

Dosage spectrophotométrique de l'alcool dans le sang

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

Objektyp: **Article**

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

Band (Jahr): **47 (1956)**

Heft 2

PDF erstellt am: **22.07.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-983960>

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.

Dosage spectrophotométrique de l'alcool dans le sang

Par *D. Monnier* et *M. Fasel*

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

I. Généralités

La plupart des méthodes de dosage de l'alcool dans le sang sont basées sur l'oxydation de l'alcool par le bichromate de potassium en milieu acide, l'alcool ayant été préalablement séparé du sang par distillation. On procède soit par titration directe (procédé délicat), soit en déterminant l'excès de bichromate par volumétrie ou polarographie. Pour plus de détails, consulter les articles sous chiffres 1) et 2).

Nous proposons ici de doser cet excès par spectrophotométrie.

L'examen des courbes d'absorption du chromate, du bichromate et du chrome III, établies par *Englis* et *Wollerman*³⁾, montre que les deux premiers cités n'absorbent plus pour des longueurs d'ondes supérieures à 560 m μ . Par contre, on observe une forte absorption de ceux-ci au voisinage de 366 m μ dans l'ultra-violet proche. Le chrome III est «transparent» pour cette même longueur d'ondes, du moins pour les concentrations auxquelles nous aurons à faire et il présente un maximum d'absorption vers 600 m μ . On voit donc qu'il est possible, par un choix judicieux de filtres, de doser le bichromate et le chrome III l'un en présence de l'autre. Pourtant, étant donné le faible coefficient d'absorption du chrome III, $\epsilon = 0,08$, les quantités formées lors de la réduction du bichromate par l'alcool sont trop faibles pour permettre un dosage précis. Nous nous contenterons, dans cet article, de mettre au point une méthode, spécialement adaptée au dosage de l'alcool dans le sang, dans laquelle l'excès de bichromate est déterminé spectrophotométriquement dans l'ultra-violet à 366 m μ . La vérification se fera par l'emploi d'une solution d'alcool étalon. Nous ne nous occuperons donc pas du chrome III qui ne gêne pas à cette longueur d'ondes. Dans les limites de concentration de la méthode proposée, la coloration obéit à la loi de Lambert-Beer. La densité optique est proportionnelle à la concentration du bichromate ou du chromate.

Mesure spectrophotométrique:

Pour cette détermination il faut disposer d'un spectrophotomètre permettant d'effectuer les mesures de la densité optique dans l'ultra-violet proche, susceptible de donner un rayonnement monochromatique de longueur d'ondes voisine de 366 m μ . Il n'est pas nécessaire pour cela d'avoir un appareil spécialement conçu pour les mesures dans l'ultraviolet. Certains colorimètres construits pour le visible permettent d'atteindre l'ultra-violet proche. C'est ainsi que nous avons utilisé le spectrophotomètre «Eppendorf» qui, grâce à l'emploi d'une lampe à mercure et d'un filtre de Wood, laisse passer les radiations de $\lambda = 366$ m μ .

II. Dosage de l'alcool dans le sang

Ce dosage comprend:

Une distillation de l'alcool du sang.

Un essai préliminaire sur le distillat destiné à connaître la quantité approximative du réactif à ajouter, afin de n'en pas avoir un trop grand excès.

Une oxydation par un mélange nitro-chromique (ou sulfochromique, v.p. 146).

Une détermination spectrophotométrique de l'excès de bichromate à 366 m μ .

Les qualités exigées des méthodes de dosage de l'alcool dans le sang sont avant tout: une grande sûreté, une précision suffisante (5 %) et une sélectivité aussi bonne que possible. Nous pensons que la détermination du ‰ d'alcool à partir de courbes d'étalonnage établies avec des quantités connues de bichromate ne présente pas une garantie suffisante, toute modification des solutions titrées ou de l'appareillage pouvant fausser les résultats sans qu'il soit possible de s'en rendre compte et ce d'autant plus que les solutions nitro-chromiques, plus sélectives que les solutions sulfo-chromiques, sont par contre beaucoup moins stables. Nous avons donc proposé une méthode un peu plus longue, qui consiste à déterminer la densité optique de deux quantités connues du réactif en parallèle avec celle de la solution inconnue. Il n'est pas nécessaire de connaître la concentration exacte de la solution de bichromate, ceci est particulièrement important lorsqu'il s'agit du mélange nitro-chromique qui est peu stable.

