้ผู้ที่เกี่ยวข้องกับการทดลองต้องพบอันตรายจากเลือดมนุษย์ซึ่งในปัจจุบันมี HIV และเชื้อไวรัสตับอักเสบบี และ ซี เจือปนอยู่สูง

เป็นที่รู้โดยทั่วไปว่า การนำอวัยวะที่ถูกนำมาใช้แทนที่ในมนุษย์ได้รับความประสบความสำเร็จในการศึกษาทดลองในประเทศออสเตรเลียและอเมริกา และเป็นที่รู้กันอีกว่าเลือดหมูและมนุษย์มี Haematocrit (Ht) หรือ Packed Cell Volumes(PCVs) ที่คล้ายกันมากเมื่ออยู่ในสภาพสด เลือดของสุกรเป็นทางเลือกที่เหมาะสมทางหนึ่งที่ได้มีการอ้างอิงถึง แต่ยังไม่มียางานหรือเอกสารที่เกี่ยวข้องกับการเปรียบเทียบพารามิเตอร์ทางกายภาพของเลือดหมูมีอายุ กับเลือดสดของมนุษย์เขียนขึ้นมาเลย

มีการตรวจวัดแรงตึงผิว, ความหนืด และความหนาแน่น เช่นเดียวกับการตรวจวัดหยดเลือดที่หล่นมาอย่างอิสระ ทั้งในเลือดสุกรและเลือดมนุษย์ ภายใต้สภาวะหลายรูปแบบ และยังมีกรเชื่อว่าจำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องเปรียบเทียบผลกระทบของระยะเวลาการเก็บที่อุณหภูมิ 4°C ต่อพารามิเตอร์ทางกายภาพของเลือด เพื่อตอบโจทย์ในกรณีหลักสุกรการอบรมด้านนิติวิทยาศาสตร์นั้นใช้เวลานานหลายวัน

สุกรที่ใช้มีการใช้ทั้งในสายพันธุ์ Landrace และ Duroc Cross มีการเลือกเตรียมสภาวะการทดลองอย่างประณีตที่ถ่วงและให้ใกล้เคียงสภาพเลือดที่ต้องเก็บจากที่เกิดเหตุโดยทั่วไปให้มากที่สุด แม้ว่าสภาวะเหล่านี้สามารถทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลง

ทางกายภาพซึ่งเกี่ยวข้องกับการมีอยู่จริงของความเข้มข้นของระดับโปรตีนเฉพาะ ซึ่งมีอิทธิพลต่อความหนืด [6] ตัวอย่างเช่น หมูที่ถูกบีบคั้นโดย 'กระบวนการในโรงฆ่าสัตว์' มีแนวโน้มที่จะถูกเรียกว่าเป็น "การตอบสนองเฟสรุนแรง" (acute phase response) ซึ่งมีผลกระทบอย่างเด่นชัดต่อระดับแอลบูมิน (Richardson S, personal communication, 1994) นอกจากนี้ยังมีการผสมตัวอย่างเลือดจากสัตว์คนละตัวในสปีชีส์เดียวกัน เพื่อให้มั่นใจว่ามีการวัดตรวจวัดผลของการจับตัวเป็นก้อนของเลือด (ดังที่มีการคาดการณ์ว่ามีการจับตัวเป็นก้อนในเลือดมนุษย์ที่มีประเภทของ ABO ต่างกัน) ซึ่งมีอิทธิพลต่อความหนืดของเลือดอย่างเด่นชัด

วิธีการทดลอง

แรงตึงผิว

ประเด็นเกี่ยวข้องโดยตรงกับแรงตึงผิว ณ การจำลองที่เกิดเหตุอาชญากรรมคือ การเน้นเรื่องพลังงานผิวหรือคุณลักษณะของแรงตึงอันเกิดจากผิวหน้าจำเพาะที่เป็นรอยต่อระหว่างหยดเลือดกับส่วนของอากาศ (blood-air interface) เมื่อไม่มีแรงแข่งขัน (competing force) โมเลกุลที่บริเวณรอยต่อดังกล่าวจะวิ่งเข้าไปข้างใน ทำให้พื้นที่ผิวของปริมาตรเลือดที่ให้มา มีรูปร่างกลมเมื่อหยดลงมา เมื่อพื้นที่ผิวหน้าลดลง โมเลกุลจะถูกถอนออกจากพื้นผิวเข้าไปอยู่ข้างในของเหลว ทำให้พลังงานผิวหน้าลดลง ผลที่ตามมาอีกหนึ่งเรื่องของแรงตึงผิวก็คือ ความดันบนด้านโค้งของทรงกลมเพิ่มขึ้นตามความชันของพื้นผิว แรงนี้ต่อต้านผลจากแรงตึงผิวและป้องกันการยุบตัวของเม็ดเลือด

แรงตึงผิว (α) ที่อยู่รอบเส้นรอบวงของหยดทรงกลมมีผลเป็นแรง $2\pi r\alpha$ ซึ่งมีค่าเท่ากับแรงดันบนการเคลื่อนแบบวงกลมผ่านทรงกลม ($P \cdot \pi r^2$) ตามสมการ [7]

$$P = 2 \alpha / r \quad (1)$$

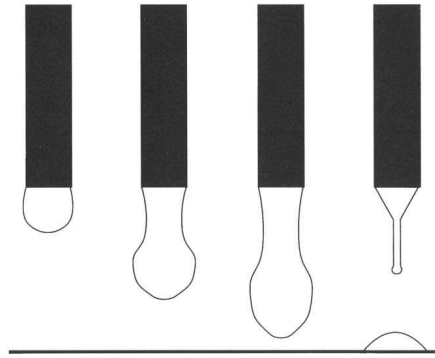
นี่แสดงให้เห็นว่าแรงดันภายในเป็นสัดส่วนกลับกับรัศมี ด้วยเหตุนี้แรงตึงผิวจึงมีอิทธิพลมากในหยดเลือดที่มีขนาดเล็กมาก เมื่อไม่พิจารณาแรงแข่งขัน

เลือดที่ใช้ในงานนี้รวบรวมจากเลือดสุกร ซึ่งเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิห้องหรือที่ 4°C ด้วยระยะเวลาที่ต่างกัน เพื่อนำมาศึกษาทั้งในเรื่องของผลกระทบจากเวลาและอุณหภูมิต่อแรงตึงผิวของเลือด การที่มีเอกสารเกี่ยวกับพารามิเตอร์ดังกล่าวนี้อยู่น้อยจำนวนน้อยดังนั้นการวัดแรงตึงผิวของเลือดที่รวบรวมจากมนุษย์ ณ สภาวะเดียวกันจึงเป็นสิ่งจำเป็นเช่นเดียวกัน มีการใช้วิธีการ 2 วิธีที่น่าเชื่อถือในการตรวจสอบแรงตึงผิวเพื่อเป็นการอ้างอิงซึ่งกันและกันเพื่อการยืนยันผลการทดลองที่ได้ออกมา

