

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

Herausgeber: Bundesamt für Gesundheit

Band: 74 (1983)

Heft: 4

Artikel: Contribution au dosage de l'éthanol dans le sang. Partie III, Etude des standards et leur préparation = Aspects to the analysis of ethanol in blood. Part III, Investigations of standards and their preparation

Autor: Pelletier, M. / Martin, M. / Haerdi, W.

DOI: <https://doi.org/10.5169/seals-983011>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. [Siehe Rechtliche Hinweise.](#)

Conditions d'utilisation

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. [Voir Informations légales.](#)

Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. [See Legal notice.](#)

Download PDF: 09.01.2025

ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, <https://www.e-periodica.ch>

Contribution au dosage de l'éthanol dans le sang III.* Etude des standards et leur préparation

Aspects to the Analysis of Ethanol in Blood
III.* Investigations of Standards and Their Preparation

M. Pelletier, M. Martin et W. Haerdi

Département de Chimie minérale, analytique et appliquée de l'Université de Genève

Introduction

Toute méthode analytique, aussi précise soit-elle, dépend de la qualité des standards (ou étalons) préparés ou disponibles dans le commerce. Ces standards doivent en effet assurer une certaine exactitude à la méthode proposée. Cette méthode exigera une exactitude d'autant plus grande que le résultat analytique fait l'objet d'une éventuelle limite de tolérance.

Dans ce travail, nous nous proposons de comparer et de contrôler la qualité de divers standards utilisés lors de la détermination de l'alcoolémie ainsi que d'étudier les possibilités offertes par la densitométrie pour effectuer ces contrôles.

Etude analytique

Contrôle par chromatographie en phase gazeuse par injection directe

Méthode utilisée

Technique habituellement appliquée lors de nos analyses de routine et que nous avons décrite dans un précédent article (1).

Choix des étalons étudiés et calibration

La plupart des étalons (marques) actuellement disponibles dans le commerce ont fait l'objet de cette étude. Pour chacun d'entre eux nous avons prélevé, au hasard à fin d'analyse, un flacon ou une ampoule provenant si possible de plusieurs lots de fabrication différents.

Les étalons disponibles peuvent se diviser en diverses catégories selon leur constitution et leur contenant.

* Part. I et II, v. Trav. chim. aliment. hyg. 72, 194—215 (1981).

- Marque A: solution aqueuse d'éthanol en ampoule scellée;
- Marque B: solution aqueuse d'éthanol en flacon, avec adjonction de polyvinylpyrrolidone (viscosité voisine de celle du sérum);
- Marque C: sérum humain avec adjonction d'éthanol;
- Marque D: solution aqueuse d'éthanol en flacon;
- Marque E: sang humain complet avec adjonction d'éthanol;
- «Marque F»: solutions aqueuses d'éthanol préparées par nos soins.

La plupart des marques ne proposent qu'une ou deux solutions de concentrations différentes, seule la marque A offre une gamme complète de 22 concentrations comprises entre 0,5 et 4,0 g/l. De cette gamme nous avons arbitrairement choisi les solutions contenant 1,0 et 2,0 g/l (la densité étant pratiquement égale à 1, on peut assimiler les g/l à des g/kg).

Nous avons également fait préparer, dans notre laboratoire, 3 solutions aqueuses d'éthanol (par 3 personnes). Pour cette préparation, des précautions particulières ont été prises: l'alcool absolu a été pesé dans un ballon jaugé contenant un certain volume d'eau, ceci afin d'éviter des pertes par évaporation. Les résultats obtenus pour ces solutions figurent dans le tableau 1 sous «marque F».

Pour la calibration (référence) du chromatographe, nous avons toujours utilisé des étalons de la marque A (en ampoule scellée) du même lot de fabrication et d'une concentration de 2 g/kg, valeur vérifiée par densitométrie (v. page 345, tableau 3). Ce choix est tout-à-fait arbitraire et ne signifie donc pas que l'exactitude des étalons de cette marque est supérieure aux autres.

Résultats

Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau 1. Chaque solution d'étalon a été analysée 5 fois.

Le test «*t*» (test de Student) a été effectué en appliquant la relation suivante:

$$t(\text{estimé}) = |(\bar{x} - \mu)| \frac{\sqrt{n}}{s}$$

\bar{x} : valeur moyenne de n résultats

μ : valeur vraie de l'étalon

s : écart-type des n déterminations

Dans notre cas, ayant donc toujours effectué 5 mesures, t (théorique) donné par les tables est de 2,776 pour une probabilité de 95%.