Solutions utilisées:

Solution saturée d'acide picrique: Concentration d'environ 0,85 %. Cette solution doit être portée à ébullition pendant 20 minutes pour chasser les réducteurs volatils présents.

Acide nitrique puriss Merk, densité 1,4: Doit être incolore.

Réactif nitro-chromique (R 8,8) : 8,8 gr de bichromate de potassium puriss dissous à froid dans 1 litre d'acide nitrique concentré.

Soude caustique 4N.

Solution titrée d'alcool: La solution étalon d'alcool est composée de 0,3959 cm³ d'alcool absolu *Merk* versé dans un ballon jaugé d'un litre, compléter avec de l'eau distillée. Cette solution d'alcool correspond à un taux de 1 ‰ d'alcool dans le sang, compte tenu de la distillation.

On obtient cette solution en versant d'une burette 39,6 cm³ d'alcool absolu *Merk* dans 1 ballon jauge de 1 litre, on complète avec de l'eau distillée; bien mélanger.

Puis on prélève 10 cm³ de ce mélange que l'on verse également d'une micro-burette dans 1 ballon jaugé d'un litre et on complète avec de l'eau distillée.

Cette solution, conservée au frigo, reste intacte durant plusieurs mois .

Mode opératoire du dosage de l'alcool dans le sang

Peser au centigramme une quantité déterminée a de sang (8 à 10 g) de préférence fluoré. Si le sang est en caillot, dilacérer ce dernier avec une baguette de verre.

Distillation: Verser ce sang, auquel on a ajouté 8 fois son volume d'acide picrique, dans un appareil à distiller composé d'un ballon de pyrex de 250 cm³ à col allongé muni d'un serpentín en étain (selon dispositif Schloessing-Aubin). Le distillat est reçu dans un cylindre gradué de 25 ou 50 cm³ se fermant par un bouchon rodé et renfermant, au début de l'opération, quelques cm³ d'eau distillée dans laquelle plonge l'extrémité du réfrigérant. La distillation doit prendre 30 minutes environ. On reçoit une quantité de distillat exprimée en cm³, équivalant au poids du sang (a) multiplié par le coefficient 3,2 ($a \times 3,2$ cm³). On interrompt la distillation un peu avant d'atteindre le volume désiré et on complète avec de l'eau distillée. Cette dernière opération doit être faite avec beaucoup de minutie, car elle peut être cause d'erreurs importantes. L'erreur commise est au maximum de ± 2 %.

Essai préliminaire: Afin de connaître la quantité approximative de réactif à introduire et de n'en pas mettre un trop grand excès, on effectue un essai préliminaire. On introduit dans une éprouvette, 1 cm³ de réactif, 3 à 5 cm³ d'acide nitrique concentré, 5 cm³ de distillat. On chauffe à la flamme quelques minutes. Si le mélange reste jaunâtre, c'est que l'alcool a été entièrement oxydé et qu'il reste un excès de bichromate. 1 cm³ de réactif suffit donc pour l'oxydation. Si l'on constate que la solution devient bleue, on ajoute un 2^{ème} cm³ de réactif et on chauffe. Si le liquide reste jaune, deux cm³ de réactif suffisent pour l'oxydation. Si non, on ajoute un 3^{ème} cm³ de réactif.

Oxydation: On prépare trois tubes. Le premier ne renferme pas d'alcool. On introduit dans le 2^{ème} la solution d'alcool étalon 1 ‰ g/kg et dans le 3^{ème} la solution inconnue.

Tube 1: Prendre 1 cm³ de réactif,
(0 ‰ alcool) 2 cm³ d'acide nitrique concentré,
5 cm³ d'eau distillée,
rendre homogène.

