

Un microdosage spectrophotométrique de l'alcool dans le sang

Autor(en): **Monnier, D. / Rüedi, W.F. / Fasel, M.**

Objektyp: **Article**

Zeitschrift: **Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und Hygiene = Travaux de chimie alimentaire et d'hygiène**

Band (Jahr): **48 (1957)**

Heft 3

PDF erstellt am: **12.07.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-983775>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern.

Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden.

Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

Haftungsausschluss

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

Un microdosage spectrophotométrique de l'alcool dans le sang

Par *D. Monnier, W. F. Rüedi et M. Fasel*

(Laboratoires de chimie minérale, de chimie analytique et de microchimie de l'Université de Genève)

Nous avons proposé, dans un article précédent, un dosage spectrophotométrique de l'alcool dans le sang¹⁾. Il exige une prise initiale de 8 à 10 ml de sang, ce qui rend nécessaire un prélèvement de sang dans la veine par une seringue ou par une vénule. Bien qu'inoffensive, cette prise de sang n'est pas agréable, beaucoup de personnes la craignent, aussi avons-nous mis au point un microdosage permettant de doser l'alcool sur quelques gouttes de sang (4 à 6). Dès lors, le prélèvement peut se faire à l'extrémité du doigt ou de l'oreille (sang capillaire) au moyen d'une lancette. Nous pensons ainsi que le contrôle des usagers de la route en sera grandement facilité. Cette méthode comprend une distillation, puis l'oxydation de l'alcool du distillat par une quantité connue de bichromate de potassium et enfin la détermination de l'excès de bichromate par mesure de la densité optique. La méthode spectrophotométrique, très sensible, se prête bien à une telle analyse, par contre la distillation préalable ne peut se faire sur de si petites quantités, c'est pourquoi nous avons repris le processus de distillation isothermique selon *Conway*²⁾³⁾⁴⁾, mis au point pour le microdosage polarographique⁵⁾. En ce qui concerne cette dernière opération, nous ne donnerons donc que le mode opératoire après en avoir brièvement exposé le principe. Nous renvoyons le lecteur, pour plus de détails, à l'article cité plus haut.

Le microdosage spectrophotométrique comprend:

1. le prélèvement de sang;
2. la distillation isothermique et l'oxydation nitrochromique de l'alcool;
3. la détermination spectrophotométrique.

1. Prélèvement de sang

L'extrémité du doigt est désinfectée au désogène par ex. (pas à l'alcool) et séchée. On effectue une incision au moyen d'une lancette stérilisée par la chaleur. La première goutte de sang est éliminée, puis on recueille les 4 à 5 suivantes dans une micro-éprouvette de 2 cm de longueur et de 0,5 cm de diamètre, enfermée dans un étui de plastique ou d'aluminium, dont un schéma est donné dans «*Chimia*»⁵⁾⁶⁾. Cette micro-éprouvette renferme quelques cristaux de fluorure de sodium afin d'éviter une coagulation du sang qui rendrait la prise impossible. On ferme ensuite le couvercle à vis et on secoue énergiquement pendant une minute afin de rendre le mélange homogène. La prise pour le

dosage se fait au moyen d'une pipette à glycémie, préalablement séchée. Les quantités utilisées, étant petites, exigent que l'opération soit conduite avec minutie.

2. Microdistillation et oxydation nitrochromique de l'alcool

Ces deux opérations se font simultanément. On prélève 0,1 ml de sang fluoré au moyen d'une pipette à glycémie. Pour la distillation isothermique, on se sert d'une cuve à double paroi. Dans le compartiment extérieur on introduit l'échantillon ou les solutions étalon, dans le centre de la cuve on verse une quantité déterminée de réactif nitro-chromique. Une plaque de verre graissée avec un produit susceptible de résister aux effets du réactif ferme hermétiquement la cuve, qui est placée dans une étuve à 50° pendant 2 heures 1/2 à 3 heures. L'alcool distille, puis il est oxydé quantitativement en acide acétique dans le compartiment intérieur. Dans ces conditions, l'acétone ne gêne pas.