Conclusions

Etant donné que les écarts de la moyenne obtenus pour les divers étalons semblent dispersés d'une manière aléatoire par rapport à zéro, on peut admettre que la valeur moyenne obtenue pour l'étalon choisi comme référence (2 g/kg) est proche de sa valeur vraie.

Selon le test de «*t*» on constate que la plupart des étalons étudiés présentent une différence statistiquement significative ($t(\text{calculé}) > t(\text{théorique})$). Il faut cependant tenir compte des considérations suivantes:

- les valeurs relativement élevées de t (calculé) sont dues en grande partie à la très grande précision des résultats analytiques (coefficient de variation relatif inférieur à 1%);
- les différences sont en réalité très faibles et se situent dans la limite de précision donnée par les fabricants. En effet, nos résultats sont donnés avec trois décimales (ce qui n'est d'ailleurs pas un critère) alors que les fabricants indiquent les concentrations avec 2 ou même une seule décimale et une marge

Tableau 1. Résultats des analyses des diverses solutions étalons effectuées par chromatographie par injection directe

Marques des étalons	μ (g/kg)	\bar{x} (g/kg)	Δ (%)	s (g/kg)	t_e
A	1,0	0,998	-0,2	0,003	1,5
A	1,0	1,000	0		0
A	1,0	1,009	+0,9	0,006	3,4
A	2,0	2,007	+0,3	0,005	3,1
A	2,0	2,015	+0,7	0,005	6,7
A	2,0	2,027	+1,3	0,012	5,0
A	2,0	1,991	-0,4	0,012	1,7
B	0,79	0,799	+1,1	0,006	3,4
B	0,79	0,791	+0,1	0,008	0,3
B	0,79	0,785	-0,6	0,002	5,6
B	1,48	1,485	+0,3	0,006	1,9
B	1,48	1,491	+0,7	0,002	12,3
C	1,54 (1,44-1,64)	1,585	+2,9	0,006	16,8
C	0,82 (0,77-0,87)	0,835	+1,8	0,006	5,6
D	0,8	0,823	-2,9	0,003	17,1
E	1,03 (0,99-1,07)	1,010	-1,9	0,010	4,5
F	1,508	1,507	-0,1	0,004	0,6
F	1,484	1,475	-0,5	0,005	3,1
F	1,550	1,549	-0,1	0,007	0,3

Légende:

- μ = concentration donnée
- \bar{x} = concentration trouvée (moyenne de 5 mesures)
- Δ = écart de la moyenne
- s = écart-type calculé
- t_e = valeur calculée du test de « t »

Remarques:

- Les valeurs des étalons de la marque B sont exprimées par le fabricant en g/l. Après mesure de leur densité, nous les avons exprimées ici en g/kg.
- La valeur de l'étalon de la marque E (donnée par le fabricant en g/l) est exprimée ici en g/kg (d_4^{25} du sang : 1,059 selon les tables Geigy, 8e éd. vol. 2, p. 68).

d'erreur (quand elle est donnée, marques E et C) nettement plus élevée que les écarts déterminés;

- ces écarts sont de toute manière compris dans la marge d'erreur (5%) qui est généralement admise pour la détermination de l'alcoolémie.

Les étalons de la marque A ont l'avantage d'être livrés en ampoules scellées de 1 ml, ce qui élimine tout risque dû à la conservation de flacons ouverts et refermés à plusieurs reprises (bien que les risques soient faibles comme le montre l'étude décrite plus loin).

Les étalons des marques B, D et E présentent l'inconvénient de donner les valeurs exprimées en g/l ce qui ne correspond pas aux normes (g/kg) admises par la législation suisse en matière d'alcoolémie. La densité des étalons B et E est différente de 1 et n'est pas indiquée par le fabricant ce qui ne permet pas un calcul de la concentration en g/kg sans mesure préalable de la densité.

Les résultats obtenus montrent qu'il est parfaitement possible de préparer soi-même des solutions aqueuses étalons ayant une exactitude très satisfaisante, pour autant que certaines précautions soient prises.

Il est bien évident que ces conclusions ne concernent que les échantillons que nous avons analysés et n'excluent pas qu'une erreur puisse se produire en cours de fabrication. Toutefois, ce risque semble faible, nous ne l'avons pas rencontré dans notre étude portant sur de nombreuses marques et lots de fabrication différents.