Tube 2: Prendre 1 cm³ de réactif,
(1 ‰ alcool) 2 cm³ d'acide nitrique concentré,
5 cm³ de la solution d'alcool étalon à 1 ‰,
rendre homogène.

Tube 3: Prendre le nombre de cm³ de réactif établi lors de l'essai préliminaire,
(x ‰ alcool) 2, 1 ou 0 cm³ d'acide nitrique suivant que l'on a trouvé
1, 2 ou 3 cm³ de réactif,
5 cm³ de distillat.
rendre homogène.

La quantité totale de chaque solution est de 8 cm³.

La réaction d'oxydation est terminée après une heure à la température ordinaire ou 1/4 d'heure si la solution est chauffée au bain-marie.

Détermination spectrophotométrique: Prendre deux cuves colorimétriques de l = 1 cm. Mettre dans une des cuves de l'eau distillée et dans l'autre successivement les solutions 0 ‰, 1 ‰ et x ‰ des tubes 1, 2 et 3, diluées chacune 20 fois. Pour effectuer cette dilution, on prélève avec une pipette, dont la jauge a été préalablement vérifiée, 1 cm³ de la solution du tube 1, on le met dans un ballon jaugé de 20 cm³ et on complète avec de l'eau distillée. Bien agiter le mélange avant de le verser dans la cuve colorimétrique. Procéder de la même façon pour les autres tubes.

Ensuite mesurer sur le spectrophotomètre l'extinction D pour chaque solution par rapport à l'eau distillée.

Densité optique pour 0 ‰ = D₀

Densité optique pour 1 ‰ = D₁

Densité optique pour x ‰ = D_x

Formule:

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

D = extinction.

n = nombre de cm³ de réactif utilisé pour l'oxydation de l'alcool de la solution à déterminer (1, 2 ou 3 cm³).

x ‰ = concentration de l'alcool dans le sang en g/kg.

Précision de la méthode:

L'erreur provenant de la distillation, y compris l'addition d'eau distillée pour l'obtention d'un volume déterminé, est au maximum de $\pm 2 \%$. Celle due à l'oxydation est de $\pm 1,5 \%$ au maximum. Enfin nous avons recherché les écarts provenant des mesures de la densité optique. Comme pour la plupart des méthodes physico-chimiques, cette erreur est sensiblement la même quelle que soit la concentration de la solution, ce qui fait qu'il n'est pas possible de l'exprimer en ‰ sans donner la concentration correspondante. Avec l'appareil «Eppendorf», les plus grands écarts dans la mesure de la densité optique sont de $\pm 0,002$ (dans la plupart des mesures, cette erreur est sensiblement plus faible) y compris les opérations de remplissage des cuves.

Le calcul montre que si l'analyse se fait avec 1 cm³ de réactif, l'erreur est au maximum de $\pm 7 \%$ pour une quantité d'alcool de 0,17 ‰. Elle passe à $\pm 2,8 \%$ pour un sang renfermant 0,46 ‰ d'alcool. Elle n'est plus que de 1 ‰ lorsque la concentration en alcool est de 1 ‰ et elle diminue jusqu'à une teneur de 1,3 ‰.

Quelques résultats:

Analyses faites sur des solutions alcooliques aqueuses connues. Ces solutions ont été préparées à partir d'une solution aqueuse de 5 ‰ d'alcool et toutes vérifiées par la méthode *Rochat*.

Valeurs réelles en ‰	Valeurs trouvées en ‰	Erreurs absolues	Erreurs relatives en ‰
0,625	0,627	+ 0,002	+ 0,32
1,25	1,25	0	0
1,66	1,64	- 0,02	- 1,2
1,875	1,90	+ 0,025	+ 1,33
2,13	2,14	+ 0,01	+ 0,46
2,20	2,24	+ 0,04	+ 1,81
2,50	2,52	+ 0,02	+ 0,8
2,84	2,93	+ 0,09	+ 3,16
3,32	3,32	0	0

Analyses d'alcool dans le sang. Echantillons de sang fournis par la police. Analyses faites en parallèle avec les méthodes polarographique et *Rochat*.