วิธีการวัดน้ำหนักเม็ดเลือด

วิธีการนี้ถูกเลือกอย่างง่ายตายเนื่องมันมีเครื่องมือที่สร้างขึ้นมาเฉพาะ ที่สะดวก แม่นยำ และที่สำคัญไปกว่านั้นคือวิธีการนี้แสดงแบบได้ว่าหยดเลือดออกมาจากนิ้วมือหรืออาวุธ วิธีปฏิบัตินี้ง่ายต่อการก่อตัวของหยดอย่างช้าๆที่บริเวณปลายนิ้วชี้ แรงตึงผิวระหว่างมวลหยดจะชนะแรงตึงผิวในที่สุด ทำให้หยดแยกออกมาและร่วงลงในที่สุด (รูปที่ 1) หรือสามารถอธิบายอีกอย่างได้ว่า แรงที่มากที่สุดที่สามารถรองรับน้ำหนัก (Weight; W) ของหยดเลือดเป็นผลมาจากแรงตึงผิวต่อหน่วยความยาวและเส้นรอบวงปลายหลอดหยด ซึ่งที่กล่าวไปนี้คือ Tate's Law: $W = 2\pi r\alpha$ ซึ่ง α คือแทนแรงตึงผิวและ r คือรัศมีของรู

อย่างไรก็ตามมีการพิสูจน์เป็นอย่างดีแล้วว่า สัดส่วนของ W' ของหยดเท่านั้นที่จะร่วงหล่นลงมาอย่างแท้จริง ตามรูปถ่ายความเร็วสูงที่แสดงให้เห็นการก่อตัวการหยดของเม็ดหยดของเหลวในรูปที่ 1



รูปที่ 1 หยดเลือดค่อยๆแยกตัวออกมาและร่วงหล่น โดยที่ปริมาตรของของเหลวยังเหลือตกค้างเล็กน้อยที่ปลาย

หยดก่อตัวเป็นคอคอดยาวอันเกิดมาจากการร่วงหล่นของหยดของเหลว และเกือบทั้งหมดของคอคอดยาวนั้นจะเกาะติดอยู่กับช่องของปลายหลอดหยด ส่วนที่แคบที่สุดของคอคอดยาวของหยดของเหลวอาจขาดลง และก่อให้เกิดหยดเม็ดเล็กมากขึ้นมาได้ มีการประมาณว่าของเหลวมากกว่า 40% จะติดอยู่กับปลายหลอดหยด สำหรับเลือดนั้น มีปัจจัยที่ซับซ้อนกว่าสำหรับในส่วนของเลือดที่ติดอยู่ จะค่อยๆแห้งที่บริเวณขอบของเส้นรอบวงของปลายนอซเชิล ึ่งเนื้อของเซลล์เลือดติดไว้ซึ่งทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของรูปร่างของเส้นรอบวง คุณสมบัติการแห้ง (non-wetting) ของเลือดนั้น หมายถึงว่า รัศมีภายในของปลายหลอดหยดจะต้องนำมาคิดด้วย

การบันทึกมวลที่แท้จริงที่ทำได้นี้ จะสามารถนำมาคิดได้ในทางคณิตศาสตร์โดยวิธีของ Harkins และ Brown [8] ซึ่งได้คำนวณน้ำหนักจริงของหยดเลือดที่ใช้สมการ

$$W' = 2\pi r \alpha f \quad (2)$$

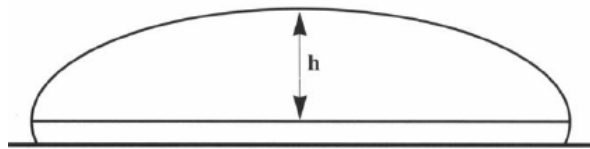
โดยที่ $f = \psi(r/a) = \int_0^{\pi/2} (r/V^{1/3}) a$ คือ ค่าคงที่แคปิลารี และ V เป็นปริมาตรหยดที่ระบุไว้ในกรทดลอง แรงตึงผิวสามารถหาได้จากตารางของ f และจาก

$$\alpha = mg/2. \pi r f \quad (3)$$

ในขณะที่ m คือ มวลของหยด และ g คือ แรงดึงดูดของโลก (9.81m/s^2)

เราต้องการที่จะใช้ค่า $r/V^{1/3}$ เท่านั้นซึ่งค่า f มีค่าความแปรปรวนซ้ำที่สูงสุด วิธีการนี้ถูกเสนอว่าเป็นวิธีที่มีความแม่นยำที่ 0.1-0.2% ภายใต้เงื่อนไขที่ว่าจำเป็นต้องเป็นการก่อตัวของหยดเลือดอย่างช้ามากโดยเฉพาะอย่างยิ่งหลังจากการแยกตกลงมา

อุปกรณ์ซึ่งออกแบบโดยผู้เขียนและใช้กับวิธีการนี้คือ 'Droplet Delivery Mechanism Apparatus' ซึ่งเป็นเครื่องมือทำให้เกิดจำนวนหยดเลือดที่ใช้ในการทดลองแต่ละครั้งก่อนที่จะตรวจสอบค่าคงที่ของมวล (หรือของรัศมี) ที่ค่าคงที่อุณหภูมิที่เซตไว้แล้ว อุปกรณ์ดังกล่าวนี้ประกอบไปด้วย ถ้วยรองรับที่จัดไว้ในในแท็งก์หัวคงที่ที่ควบคุมอุณหภูมิ (a thermostatically-controlled, constant-head tank) (เพื่อรับรองการไหลมาของมวลหยดเลือดที่ก่อตัว) หัวของแท็งก์เป็นที่อยู่ของที่กวนไฟฟ้าเพื่อให้มั่นใจในระดับอุณหภูมิที่



รูปที่ 2 ภาพแสดงให้เห็นถึงวิธีการวัดความสูงของฐานของหยดที่จุด h

สอดคล้อง ขนาด อุณหภูมิ และอัตราการนำส่ง (delivery rate) ของหยดจะต้องกำหนดไว้เพื่อการทดสอบ รูปร่างซึ่งเป็นส่วนปรับเปลี่ยนขนาดของหยดเลือด มีลักษณะเป็นรูกรวยสี่เหลี่ยมที่สามารถปรับเปลี่ยนได้โดยต่อผ่านส่วนของแหวนรูปตัวโอ (O ring) เข้ากับวาล์วหัวเข็มที่อยู่ภายในอุปกรณ์ โดยมีเพียงวาล์วก้อยยื่นออกมาผ่านส่วนบนสุดของอุปกรณ์เท่านั้น ดังนั้นจึงเป็นการง่ายในการควบคุมวาล์วด้วยมือ แต่ที่สำคัญไปกว่านั้นคือ ของเหลวที่ไหลมาที่กรวยสี่เหลี่ยมที่ปรับเปลี่ยนได้นี้ จะถูกเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิที่กำหนดไว้ล่วงหน้าแล้ว ด้วยเหตุนี้มวลของหยดจะถูกปรับและควบคุมโดยหัวก้อยที่คงที่และอุณหภูมิจะถูกรักษาให้อยู่ที่ 37 ± 0.5 °C.