Contrôle par chromatographie en phase gazeuse par la technique «Head Space»

Introduction

Nous avons voulu nous assurer que les différents types d'étalons offerts sur le marché conviennent également aux analyses effectuées par la technique «Head Space». Cette dernière étant basée sur un équilibre entre les phases liquide et gazeuse, il se pourrait donc que cet équilibre soit influencé par la nature du milieu de certains étalons.

Seuls les étalons de la marque E étant réalisés avec du sang complet sont de nature identique aux échantillons à analyser pratiquement. Ces étalons sont cependant très coûteux et difficiles à se procurer en Europe actuellement.

Méthode utilisée

Nous avons utilisé la technique «Head Space» à température ordinaire avec adjonction d'un réactif ionique telle qu'elle est décrite dans de précédents articles (2-3).

Choix des étalons étudiés

Pour cette étude nous avons choisi un étalon de chaque type de milieu.

Le chromatographe a été calibré avec un étalon aqueux de la marque A (2 g/kg). Toutes les analyses ont été répétées 5 fois. Les résultats sont consignés dans le tableau 2.

Tableau 2. Résultats des analyses de diverses solutions étalons effectuées par la technique «Head-Space»*

Marque des étalons	μ (g/kg)	\bar{x} (g/kg)	Δ (%)	s (g/kg)	t_e	Constitution
C	0,82 (0,77–0,87)	0,848	+ 3,4	0,024	2,6	Sérum
B	0,79	0,784	– 0,8	0,020	0,7	+ polyvinylpyrrolidone
E	1,03 (0,99–1,07)	1,009	– 2,0	0,011	4,3	Sang complet

* Voir légende et remarques sous tableau 1.

Conclusion

Cette étude montre que la nature de la solution étalon n'a aucune influence sur les résultats obtenus. L'échantillon de la marque B, contenant de la polyvinylpyrrolidone, ne convient selon le fabricant qu'à la chromatographie en phase gazeuse par injection directe. Nous n'avons toutefois constaté aucun effet perturbateur pour la méthode «Head-Space» mise au point et proposée par nous (2).

Vérification de la qualité des standards par densitométrie

Introduction

Des densimètres sensibles ($\pm 10^{-5} - 10^{-6}$ g/cm³) et de bonne précision sont actuellement disponibles. Ils sont notamment utilisés pour la détermination du degré d'alcool dans les vins. Nous avons étudié la possibilité de leur application à la détermination de la densité des solutions aqueuses d'éthanol de faibles concentrations, telles qu'on les rencontre usuellement lors de la détermination de l'alcoolémie. Il serait ainsi possible de contrôler la qualité des standards aqueux d'éthanol avec une méthode purement physique et fondamentalement différente des techniques d'analyses enzymatiques ou chromatographiques.

Technique de mesure

Appareillage: Densimètre modèle PAAR DMA 55 (précision: $\pm 1 \cdot 10^{-5}$ g/cm³). La cellule de mesure, constituée d'un tube de verre en U, est placée dans un cylindre à double parois de verre, scellé aux deux extrémités et rempli de gaz de haute conductivité thermique. Le cylindre de verre est maintenu rigide dans un autre cylindre métallique qui joue le rôle d'amortisseur d'oscillations. Ainsi, le volume de la cellule entrant en vibration est constant et maintenu à température constante.

La partie électronique comprend:

- a) un système d'excitation de la cellule et de maintien des oscillations à une amplitude constante,
- b) une base de temps permettant la mesure précise de la période des oscillations en 3 secondes environ.

La calibration de l'appareil s'effectue en déterminant la période des oscillations pour l'air et pour l'eau distillée, à la température de travail (ici: 20 °C). Ainsi l'appareil affichera numériquement les densités mesurées avec 5 décimales.