Valeurs trouvées par polarographie en ‰	Valeurs trouvées par méthode <i>Rochat</i> en ‰	Valeurs trouvées par spectrophotométrie en ‰
1,80	1,85	1,80
0,91	0,91	0,90
2,62	2,66	2,66
0,98	0,965	0,98
1,15	1,15	1,14
1,03		1,026
2,64		2,64
1,53	1,50	1,52
2,40	2,44	2,44
1,62	1,64	1,57
1,16	1,12	1,17
1,16	1,17	1,17
1,00	1,00	1,00
0,96	0,93	0,96
1,70	1,71	1,73
1,04	1,01	1,04
2,61	2,60	2,60
2,33	2,34	2,35
1,04	1,05	1,06
0,00	0,00	0,009
1,72	1,75	1,74

Les quantités de réactif ont été déterminées de telle sorte que l'erreur minimum se situe entre 0,8 et 1,3 ‰. (à Genève, la limite d'alcool dans le sang admise par la police est de 1 ‰ en poids).

Dans les cas où l'on prend 2 et 3 cm³ de réactif, l'erreur ne dépasse pas 1 ‰.

En résumé, on peut admettre pour l'ensemble des manipulations une erreur de ± 5 ‰.

Remarques:

1. Les mesures spectrophotométriques que nous venons de décrire sont donc faites en milieu acide. Elles peuvent être pratiquées également en milieu alcalin. Cette alcalinisation a pour but surtout de maintenir la stabilité de l'oxydation. Chaque fois que la détermination spectrophotométrique ne pourra pas être faite immédiatement après la fin de l'oxydation, on alcalinisera, ceci de la façon suivante:

Préparer trois tubes 1', 2' et 3' dans lesquels on met 4 cm³ d'une solution de NaOH 4N, plus 2 cm³ de la solution provenant des tubes 1, 2 et 3 (tubes où eut lieu l'oxydation) sitôt l'oxydation terminée.

Tube 1': 4 cm³ de NaOH + 2 cm³ sol. du tube 1, mélanger.
(0 ‰)

Tube 2': 4 cm³ de NaOH + 2 cm³ sol. du tube 2, mélanger.
(1 ‰)

Tube 3': 4 cm³ de NaOH + 2 cm³ sol. du tube 3, mélanger.
(x ‰)

Diluer 20 fois chacune des solutions des tubes 1', 2' et 3' et procéder à la détermination spectrophotométrique pour mesurer l'extinction D comme indiqué page 144.

2. *Dosage de l'alcool par oxydation sulfo-chromique.*

On peut aussi effectuer l'oxydation de l'alcool par un mélange sulfo-chromique, réactif plus stable mais moins sélectif que le précédent. Nous en donnons ci-dessous le mode opératoire.

Solutions:

Acide sulfurique Merk pro analyse, densité 1,84.

Solution de bichromate de potassium: 8,475 g de bichromate de potassium dans un litre d'eau distillée.

Solution titrée d'alcool: (voir page 142).

Solution saturée d'acide picrique: (voir page 142).

Distillation: (voir page 143).

Essai préliminaire: servant à déterminer le nombre de cm³ de la solution de bichromate de potassium nécessaire à l'oxydation de l'alcool.

Mettre dans un bécher de 150 cm³:

5 cm³ de distillat,

6,5 cm³ environ d'acide sulfurique,

puis, *immédiatement* après l'acide sulfurique, laisser couler rapidement d'une microburette la solution de bichromate de potassium jusqu'à coloration distinctement jaunâtre. Chauffer pour faciliter l'oxydation.

Oxydation:

Préparer 3 béchers secs de 150 cm³.

bécher 1: verser 5 cm³ d'eau distillée,
(0 ‰) 1 cm³ de la solution de bichromate de potassium,
8,5 cm³ d'acide sulfurique

Agiter le mélange par un brusque mouvement de rotation. Attendre 30 secondes environ, puis refroidir (mettre le bécher dans de l'eau froide).