Solutions utilisées

Réactif nitro-chromique: Dans un ballon jaugé de 250 ml, introduire 100 ml d'eau distillée, 0,277 g de bichromate de potassium, 94 ml d'acide nitrique pur et incolore ($D = 1,40$). Compléter au trait de jauge avec de l'eau distillée. 0,5 ml de ce réactif est capable d'oxyder l'alcool renfermé dans 0,1 ml d'un sang à 1,3 ‰ d'alcool. Conserver cette solution en flacon brun, car elle n'est pas stable. Cette instabilité n'est du reste pas gênante, car il n'est pas nécessaire, étant donné la façon de procéder, que le titre de la solution soit connu.

Solution étalon d'alcool: Dans un ballon de 25 ml, introduire 10 ml d'eau distillée, peser, puis ajouter 12,67 ml d'alcool absolu Merk. Peser à nouveau (la différence de poids doit être de 10 g). Verser le tout dans un ballon de 1 litre et compléter au trait de jauge avec de l'eau distillée. Prélever 100 ml de cette solution et les diluer au litre dans un ballon jaugé. La solution ainsi obtenue est une solution étalon d'alcool à 1 ‰.

Solution de carbonate de potassium: Solution saturée de carbonate de potassium en présence d'un excès de ce sel.

Mode opératoire

Pour augmenter la sûreté et la précision de la méthode, nous procéderons de telle sorte que les résultats ne dépendent ni de la concentration de la solution nitro-chromique peu stable, ni de l'appareillage, ni de la température. Seule la concentration de la solution d'alcool étalon doit être connue avec précision. Elle est conservée au frigo et vérifiée régulièrement.

Pour que la méthode soit précise, il ne faut pas ajouter un trop grand excès de bichromate. On procède donc de la façon suivante:

On dispose de 5 cuves à double paroi numérotées de 1 à 5. Trois suffisent si l'on connaît approximativement la teneur en alcool (lorsque l'analyse a été faite préalablement au «Breathalyser», par ex.).

<i>Cuve 1</i>	0 ‰ alcool	Introduire au centre dans le compartiment ext.	0,5 ml de la solution de bichromate 0,5 ml d'eau distillée 0,5 ml de la solution de carbonate
<i>Cuve 2</i>	1 ‰ alcool	Introduire au centre dans le compartiment ext.	0,5 ml de la solution de bichromate 0,5 ml d'eau distillée 0,1 ml d'alcool à 1 ‰ 0,5 ml de la solution de carbonate
<i>Cuve 3</i>	x ‰ alcool	Introduire au centre dans le compartiment ext.	0,5 ml de la solution de bichromate 0,5 ml d'eau distillée 0,1 ml de sang (rincer la pipette avec l'eau de la cuve) 0,5 ml de la solution de carbonate
<i>Cuve 4</i>	x ‰ alcool	Introduire au centre dans le compartiment ext.	1 ml de la solution de bichromate comme pour la cuve 3
<i>Cuve 5</i>	x ‰ alcool	Introduire au centre dans le compartiment ext.	1,5 ml de la solution de bichromate comme pour les cuves 3 et 4

Chaque cuve, préalablement enduite de graisse dure «Silicone Bayer» sur le bord, est fermée au moyen d'une plaque de verre rodée. La graisse assure une étanchéité parfaite de la cuve jusqu'à 50° et plus. Elle est sans action sur l'alcool et le bichromate.

Donner à chaque cuve un mouvement de rotation dans le plan horizontal afin d'assurer une certaine homogénéité des mélanges qu'elle renferme, puis placer ces cuves dans une étuve à 50°. La distillation isothermique et l'oxydation par le bichromate sont quantitatives après 2 h. 1/2. Par mesure de prudence, cette opération est prolongée de 30 minutes.

En utilisant la graisse mentionnée ci-dessus, nous avons obtenu de bons résultats en portant les cuves dans une étuve à 90° pendant 20 minutes, mais nous n'en avons pas encore suffisamment pour pouvoir émettre une opinion quant à la valeur de ce processus. Cette méthode accélérée est probablement moins sélective.

3. Détermination spectrophotométrique

Il s'agit de déterminer l'excès de bichromate renfermé dans les cuves dont la valeur permettra de calculer les quantités respectives d'alcool introduites dans chacune d'elles. Cette opération se fera d'une part sur les cuves 1 et 2, l'une exempte d'alcool, l'autre en renfermant une quantité exactement connue.