Droite d'étalonnage

Nous avons préparé des solutions aqueuses d'éthanol de concentrations comprises entre 0 et 5 g/kg et mesuré leur densité (δ). Au moyen de 9 déterminations, nous avons obtenu la droite de régression suivante:

ordonnée à l'origine	$\delta_0 = 0,99823$
pente	$m = -0,000192$
coefficient de régression	$r = -0,9985$

Remarques

1. L'ordonnée à l'origine δ_0 représente la densité de l'eau distillée utilisée. Selon la littérature (4) la densité relative de l'eau à 20 °C est de 0,9982 kg/l. Nous retrouvons donc exactement ces 4 premières décimales.
2. La pente m de la droite est une constante pour une température donnée. Nos solutions étant thermostatées à 20 °C, nous avons régulièrement trouvé pour $m = -0,000192$.
3. Si δ est la densité relative à 20 °C de solutions d'éthanol inconnues et ‰ leur concentration, l'équation de la droite sera:

$$\delta = m \cdot \% + \delta_0$$

$$\text{d'où } \% = \frac{\delta - \delta_0}{m} \quad (\text{équation 1})$$

$$\text{avec } \delta_0 = 0,99823 \text{ et } m = -0,000192$$

Etude de la précision

Sur une série de 10 mesures d'une solution d'éthanol à 2,14 g/kg et en assurant une probabilité de 95%, nous avons obtenu les résultats suivants:

$$\text{densité relative moyenne: } \bar{\delta} = 0,997818 \text{ kg/l}$$

$$\text{écart-type estimé: } s = 0,0000105 \text{ kg/l}$$

$$\text{coefficient de variation: } c_v = 0,001\% = \left(\frac{s}{\bar{\delta}} \cdot 100\right)$$

L'erreur statistique: $\Delta\delta = t \cdot s = 0,00002 \text{ kg/l}$, soit une variation de ± 2 chiffres affichés sur la 5ème décimale donnant la densité. Sur la moyenne cette erreur devient: $\Delta\bar{\delta} = 0,000007 \simeq 0,00001 \text{ kg/l}$.

A partir de ces résultats et à l'aide de l'équation 1, nous calculons qu'une variation de la densité de $\pm 1 \cdot 10^{-5}$ donne lieu à une variation de la concentration de $\pm 0,05$ g/kg.

Cette précision de $\pm 0,05\%$ correspond donc à une variation de ± 1 unité sur la cinquième décimale. C'est, en effet, une variation de cet ordre de grandeur que nous avons régulièrement pu observer au cours de nos déterminations. La concentration de la solution d'éthanol étudiée est alors de $2,14 \pm 0,05$ g/kg. Cette précision pourrait être améliorée avec un appareil assurant une reproductibilité de $\pm 1 \cdot 10^{-6}$ kg/l.

Application au contrôle de standards d'éthanol

Cette technique de dosage ainsi que la précision obtenue nous ont conduit à examiner certaines solutions-étalons mises en vente dans le commerce. Nous avons groupé dans le tableau 3 quelques résultats obtenus par densitométrie ainsi que par chromatographie en phase gazeuse par injection directe (1).

Comme on peut le constater la concordance des résultats est excellente. La garantie offerte par les solutions-étalons semble donc respectée.

Tableau 3. Comparaison des résultats obtenus par densitométrie et par chromatographie en phase gazeuse pour diverses solutions étalons

Marques des étalons	Conc. donnée (μ) (g/kg)	Conc. trouvée par densitométrie (g/kg)	Conc. trouvée par chromatographie (g/kg)
D	0,8	0,79	0,80
A	2,0	2,01–2,02	Utilisé pour la calibration
Etalon préparé par nos soins	1,08	1,04	1,05

Conclusion

La technique qui vient d'être décrite ne peut évidemment s'appliquer qu'à des solutions aqueuses d'éthanol. L'appareil calibré et connaissant la pente m de la droite et la densité δ_0 à 20 °C de l'eau, les déterminations sont rapidement exécutées. Les avantages de cette technique sont incontestables et permettent de vérifier aisément, en laboratoire, l'exactitude de standards d'éthanol. L'avantage de la méthode réside dans le fait qu'une fois la constante m (pente) déterminée, un étalonnage au moyen d'une solution d'éthanol n'est plus nécessaire.

Etude de la conservation des étalons

Parmi les étalons proposés certains sont fournis en flacon contenant plusieurs millilitres; le volume nécessaire pour effectuer une calibration étant, pour les mé-

thodes que nous utilisons, de 0,6 ml (0,1 ml pour l'injection directe et 0,5 ml pour la technique «Head Space»), il était donc important de vérifier que le flacon contenant l'étalon puisse être utilisé à plusieurs reprises sans modification de la teneur en éthanol de la solution.

Nous avons arbitrairement choisi, pour cette étude, un étalon de la marque B livré en flacon de 5 ml. La teneur en éthanol de cet échantillon a été déterminée par comparaison avec un étalon en ampoule (marque A), une nouvelle ampoule étant utilisée pour chaque détermination.