Diluer 20 fois cette solution pour la mesure spectrophotométrique.

bécher 2: verser 5 cm³ de la solution étalon d'alcool 1 o/oo,
(1 ‰) 1 cm³ de la solution de bichromate de potassium,
8,5 cm³ d'acide sulfurique

Agiter le mélange et procéder comme pour la solution du bécher 1.

bécher 3: verser 5 cm³ du distillat à déterminer,
(x ‰) puis le nombre de cm³ de la solution de bichromate de potassium trouvé lors de l'essai préliminaire. Arrondir à 1 cm³ si le volume est compris entre 0 et 1 cm³; arrondir à 2 cm³ si le volume est compris entre 1 et 2 cm³; arrondir à 3 cm³ si le volume est compris entre 2 et 3 cm³.

8,5 cm³ d'acide sulfurique.

Agiter le mélange et procéder comme pour la solution du bécher 1.

Formule: identique à celle appliquée pour l'analyse faite en milieu nitro-chromique (voir page 144).

Résumé

Une méthode spectrophotométrique du dosage de l'alcool du sang a été établie. Elle consiste à oxyder l'alcool par un mélange nitro-chromique (ou sulfo-chromique) après avoir distillé le sang et à déterminer l'excès de bichromate au spectrophotomètre dans l'ultra-violet proche (366 m μ). Pour diminuer les causes d'erreurs, dues à l'appareillage ou aux solutions titrées, il n'a pas été fait usage de courbes d'étalonnage. On procède par comparaison avec une solution étalon d'alcool.

L'erreur maximum due à la mesure spectrophotométrique est de $\pm 1,5\%$ pour une concentration en alcool supérieure à 0,7 ‰. Au voisinage de 1 ‰, elle est de $\pm 1\%$.

L'erreur maximum de l'ensemble des opérations, si l'on ne prend pas de précautions spéciales, est de $\pm 5\%$. En général, on ne dépasse pas $\pm 3\%$.

Zusammenfassung

Es wird eine spektrophotometrische Methode zur Alkoholbestimmung in Blut beschrieben: Nach Destillation des Alkohols aus dem Blut wird dieser mit Chrom-Salpetersäure (oder Chrom-Schwefelsäure) oxydiert und der Bichromatüberschuss im Spektrophotometer bei UV-Licht von 366 m μ gemessen. Zur Vermeidung von Fehlermöglichkeiten wird auf die Verwendung einer Eichkurve verzichtet und direkt mit einer Alkoholstandardlösung verglichen.

Der grösste bei der spektrophotometrischen Messung festgestellte Fehler beträgt $\pm 1,5\%$ bei einer Alkoholkonzentration über 0,7 ‰. Bei 1 ‰ beträgt der Fehler $\pm 1\%$. Der maximale Gesamtfehler der Methode, bei Vernachlässigung spezieller Vorsichtsmassnahmen, beläuft sich auf $\pm 5\%$, überschreitet im allgemeinen aber $\pm 3\%$ nicht.

Summary

A spectrophotometric method is described for the determination of alcohol in blood. The alcohol is steam-distilled, oxidized with a nitric acid-chromic acid or sulfuric acid-chromic acid mixture and the excess of bichromate is determined spectrophotometrically in the near ultra-violet (366 m μ). No standard curves are used but a comparison is made with a standard solution of alcohol.

The maximum error of the spectrophotometric determination is equal to $\pm 1,5\%$ for an alcohol content higher than 0,7 ‰ and of $\pm 1\%$ for about 1 ‰ of alcohol.

The maximum error of the whole determination is equal to $\pm 5\%$ and is usually of $\pm 3\%$.

Bibliographie:

- 1) P. E. Wenger, D. Monnier et W. F. Rüedi, ces Travaux **45**, 6 (1954).
- 2) D. Monnier et W. F. Rüedi, Helvetica Chimica Acta **38** (1955).
- 3) Analytical Chemistry **24**, pages 1905 et 1983 (1952).