D'autre part, on choisira parmi les cuves 3, 4 et 5, celle qui, dans le compartiment central, renferme le moins de bichromate. Ce sera la cuve 3, par exemple, si elle présente encore une coloration jaune. Si, par contre, le bichromate de cette cuve a été entièrement réduit, on examinera la cuve 4, ou, s'il y a lieu, la cuve 5. L'excès de bichromate est déterminé par spectrophotométrie.

La densité optique est mesurée par rapport à l'eau distillée, elle sera comparée à celle de la solution renfermée dans la cuve 1 (0 ‰ d'alcool) et à celle de la cuve 2 (1 ‰ d'alcool).

Mode opératoire

Ajouter dans la partie centrale de chaque cuve un volume d'eau distillée deux fois plus grand que celui de la solution de bichromate utilisé et rendre le mélange homogène.

Prélever, au moyen d'une pipette, 0,5 ml de la solution du compartiment central de la cuve de distillation 1, l'introduire dans un ballon jaugé de 10 ml, compléter au trait de jauge avec de l'eau distillée. Après agitation, verser le mélange dans une cuve spectrophotométrique de 1 cm par exemple et mesurer la densité optique (filtre 366 m μ). Soit D_0 la valeur trouvée.

Procéder de façon identique pour les cuves de distillation 2 (D_1) et 3, 4 ou 5 (D_x).

Le ‰ d'alcool en g/kg est donné par l'expression:

$$x \text{ ‰} = \frac{D_0 - D_x}{D_0 - D_1} \cdot n \cdot d$$

d = teneur en ‰ de la solution étalon d'alcool

$n = 1$ si D_x a été mesuré à partir de la solution de la cuve 3 (0,5 ml de réactif)

$n = 2$ si D_x a été mesuré à partir de la solution de la cuve 4 (1 ml de réactif)

$n = 3$ si D_x a été mesuré à partir de la solution de la cuve 5 (1,5 ml de réactif)

Dans le tableau ci-dessous, nous donnons quelques résultats obtenus avec la micro-méthode, comparés avec ceux donnés par une des macro-méthodes utilisées dans nos laboratoires.

Tableau

Macro-méthode	Micro-méthode
1,94	2,01
0,91	0,97
2,44	2,32
3,13	3,08
3,48	3,46
2,17	2,20
2,14	2,11

Précision de la méthode

En évitant l'emploi de la courbe d'étalonnage, nous éliminons un certain nombre d'erreurs, en particulier celles dues à l'appareillage, au bichromate, à la température. Seule la solution étalon d'alcool doit être connue avec une précision de 1 ‰ environ. L'erreur de la méthode croit évidemment avec l'excès de bichromate. Dans les conditions choisies, les résultats les meilleurs sont

obtenus pour une concentration en alcool voisine de 1 ‰, taux à partir duquel on retire le permis de conduire dans le canton de Genève. L'erreur maximum relative est de 2 ‰ environ, compte tenu des mesures de volume. Il est bien évident qu'en modifiant les quantités de réactif ajoutées dans les cuves de distillation, on peut, à volonté, obtenir la précision maximum pour la teneur en alcool qu'on estime être la plus intéressante. Signalons encore que la différence de densité entre la solution d'alcool et celle de sang ne provoque qu'une erreur négligeable.

Pour les diverses concentrations d'alcool, l'erreur totale maximum, y compris les mesures de volumes, ne dépasse pas 4 ‰. Pour plus de sécurité, nous admettons pour cette méthode une erreur maximum de 5 ‰.

Il est évident que certaines précautions doivent être prises, c'est ainsi que tous les instruments de mesure doivent être soigneusement lavés au mélange chromique, rincés à l'eau courante, puis à l'eau distillée et séchés. Des traces de poussières ou autres matières organiques sont susceptibles de provoquer d'importantes erreurs.

Remarques

Cette méthode va être introduite très prochainement dans le service de dosage de l'alcool dans le sang du canton de Genève. Avant le prélèvement de sang, la brigade de la circulation effectuera l'analyse de l'alcool dans l'haleine au moyen du «Breathalyser»⁶⁾⁷⁾. Les teneurs en alcool dans le sang seront ainsi approximativement connues et le micro-dosage pourra en être simplifié, une seule des cuves 3, 4 ou 5 sera nécessaire.

Pour assurer une parfaite sécurité à ce service, nous procéderons comme suit:

Deux micro-dosages seront faits simultanément en utilisant deux solutions différentes d'alcool étalon, de bichromate et de carbonate, afin d'éliminer tout risque pouvant provenir d'impuretés renfermées dans l'un ou l'autre des produits utilisés pour le dosage. La mesure de l'excès de bichromate sera effectuée d'une part au spectrophotomètre et d'autre part au polarographe.