Le contenu du flacon étudié a été traité comme lors d'une utilisation normale au cours de nos analyses de routine: durée de l'ouverture: environ 1 minute; prélèvement du volume nécessaire aux étalonnages et conservation à 5 °C environ. Les résultats sont représentés dans le tableau 4.

Tableau 4. Conservation à 5 °C des étalons et reproductibilité au cours du temps

Dates	Temps (j)	(g/kg)
21. 9.1982	0	1,48
24. 9.1982	3	1,52
6. 10.1982	15	1,52
9. 10.1982	18	1,48

Remarques:

Droite de régression: pente = $0,000 \pm 0,002$, ordonnée à l'origine = $1,50 \pm 0,02$ g/kg.

Conclusion

Aucune variation significative de la teneur en éthanol n'apparaît même après 18 jours. Cette durée est d'ailleurs supérieure à celle généralement nécessaire en routine, le contenu d'un flacon étant normalement épuisé après 7–10 jours au maximum.

Conclusions générales

Les étalons choisis ont été vérifiés par les méthodes normalement appliquées pour la détermination de l'alcoolémie. De plus, nous les avons contrôlés par densitométrie, méthode purement physique et indépendante des méthodes analytiques classiques.

Bien que cette méthode n'ait pas la précision des méthodes chromatographiques elle reste, néanmoins, satisfaisante comparée aux précisions des solutions étalons fournies par les fabricants. Utilisées conjointement aux méthodes chromatographiques, elle peut donc apporter une sécurité complémentaire quant à l'exactitude des étalons aqueux.

Il ressort de ce travail que les étalons offerts sur le marché sont d'une bonne qualité. Il est possible de préparer soi-même de telles solutions avec une exactitude au moins équivalente.

Le problème de l'exactitude de la détermination de l'alcoolémie ne semble donc pas résider essentiellement dans la qualité des étalons utilisés. C'est donc

vers des paramètres introduisant d'autres erreurs systématiques qu'il faudrait se tourner (telles que: échantillonnage et manipulations analytiques proprement dites).

Résumé

L'étude de l'exactitude de solutions-étalons d'éthanol actuellement offertes sur le marché, ainsi que de celles préparées en laboratoire, a été entreprise. Ces études ont été effectuées par chromatographie par injection directe, par la technique «Head-Space» et par densitométrie. Les étalons ainsi étudiés se sont révélés d'une qualité tout-à-fait satisfaisante et leur conservation ne pose pas de problème particulier.

Zusammenfassung

Das Studium der Genauigkeit der Ethanoleichlösungen von Marktprodukten sowie von Eichlösungen, welche im eigenen Labor hergestellt werden, wird beschrieben. Diese Studien wurden anhand der Direktinjektionschromatographie, der «Head-space»-Technik und auch der Messung des spezifischen Gewichtes unternommen. Die in dieser Weise studierten Eichlösungen entsprechen einer hinreichenden Qualität und ihre Konservierung stellt keine Probleme.

Summary

The accuracy of the standard ethanol solutions commercially available as well as those prepared in the laboratory have been studied. These investigations were carried out using direct injection chromatography, «head-space» technic and specific gravity method. The results of the studies revealed that the quality of these standards is very satisfactory and the storage of these poses no problem.

Bibliographie

1. *Pelletier, M., Martin, M. et Haerdi, W.*: Contributions au dosage de l'éthanol dans le sang. I. Trav. chim. aliment. hyg. **72**, 194–206 (1981).
2. *Martin, M., Pelletier, M. et Haerdi, W.*: Contributions au dosage de l'éthanol dans le sang. II. Trav. chim. aliment. hyg. **72**, 207–215 (1981).
3. *Martin M. et Haerdi, W.*: Détermination de composés volatils toxiques dans le sang et dans l'urine par chromatographie en phase gazeuse, méthode de l'espace de tête («Head-Space»). Trav. chim. aliment. hyg. **73**, 212–217 (1982).
4. Handbook of chemistry and physics, 57th Ed., p. D-200. CRC Press, Cleveland 1973.

Dr M. Pelletier
Dr M. Martin
Prof. W. Haerdi
Départ. de chimie minérale, analytique et
appliquée de l'Université
Sciences II
30, quai Ernest-Ansermet
CH-1211 Genève 4