ภาพของหยดร่วงหล่นจากปลายจะถูกถ่ายด้วยกล้องที่ติดตั้งอยู่ 2 ตำแหน่งที่ตั้งฉากซึ่งกันและกันเพื่อให้มั่นใจในเรื่องค่าคลาดเคลื่อนในการทดลองว่า หยดเลือดจะถูกถ่ายรูปรูปเมื่ออยู่ในตำแหน่งตรงกลางของกล้องเพื่อลดปัญหาความคลาดเคลื่อนของภาพวัตถุอันเนื่องมาจากการมองที่ 2 จุด (parallax error)

วิธีหยดติดฐาน (sessile drop method)

วิธีปฏิบัติที่มีชื่อเสียงวิธีนี้เป็นวิธีโดยทั่วไปที่ใช้กับของเหลวที่มีแรงตึงผิวสูง ทฤษฎีและวิธีการนี้นำมาโดย Adamson [7] และ Burdon [9]. หยดขนาดใหญ่ของของเหลวจะก่อตัวขึ้นในรูปแบบถ้วยทรงต่ำ โดยมีผิวแบบเว้าหรือแบบเรียบ ระยะทางตั้งฉาก h เป็นการวัดผ่านจุดที่ตั้งฉากกันของจุดสูงสุดที่ผิวสัมผัสและพื้นราบ (โดยส่วนมากจะเรียกว่า พื้นราบที่เส้นศูนย์สูตร; equatorial plane) ด้วยเหตุนี้การวัดจึงกระทำที่ส่วนของหยด มีใช้ส่วนที่ติดกับของแข็ง และผลที่ได้ไม่น่าจะขึ้นอยู่กับผิวหน้าและคุณสมบัติของมัน หยดขนาดใหญ่มีส่วนทำให้การตรวจสอบภายในที่ประชิดกับเส้นหยดไม่เป็นไปตามแบบแผนเนื่องมาจากความเปียกที่ไม่เป็นปกติในเอง เมื่อขนาดของหยดเพิ่มขึ้น ทำให้เส้นโค้งที่ปลายหยดมีความชัดเจนน้อยลงและมีแนวโน้มสู่ 0 เมื่อขนาดของหยดใหญ่มากเกินไป ด้วยเหตุนี้ สำหรับหยดที่มีขนาดใหญ่กว่าๆ จึงใช้รัศมีเส้นโค้ง (ที่อยู่ในแนวราบของรูปวาด) มาพิจารณาเท่านั้น (ดูในรูปที่ 2) ซึ่งหมายความว่าแรงตึงผิวจะสามารถอธิบายได้โดยง่ายด้วยสูตร

$$\alpha = \Delta\rho gh^2/2 \quad (4)$$

ซึ่ง $\Delta\rho$ แทนความแตกต่างของความดันบนผิวหน้าของหยดเลือด ข้อมูลการทดลองแสดงให้เห็นว่าสูตรนี้ใช้ได้ครอบคลุมกับหยดที่มีรัศมีประมาณ 2 เซนติเมตรโดยไม่ต้องใช้แฟกเตอร์ตรวจสอบความถูกต้อง (correction factor)

พบว่ามีความจำเป็นอย่างยิ่งสำหรับเม็ดเลือดที่พื้น เมื่อหยดตกลงมา จะต้องหุ้มผิวหน้าของพื้นผิวราบ ด้วยการสะสมของน้ำมันความหนืดสูง มิเช่นนั้นจะเป็นการยากอย่างยิ่งที่จะมั่นใจได้ว่ารูปร่างของหยดจะไม่เสียหายจากอิทธิพลของแรงตึงผิว จากความแปรปรวนของจุดระหว่างผิวกับหยดเลือดนั้น แม้ว่าจุดนั้นเป็นพื้นผิวที่สะอาดและไม่ชอบน้ำก็ตาม

จะมีการถ่ายรูปหยดนี้ไว้โดยใช้ Technical Pan Film โดยที่ f หยดที่ 5.6 ที่ความเร็วชัดเตอร์ที่ 1115 วินาที ความแตกต่างของภาพที่ได้สร้างขึ้นโดยการเตรียมฟิล์มเป็น ASA 50 กล้องจะติดตามไปตามหยดด้วยหนทางที่ระยะโฟกัสไม่เปลี่ยนแปลงระหว่างการถ่ายภาพ

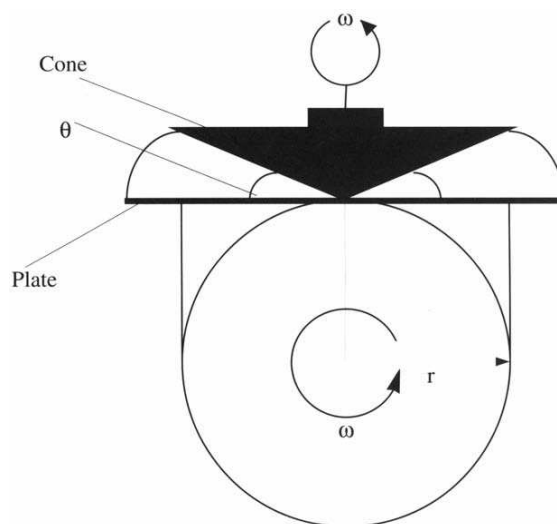
ท้ายสุด สเกลตั้งฉากจะถูกถ่ายที่ระยะทางเดียวกัน เพื่อที่จะสามารถทำการตรวจวัดได้อย่างถูกต้องแม่นยำ โดยเทียบหยดเลือดที่ถ่ายได้กับสเกลอ้างอิง สเกลตั้งฉากดังกล่าวคือ Wild Leitz TM-9010 System Monitor. นี่คืองล้องจุลทรรศน์แบบออปติคอลลิตอยู่กับอุปกรณ์วัดความยาวแบบดิจิตอลและสามารถสอบเทียบ (calibrate) ได้ โดยการตามรอยเทียบกับสเกล (tracking against a scale) เพื่อให้เกิดการประมาณที่แม่นยำสูงในการวัดรูปร่างจริงของหยดเลือด กล้องและพื้นผิวหยดจะถูกจัดระดับตามตามการถ่ายภาพด้วย spirit level (อุปกรณ์หาแนวตั้งตรงและแนวนอนโดยดูจากฟองอากาศของหลอดที่ใส่แอลกอฮอล์หรือเอเทอร์) และพื้นผิวดังกล่าวนี้จะถูกวางไว้บนหน่วย flatbed electrophoresis ที่ต่ออยู่กับระบบปั้มน้ำ ที่สามารถรักษาอุณหภูมิที่ 37 ± 0.5 °C. ในระหว่างการเก็บข้อมูล