L'expérience montre que l'acétone jusqu'à 1 ‰ ne gêne pas le dosage. Des travaux récents⁸⁾ ont montré que la concentration d'alcool dans le sang capillaire est plus élevée que dans le sang veineux si le prélèvement se fait moins de 70 minutes après l'ingestion. A partir de ce laps de temps, les teneurs en alcool sont identiques.

Certaines précautions doivent être prises en ce qui concerne le prélèvement. Le doigt doit être soigneusement essuyé et il est préférable que la piqûre soit faite sur le côté afin qu'on puisse, après élimination de la première goutte, appliquer le doigt contre la micro-éprouvette. On évitera ainsi un contact trop prolongé avec l'atmosphère, contact qui déterminerait une perte appréciable en alcool, le sang étant à 37°.

Il est aussi conseillé de ne pas presser le doigt pour en extraire le sang. L'écoulement doit se faire librement et rapidement, ce qui est le cas si la région a été bien choisie et la pénétration de la lancette suffisante.

Résumé

Une micro-méthode spectrophotométrique de dosage de l'alcool dans le sang est proposé. La prise est de 0,1 ml de sang. On effectue simultanément la distillation isothermique à 50° et l'oxydation nitrochromique dans une cuve à deux compartiments. L'acétone ne gêne pas. L'opération est facilitée par l'addition au sang d'une solution saturée de carbonate de potassium qui favorise la séparation alcool-sang. L'opération dure 2 h 1/2. L'excès de bichromate est alors déterminé par mesures spectrophotométriques. Pour éviter les erreurs dues aux solutions et à l'appareillage, il n'est pas établi de courbe d'étalonnage. On procède par comparaison avec des solutions connues d'alcool. L'erreur maximum est de $\pm 4\%$. La méthode se prête à des analyses en série.

Zusammenfassung

Es wird eine spektrophotometrische Mikrobestimmung für die Alkoholbestimmung in Blut vorgeschlagen, wobei 0,1 ml Blut verwendet werden. Diese geht in der Weise vor sich, dass in einem Behälter mit zwei Abteilen der Alkohol bei 50° C aus dem Blut abgedunstet und in einem Salpetersäure-Bichromatgemisch oxydiert wird. Aceton stört den Vorgang nicht. Durch Zugabe einer gesättigten Lösung von Kaliumkarbonat erfolgt eine gewisse Trennung des Alkohols vom Blut, was bewirkt, dass die ganze Operation innerhalb von 2 1/2 Stunden abläuft. Der Ueberschuss an Bichromat wird dann spektrophotometrisch ermittelt. Die Verfasser verzichten auf die Wiedergabe einer Eichkurve, da diese sowohl von den verwendeten Lösungen als auch vom Apparat selbst abhängig ist; hingegen empfehlen sie, jeweilen eine Eichung mit Lösungen von bekanntem Alkoholgehalt selbst vorzunehmen. Der grösste festgestellte Fehler betrug $\pm 4\%$. Die Methode eignet sich auch für Serienuntersuchungen.

Summary

Description of a procedure for the micro-determination of the alcohol content in 0,1 ml of blood, in 2 1/2 hrs and with an accuracy of $\pm 4\%$. The alcohol is distilled, oxidized with a mixture of nitric and chromic acids and determined spectrophotometrically. The presence of acetone does not impede the determination.

Bibliographie

- 1) Monnier D. et Fasel M., ces travaux **47**, 2 (1956).
- 2) Kirk P. L., Quantitative Ultramicroanalysis, p. 113. J. Wiley. New-York 1951.
- 3) MacLeod L. D., J. Biol. Chem. **181**, 323 (1949).
- 4) Winnick T., Ind. Eng. Chem. Anal. Ed. **14**, 523 (1942).
- 5) Rüedi W. F. et Monnier D., Acta Med. **27** (1956).
- 6) Monnier D., Chimia **11** - 16 - 21 (1957).
- 7) Monnier D., Revue inter. de criminologie et de police technique **4** (1956).
- 8) Harger R. N., Forney R. B. et Baller R. S., Quart. J. Stud. Alcohol **17**. no 1 (1956).