รูปจะถูกถ่ายโดยที่มีน้ำกลั่นและปรอทเป็นสภาวะควบคุมภายใน เพราะเลือดมนุษย์จากหลายแหล่งและเลือดสุกรจากสัตว์ทั้งหมดสี่ตัวจะเก็บไว้ในสารต้านการรวมก้อนของเลือด(anticoagulants) ทั้งชนิด ACD และ EDTA เราจะถ่ายรูปหยดเลือดสดขนาดใหญ่ของหนู และถ่ายอีกครั้งหลังการเก็บที่ 4°C เป็นเวลา 2 สัปดาห์

ความหนืด

ตัวอย่าง 10 ตัวอย่างของเลือดสุกร ที่ได้จากคอสัตว์ที่ฆ่าในโรงฆ่าสัตว์จะเก็บไว้โดยตรงในขวดสารต้านการรวมก้อน EDTA

วิธีที่เลือกใช้ซึ่งให้ความแม่นยำและความเร็วได้ดีคือการใช้เครื่องวัดความหนืดแบบ cone plate [10-15] เครื่องวัดความหนืด Wells-Brookfield (รูปที่ 3)



รูปที่ 3 กลไกเครื่องวัดความหนืดแบบ cone/plate

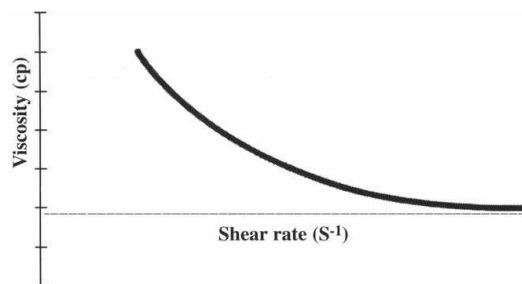
เป็นระบบวัดแรงบิดที่ใช้สปริงที่สอบเทียบมาตรฐานแล้วแบบ beryllium/copper เพื่อหาปริมาณแรงต้านทานของของไหลเทียบกับโคนแบบหมุนรอบได้ ของไหลจะอยู่ระหว่าง cone ที่ปั่นที่ความเร็วที่กำหนดไว้กับเพลทประจำที่ การต้านทานต่อการหมุนของcone เป็นสัดส่วนกับแรงเฉือนในของไหล ซึ่งแรงเฉือนนี้เองนิยามถึงอัตราการสลายตัวของของไหล อัตราเฉือนทำหน้าที่ทั้งในความเร็วการหมุนของ cone และช่องว่างของ cone กับ plate ความหนืดเป็นอัตราส่วนของแรงเฉือนกับอัตราเฉือน

และอาจพิจารณาให้เป็นค่าคงที่สำหรับของไหลแบบ Newtonian อย่างไรก็ตามเลือดซึ่งเป็นของไหลแบบ Newtonian อาจจะถูกคาดการณ์ว่ามีความหนืดที่ขึ้นอยู่กั้อัตราเฉือน (รูปที่ 4)

การวัดแรงเฉือนอาจใช้ Wells-Brookfield Programmable Rheometer ซึ่งวางจำหน่ายโดยผู้ผลิต อุปกรณ์ดังกล่าวนี้มีการสอบเทียบมาตรฐานโดย สมาคมผู้มีอำนาจตรวจสอบแห่งชาติ (National Association of Testing Authorities; NATA) ประเทศออสเตรเลีย ซึ่งเป็นศูนย์ห้องทดลองที่ได้รับการลงทะเบียนในการใช้และการสอบเทียบซ้ำที่ 37°C โดยใช้ความหนืดของไหลมาตรฐานของ Brookfield ที่หมายเลขชุด 112288 ก่อนและหลังการเริ่มต้นในแต่ละชุดข้อมูลที่ทดลอง น้ำมันนี้มีค่าความหนืดที่ 9.6 centipoise (cps) ที่ 25 °C และ ควรมีค่าที่ 7.7 ± 0.1 cps ที่ 37°C.

ค่า Haematocrit (Ht)

เมื่อมีการพิจารณาว่า ความหนืดเป็นฟังก์ชันของค่า haematocrit ซึ่งก็คือค่าการกะประมาณของปริมาตรเซลล์เกาะกลุ่ม (packed cell volume) จึงมีความจำเป็นจะต้องตรวจหาค่า Ht ของเลือดสุกรสดและที่ไม่สด เพื่อที่จะสามารถนำมาเปรียบเทียบกับตัวเลขของเลือดมนุษย์สดและเลือดหมูสดที่อ้างอิงในหนังสือได้ [16] เทคนิคที่ใช้นี้เป็นมาตรฐานของวิธีการของประเทศ



รูปที่ 4 กราฟแสดงความเปลี่ยนแปลงของ non-newtonian กับอัตราเฉือนที่เพิ่มขึ้น

ออสเตรเลียซึ่งกล่าวไว้โดย NATA ซึ่งต้องใช้หลอดเลือด Ht ที่ปั่นเหวี่ยงที่ 12000 rpm ประมาณ 3-5 นาที ทำการวัด Haematocrit และผลกระทบโดยทั่วไปจากสูตรนี้

(ค่า Htจากการวิเคราะห์/ ค่า Ht ที่ต้องการ)

$$- 1 = \text{ปริมาตรของตัวอย่างพลาสมาที่จำเป็นต้องเพิ่มเข้าสู่ 1 มิลลิลิตรของตัวอย่างเลือดทั้งหมด} \quad (5)$$

การวิเคราะห์จะเริ่มเมื่อได้ตัวอย่างผ่านไปแล้ว 3 ชั่วโมง ตัวอย่างเลือดหมู ที่เหมือนกัน ถูกแยกออกโดยควบคุมที่ 4°C และที่ อุณหภูมิห้องและตรวจสอบอีกครั้ง (ไม่ได้ปรับ) หลังจาก 8 วันและอีกครั้งที่ 14 วัน ตัวอย่างเหล่านี้ไม่ได้เป็นมาตรฐานเดียวกัน เมื่อ

มีการแตกของเซลล์เม็ดเลือดแดง (lysis) ขึ้นมาซึ่งทำให้เกิดความแปรปรวนอันมากมายในระหว่างตัวอย่างด้วยกัน ซึ่งสิ่งที่เกิดขึ้นนี้ทำให้การวิเคราะห์ไม่สามารถตีความหมายอะไรได้ โดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่อตัวอย่างบางตัวอย่างได้รับผลกระทบจากการปนเปื้อนโดยยีสต์ และ/หรือ แบคทีเรีย

นอกจากนี้ ปริมาตรที่เท่ากันของตัวอย่างจะถูกผสม และอยู่ภายใต้สภาวะเช่นเดียวกับที่ได้อธิบายไปทุกประการ หลักการและเหตุผลต่างๆเกี่ยวกับการปฏิบัตินี้คือ เพื่อตรวจสอบว่ามีการเกิด agglutinin ก่อตัวเป็นโครงสร้างซับซ้อน หรือมีปฏิกิริยากับ agglutinin ของเม็ดเลือดอื่น อันทำให้มีผลต่อความหนืดในของผสมในระยะยาวหรือระยะสั้นหรือไม่

เนื่องจากเลือดเป็นของไหลแบบ non-newtonian ซึ่งความหนืดของมันจะไปถึงค่าจำกัดเฉพาะที่อัตราเฉือนที่ 200 s^{-1} และท้ายที่สุดนี้ เราทำการเปรียบเทียบความเร็วของเลือดที่ไหลในหลอดหยดกับความเร็วของเลือดใน cone และ plate ของ rheometer เพื่อที่จะยืนยันว่าค่าทั้งสองมีความใกล้เคียงกันเพียงพอที่จะสามารถเปรียบเทียบความหนืดได้อย่างมีเหตุผล

ความหนาแน่นสัมพัทธ์ (แรงดึงดูดเฉพาะ)

วิธีการที่ใช้ส่วนมากมีสาระสำคัญมากจากการอธิบายโดย Nelkon และ Ogborn [17] ค่าความหนาแน่นสัมพัทธ์ของเลือดวัดได้โดยใช้ pycnometer ซึ่งแบ่งระดับเพื่อการรับปริมาตรที่ 10 ml ที่ 20°C pycnometer จะถูกวัดน้ำหนักแห้งที่ 37°C โดยมีน้ำกลั่นเป็นสารอ้างอิงที่ 37°C แล้วจึงวัดเลือดมนุษย์สดจากหลายบุคคลและท้ายที่สุดแล้วจึงวัดเลือดสดของหนู สาร anticoagulant ที่นำมาใช้ในเลือดจากมนุษย์นั้นมาจาก EDTA และ ACD กระบวนการนี้จะนำมาทำซ้ำในเลือดหนูอายุ 1 และ 2 สัปดาห์ที่เก็บไว้ที่ 4°C หนูแต่ละตัว 4 ตัวก็จะถูกนำมาทดสอบในแต่ละกรณี การชั่งน้ำหนักทั้งหมดใช้เครื่องปม Mettler top-loading ที่มีความสมดุล $37^{\circ}\text{C} \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ ซึ่งได้รับการสอบเทียบมาตรฐานเครื่องที่อุณหภูมิอื่นๆ เราจะรักษาสมดุลเวลาหลังจากขั้นตอนแต่ละขั้นในกระบวนการชั่งน้ำหนักเริ่มต้น

ขนาดรอยเลือดเทียบกับขนาดหยดเลือด

อุปกรณ์ชั่งน้ำหนักเม็ดหยดถูกนำมาใช้เพื่อให้มั่นใจได้ว่าหยดของเลือดนั้นเมื่อประกอบและน้ำหนักที่วัดได้ และสร้างเพิ่มได้ที่อุณหภูมิประมาณ 37°C ซึ่งนั่นหมายความว่าสามารถทำการตรวจสอบและวัดปริมาตรของเลือดได้อย่างแม่นยำเทียบกับผลของขนาดของรอยเปื้อน นำอุปกรณ์ขนาดต่างกัน 2 ขนาดมาใช้เพื่อทำให้เกิดขนาดของหยดเลือดที่ต่างกัน พื้นผิวเป้าหมายคือส่วนที่สัมผัสเกี่ยวข้องกับคดีอาชญากรรม อันประกอบไปด้วย gloss acrylic, พื้นผิวสีแบบ low sheen, linoleum, laminate แก้ว และผิวอิฐ ระยะทางของหยดจากรูถึงพื้นผิวเป้าหมาย (1.7 เมตร) ซึ่งด้วยระยะทางนี้ ทำให้ในช่วงแรก ความเร็วของหยดจะไม่แตกต่างอะไรมาจากความเร็วปลาย ซึ่งความเร็วเริ่มต่างเมื่อ ต่อมาในช่วงห่างประมาณใบหน้ามนุษย์ผู้ชาย และจนถึงพื้น

ผลการทดลองและวิจารณ์ผล

มี 5 ปัจจัยด้วยกันที่มีผลต่อรูปร่างของหยดของเหลว นั่นคือ แรงตึงผิว แรงดันน้ำ แรงดันอากาศ การไหลเวียนภายในและแรงดันไฟฟ้า นักวิจัยแนะนำว่า การไหลเวียนภายในมีผลกระทบน้อยต่อรูปร่างของหยดและสำหรับแรงจากไฟฟ้าก็ได้ทำการทดลอง ณ การทดลองนี้ สำหรับแรงดันน้ำและแรงดันอากาศนั้นมีความซับซ้อนไปกว่าในหยดน้ำทั่วไปที่อยู่ในรูปแบบความเร็วปลาย ซึ่งความเร็วและทิศทางของเลือด ณ ที่เกิดเหตุอาชญากรรมมักจะมีการเปลี่ยนแปลงในการเคลื่อนที่ระหว่างในอากาศ

เลือดเป็นของเหลวที่มีลักษณะจำเพาะ ด้วยคุณสมบัติทางกายภาพ (เช่น ความสามารถในการรวมก้อน) ซึ่งสภาพเหล่านี้ทำให้เกิดความซับซ้อนในการคำนวณขึ้น อย่างไรก็ตาม ช่วงเวลาการจับก้อนและแห้ง เป็นตัวกำหนดขนาด ซึ่งไม่มีส่วนเกี่ยวข้องกับวิธีการเคลื่อนที่ของหยดเลือดในอากาศ [8]

เลือดมิใช่สื่อกลางที่ง่ายต่อการนำมาวิเคราะห์คุณลักษณะ เมื่อมันอยู่นอกร่างกายแล้ว มีกลไกมากมายที่เข้ามาเกี่ยวข้องซึ่งทำให้ของไหลเกิดลักษณะแตกต่างเฉพาะขึ้นมาอีก ในการเพิ่มขึ้นของปัจจัยต่างๆไปต่อการเกิดการแห้งของของเหลวก็คือ อุณหภูมิโดยรอบ ความชื้น ลม สำหรับเลือดซึ่งไม่ว่าจะในรูปแบบก้อนหรือสภาพแท้ของมัน จะถูกแบ่งเป็นองค์ประกอบหลัก 2 องค์ประกอบคือ เป็นฝุ่นละออง (particulate matter) และพลาสมา

ความเร็ว ณ เมื่อเกิดการจุดจุ่มซึ่งทำให้เกิดการกระจายของเลือดในอากาศนั้น เกิดขึ้นเพียงเสี้ยววินาที ซึ่งหมายความว่าปัจจัยในการเกิดการรวมก้อน การแห้ง หรือการแยกตัวของเลือดเป็นอะไรที่ไม่พบเจอเลย ณ ขณะนั้น รูปแบบรอยเลือดเกิดขึ้นจากการเคลื่อนที่จากผู้จุดจุ่ม ผลที่ตามมาคือหยดเลือดเล็กๆ หรือคราบเลือดที่ติดอยู่บนพื้นผิว พารามิเตอร์ข้างต้นอาจเป็นเพียงผลที่เกิดขึ้นหากมีการต่อสู้อยู่หรือเป็นผลมาจากการจัดฉาก

มีคุณสมบัติเพียง 3 ประการเท่านั้นที่มีอิทธิพลโดยตรงต่อคุณลักษณะของกระเซ็นของเลือดในอากาศและคุณสมบัติของการเป็น non-Newtonian ของหยดเลือดหรือรอยเปื้อนเลือด นั่นคือ แรงตึงผิว ความหนืด และความถ่วงหรือความหนาแน่นจำเพาะ ทำให้เป็นสิ่งสำคัญที่จะต้องทราบในเรื่องการสร้างชิ้นใหม่หรือการจำลองเลือดว่า เลือดที่ใช้อยู่มีความใกล้เคียงกับเลือดของมนุษย์ที่อยู่นอกร่างกายแล้วหรือไม่ ตัวอย่างเช่น มันเป็นเรื่องจำเป็นทั่วไปที่จะต้องใส่สาร anti-coagulant เมื่อต้องใช้เลือดในปริมาณมาก และเป็นเรื่องผิดปกติที่จะใช้เลือดสัตว์แทนเลือดมนุษย์ เลือดสัตว์มักจะได้ในปริมาณมากมาจากโรงฆ่าสัตว์ และเชื่อว่าเป็นเลือดที่ปราศจากเชื้อ HIV หรือ ไวรัสตับอักเสบบีที่มีในเลือดมนุษย์ การพิจารณาอื่นๆ คือเรื่องการทำงานของของเหลวหลังจากเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง ที่ 4°C หรือที่ -70°C มีข้อมูลในเรื่องความถ่วงจำเพาะ และความหนาแน่นจำเพาะของเลือดจากสัตว์หลากหลายชนิดเท่านั้น ที่ได้รับการรวบรวมเป็นเอกสารโดย Wintrobe [6]

แรงตึงผิว

วิธีการร่วงหล่นของเม็ดหยด: อุปกรณ์ที่ทำให้เกิดการร่วงของหยดเลือดที่ใช้จะ ต้องใช้ของเหลวประมาณ 0.5 ลิตรใน การที่จะทำให้ที่หัวก็อกคงที่ $37^{\circ}\text{C} \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ อุปกรณ์นี้ได้ถูกนำมาใช้ ด้วยขนาดรูป 2 ขนาด กับน้ำกลั่นและให้ค่าแรงตึงผิวที่ช่วง $6.6\text{-}7.0 \times 10^{-2}$ N/m ตารางที่ 1 ให้ค่า 7.14×10^{-2} N/m เลือดสดของมนุษย์ที่เก็บรักษาใน ACD (acid citrate dextrose) ให้ค่าที่ 6.1×10^{-2} N/m Victorian Blood Transfusion Service เป็นผู้ที่ใช้สารเก็บรักษา ACD นี้

ตารางที่ 1 ผลแรงตึงผิวที่ได้จากการชั่งน้ำหนักและวิธีการหยดที่ฐาน (sessile drop method)

Surface tension ($\times 10^{-2}$ x N/m)		
	<i>drop weight</i>	<i>sessile drop</i>
น้ำกลั่น	6.6-7.0	6.9-7.25
เลือดมนุษย์	6.1	5.1-5.6
เลือดหมี (สด)	5.1	5.3-5.8
เลือดหมี (7 วัน)	5.6	5.3-5.65
เลือดหมี (14 วัน)	5.7	5.1-5.6

เลือดหมีที่รวมไว้ และเก็บรักษาใน EDTA ในค่าที่ 5.1×10^{-2} N/m สำหรับในเลือดสด และให้ค่าที่ 5.6 และ 5.7×10^{-2} N/m ใน เลือดอายุ 1 และ 2 สัปดาห์ ตามลำดับ เก็บเลือดที่อุณหภูมิ 4°C เมื่อไม่ได้นำมาทำการทดลอง ปัญหาหลักๆ ที่เกี่ยวข้องกับ วิธีการนี้คือการที่เลือดมักจะทิ้งบางส่วนของมันไว้ที่ขอบวงกลมของปลายหลอดหยด ซึ่งเมื่อเวลาผ่านไป จะเกิดการสะสมมากขึ้น และทำให้มีผลต่อเส้นผ่านศูนย์กลางของรูหลอดหยด ด้วยเหตุนี้ จึงจำเป็นต้องทำความสะอาดรูของอุปกรณ์อย่างสม่ำเสมอ นอกจากนี้ เป็นไปไม่ได้เลยที่จะใช้รูเล็ก เพราะขนาดรัศมีที่เล็ก ทำให้เกิดความคลาดเคลื่อนในค่าตรวจสอบความถูกต้องแพ็กเตอร์ f ในสมการที่ 2 และ 3

วิธีวัดที่ฐานเม็ด: เลือดปริมาณน้อยๆ จำเป็นต่อเทคนิคนี้ (น้อยกว่า 2 มิลลิลิตร) ซึ่งหมายความว่าตัวอย่างเลือดจากคน หลายคนจะถูกนำมาวิเคราะห์กับ relative ease น้ำกลั่นให้ค่าที่ช่วง $6.9\text{-}7.25 \times 10^{-2}$ N/m วิเคราะห์แรงตึงผิวของเลือดที่ได้จาก บุคคลทั้งหมด 5 คนได้ค่า $5.1\text{-}5.7 \times 10^{-2}$ N/m (ตารางที่ 1) การใช้สาร anticoagulant ไม่มีผลต่อการทดลองที่ใช้ตัวอย่างใน การทดสอบน้อยๆ

ผลการทดลองแรงตึงผิวที่ได้จากเลือดหมี 4 ตัวใน สภาวะสด และที่ 1 และ 2 สัปดาห์ ให้ค่าที่ 5.1-5.8, 5.3-5.65 และ $5.1\text{-}5.6 \times 10^{-2}$ N/m ตามลำดับ โดยมีค่าใกล้เคียงกับเลือดมนุษย์เป็นอย่างมาก นอกจากนี้ไม่พบการเปลี่ยนแปลงที่เป็น นัยสำคัญของแรงตึงผิวของเลือดที่เก็บที่ 4°C

ความหนืด

ค่า Ht เป็นค่าที่นำไปสู่ความหนืดของของเหลว ค่า Ht เฉพาะสำหรับเลือดหมูมิได้มีความต่างไปจากของมนุษย์ (ตารางที่ 2) ความหนืดของเลือดหมูมีค่าสูงกว่าของมนุษย์ประมาณ 20% (ตารางที่ 3) ความแตกต่างนี้เพิ่มเป็น 60% หลังจากเก็บเลือดไว้ที่ 4°C 2 สัปดาห์ และไม่เป็นที่น่าแปลกใจว่าการเก็บเลือด ณ อุณหภูมิร่างกายในช่วงเวลาเดียวกันนี้ ให้ผลว่าเลือดไม่เหมาะสมแก่การใช้งานอีกต่อไป เลือดผสมที่ได้จากหมูแต่ละตัว ไม่มีผลที่วัดได้ ต่อค่าความหนืดแต่อย่างใด

ตารางที่ 2 การเปลี่ยนแปลงค่า haematocrit ของเลือดหมูเมื่อเวลาและอุณหภูมิเปลี่ยนไป

ค่าของเลือดหมูอยู่ในช่วง : 38.9-46.3.

ค่าของเลือดมนุษย์อยู่ในช่วง: 40.0-45.0.

อายุเลือด	อุณหภูมิ	
	4°C	37°C
Fresh pig blood	40.5	
1 week old	44.6	45.0
2 weeks old	47.0	50.0

ตารางที่ 3 ช่วงของความหนืดที่ได้จากเลือดหมู

ช่วงเฉพาะของเลือดมนุษย์ที่มีแรงไว้: 3.2-4.4.

อายุเลือด	อุณหภูมิ	
	4°C	37°C
Fresh pig blood	3.9-5.4	
8 days old	4.9-6.3	6.3-8.8
2 weeks old	5.5-6.9	6.8->10

ความเร็วของหยด: ค่าความหนืดของของไหลแบบ non-Newtonian แปรผันตามแรงเฉือน มันจึงเป็นสิ่งสำคัญที่จะต้องตรวจสอบว่าความเร็วของเลือดที่กระเซ็นในอากาศมีความคล้ายกันกับเลือดในการทดลอง เป็นไปได้ที่จะสามารถคำนวณค่าความเร็ว (velocity;V) ที่แรงบินสูงสุด โดยเลือกระยะ r จากศูนย์กลางของเม็ดหยดไปจนถึงจุดที่ไกลที่สุดของผิวของเม็ดหยดจะได้เป็นสมการ

$$r = R + \epsilon(t) \quad (6)$$

ซึ่ง R เป็นรัศมีในตำแหน่งสมดุล และ $\epsilon(t)$ แทนการเปลี่ยนแปลงของแรงบิดในหน่วยเวลา t จากทฤษฎีศักย์การไหลของการแกว่งที่ $V_r(R)$

$$V_r(R)_{\max} = 2aRY_{20\max} \quad (7)$$

โดยที่ a คือ ค่าคงที่การสุมจากการวิเคราะห์ทางคณิตศาสตร์

$$\text{เมื่อ } V_r(R)_{\max} = \omega(r_{\max} - R) \quad (8)$$

จากทฤษฎีการแกว่งของเม็ดหยด เรามี

$$r_{\max} = R + 2aRY_{20\max}/\omega \quad (9)$$

เมื่อ ω คือมุมความถี่ของการแกว่ง และ $Y_{20\max}$ คือค่าสูงสุดของ spherical harmonic function ดังนั้น a คือค่าการวัดแอมพลิจูดการแกว่ง

สูตรนี้ทำให้เราสามารถเปรียบเทียบระหว่างความเร็วของเลือดจากเม็ดเลือดและความเร็วของเลือดระหว่าง cone กับ plate ของ rheometer ที่ใช้ในการวัดได้

ความเร็วสุดขีดอาจพบได้ในรูปแบบ $R = 2.25 \text{ mm}$; $80\%A = 0.45\text{mm}$; $T = 0.03 \text{ s}$ ความเร็วภายใน 30 mm/s

(10)

สำหรับรัศมีของ cone ใน rheometer 24 mm ที่ซึ่ง cone ถูกหมุนที่ 60 rpm ความเร็ว ณ เส้นรอบวง cone คือ $60 \times 2\pi \times 24/60 = 150 \text{ mm/s}$ หดที่เล็กกว่าจะมีช่วงการแกว่งที่ น้อยกว่า 0.3 วินาที (เช่นหยดขนาด 1.0 มม. มีช่วงเวลาที่ 0.01 วินาที) และ $V_r(R)_{\max}$ จะมีค่ามากกว่า 100 mm/s ซึ่งมค่าประมาณเท่ากับความเร็วที่วัดโดยวิธี cone/plate ที่ 60 rpm ที่ความเร็ว ซึ่งระบุอัตราเฉือนที่ 230 s^{-1}

ตารางที่ 4 ผลของอายุเลือดต่อความหนาแน่นสัมพัทธ์ในเลือดหมู
สำหรับช่วงของมนุษย์ที่เคยแจ้ง : 1.052-1.063.

Blood	Specific gravity (relative density)
Fresh human	1.056-1.061
Fresh pig	1.062
1 week old pig	1.058
2 week old pig	1.058

ค่าความหนืดของเลือดเข้าสู่ค่าจำกัดตามรูปที่ 4

ตารางที่ 5 ขนาดรอยเปื้อน (mm) ที่ได้จากพื้นผิวเป้าหมายที่ต่างกันโดยจากปริมาตรหยดควบคุม ขนาดของรู 2 ขนาด/เลือดเก็บที่ 4°C ระหว่างการทดลอง

Surface						
Blood	<i>gloss acrylic</i>	<i>low sheen</i>	<i>linoleum</i>	<i>laminate</i>	<i>glass</i>	<i>face brick</i>
Fresh human	21.0119.8	20.2119.0	19.8118.9	20.0119.7	20.6119.3	20.011 8.2
Fresh pig	19.7118.6	19.211 8.7	19.8119.4	19.9119.5	20.1119.8	18.8118.1
1 week old pig	19.6119.0	19.3118.7	19.7119.4	19.7118.4	18.3118.2	19.3118.7
2 week old pig	18.5118.3	18.7117.8	19.0118.4	18.9118.3	18.6118.2	18.4118.0

ความหนาแน่นสัมพัทธ์

ความหนาแน่นสัมพัทธ์ที่วัดจากเลือดมนุษย์ที่มี ACID หรือ EDTA พบว่ามีค่าเกือบเท่าตามช่วงที่ระบุไว้ (1.052-1.063 versus 1.056-1.061) [16] ค่าที่วัดได้จากเลือดหมูสด และเลือดอายุ 1 และ 2 สัปดาห์ก็มีได้มีค่าแตกต่างจากค่าในเลือดมนุษย์ที่ค่า 1.062, 1.058 และ 1.058 ตามลำดับ (ตารางที่ 4)

ขนาดของรอยเลือดกับขนาดของเม็ดหยดเลือด

ช่วงขนาดรอยเลือดที่ผลิตจากหลอดหยดที่ควบคุมขนาดของหยดดูได้ที่ตารางที่ 5 อาจเคยได้พบเห็นมาว่า ขนาดของรอยแสดงถึงความแปรผันของพื้นผิวเป้าหมายเล็กน้อย ซึ่งเราควรจะต้องจำไว้เสมอว่า พื้นผิวที่ใช้ไม่ได้เหมือนกับพรมหรือผ้า เนื้อจากมันไม่สามารถดูดซับได้ รอยเปื้อยเลือดบนวัสดุที่ดูดซับได้นั้น ไม่มีผลต่อขนาดหรือทิศทางของเม็ดหยดที่ร่วงลงมา พบว่าไม่มีความแตกต่างอันเป็นนัยสำคัญใดๆระหว่างเส้นผ่านศูนย์กลางของเลือดคน หรือเลือดหมู อย่างไรก็ตาม มีแนวโน้มที่ค่อนข้างชัดเจนในเรื่องการลดลงเล็กน้อยของขนาดของเลือดหมูที่มีอายุ เนื่องมาจากการขาดแรงตึงผิวเมื่อเวลาผ่านไปนั่นเอง ซึ่งนั่นอาจเนื่องมาจากการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติการเสียดทาน (ความหนืด) ของเลือดเมื่อเวลาผ่านไป เพราะเซลล์เลือดมีการ lysis และย่อยสลายไปตามเวลา

รูขนาดต่างกัน 2 รูที่นำมาใช้นั้น พบว่า ความกว้างของรอยเปื้อนที่พบบนพื้นผิวที่นำมาทดสอบนั้นมีค่าที่ 4.5-5.0 เท่าของ เส้นผ่านศูนย์กลางของเม็ดหยด ที่ 37°C ซึ่งนั่นทำให้มาตรวัดของ ขนาดหยดเลือดลอย (flying drop) ซึ่งตกลงสู่พื้นใดๆ ที่ไม่ซีมี ซับ ผลการทดลองนี้ยังเป็นผลที่ได้ตรงกับนักวิจัยท่านอื่นๆ ที่ใช้น้ำและสารที่พวกเขาเตรียมเองสำหรับการทดลอง [20]

สรุปผลการทดลอง

การเปรียบเทียบระหว่างเลือดมนุษย์สดและเลือดหมูที่มีทั้งสดและมีอายุโดยใช้พารามิเตอร์ของ แรงดึงผิว ความหนืด และความหนาแน่นสัมพัทธ์นี้ แสดงให้เห็นถึงความคล้ายคลึงของเลือดจาก 2 แหล่ง ซึ่งนั่นหมายความว่าเราสามารถนำเลือดหมูแทนเลือดมนุษย์ในการจำลองสถานการณ์คืออาชญากรรมหรือใช้ในจุดประสงค์ทางการศึกษาก็ย่อมได้แม้ว่าเลือดของหมูจะถูกเก็บไว้เป็นเวลา 2 สัปดาห์ที่ 4°C ก็ตาม อย่างไรก็ตาม ควรรับทราบไว้อยู่เสมอว่า ความหนืดของเลือดหมูมีค่าสูงกว่าในเลือดมนุษย์ และนั่นทำให้หยดเลือดหมาดกว่า และบิดตัวได้ง่ายกว่าในเลือดมนุษย์ ขอบเขตของผลกระทบและนัยสำคัญนี้ควรจะถูกนำมาตรวจสอบโดยการคำนวณ

ท้ายที่สุดนี้ ความจริงที่ว่าอัตราส่วนรอยเปื้อนของเลือดมนุษย์/เส้นผ่านศูนย์กลางหยดเลือด (4.5-5.0) ที่สามารถเปรียบเทียบได้กับเลือดหมูได้นี้ ไม่เพียงแต่สามารถทำให้กะประมาณขนาดหยดเลือดเท่านั้น แต่สามารถใช้อย่างปลอดภัยสะดวก เป็นอีกทางเลือกหนึ่งเพื่อเมื่อเลือดมนุษย์มีเชื้อโรคปะปนอยู่

เอกสารอ้างอิง

References

1. MacDonell HL. Bloodstain Pattern Interpretation. New York :Laboratory of Forensic Science Publishers, 1982.
2. MacDonell HL. Bloodstain Patterns. New York: Laboratory of Forensic Science Publishers, 1993.
3. Laber TL and Epstein BP. Bloodstain Pattern Analysis. Minneapolis, MN: Callan Publishing, Inc., 1983.
4. Stephens BG and Allen TB. Backspatter of Blood from Gunshot Wounds - Observations and Experimental Simulation. Journal of Forensic Sciences 1983; 28(2): 437439.
5. Eckert WG and James SH. Interpretation of Bloodstain Evidence at Crime Scenes. The Netherlands: Elsevier Science Publishing Co., Inc., 1989.
6. Schreiber G. Synthesis, Processing and Secretion of Plasma Proteins by the Liver and Other Organs and their Regulation. In: The Plasma Proteins, Vol. V, 2nd edition. Sydney: Academic Press, 1987.
7. Adamson A. Physical Chemistry of Surfaces. 3rd edition. New York : Interscience, Wiley, 1976: 145.
8. Harkins WD and Brown FE. The determination of surface tension (free surface energy) and the weight of falling drops: the surface tension of water and benzene by the capillary height method.
9. Journal of the American Chemical Society 1919; 41: 499-523. Burdon RS. The surface tension of mercury in a silica apparatus. Transactions of the Faraday Society 1932; XXVIII: 866876.
10. Wells RE, Denton R and Merrill EW. Measurement of viscosity of biologic fluids by cone plate viscometer. Journal of Laboratory and Clinical Medicine 1961; 57(4): 6464556.
11. Stuart J. Measurement of blood rheology. Hematology 1968 ; August/ September edition: 19-21.
12. Charm SE and Kurland GS. A Comparison of Couette, Cone and Plate and Capillary Tube Viscometer for Blood. 5th European Conference Microcirculation, Gothenburg 1968. Bibliotheca Anatomica; 10: 85-91.

13. Charm SE and Kurland GS. Discrepancy in measuring blood in couette, cone and plate, and capillary tube viscometers. *Journal of Applied Physiology* 1968; 25(6): 786-789.
14. Copley AL. Non-Newtonian behavior of surface layers of human plasma protein systems and a new concept of the initiation of thrombosis. *Biorheology* 1971; 8: 79-84.
15. Ernst E, Monshausen Ch. and Matrai A. Blood viscosity - a comparative study on three rotational instruments. *Biorheology* 1985; 22: 471-475.
16. Wintrobe MM. *Clinical Haematology*. 7th edition. Philadelphia : Lea and Febiger, 1975.
17. Nelkon M and Ogborn JM. *Advanced Level Practical Physics*. 2nd Edition. London: Heinemann Educational Books Ltd., 1962: 246-247.
18. Dacie JV and Lewis SM. *Practical Haematology*. 5th edition. Edinburgh: Longman Group Ltd., 1975.
19. Landau LD and Lifshitz EM. *Fluid Mechanics*. Volume 6 of Course of Theoretical Physics. Oxford: Pergamon Press, 1986.
20. Fukai J, Shiiba Y, Yamamoto T, Miyatake O, Poulikakos D, Megaridis CM and Zhao Z. Wetting effects on the spreading of a liquid droplet colliding with a flat surface: experiment and modeling. *Physical Fluids* 1995; 7(2): 236-247.
21. Raymond M, Smith E and Liesegang J. The physical properties of blood – forensic science considerations. *Science&Justice* 1996; 36 (3): 153 - 160

