

57. De quelques modifications apportées à la méthode de dosage de l'alcool dans le sang selon *Widmark*

par R. Martin du Pan.

(6 II 43)

Introduction.

Depuis plusieurs années, le problème du dosage de l'alcool a fait l'objet de nombreuses recherches. Il a été pratiqué dans l'urine¹⁾²⁾³⁾⁴⁾, la salive⁵⁾, l'haleine⁶⁾, le liquide céphalo-rachidien⁷⁾, le sang et les tissus⁸⁾. Les premiers travaux datent déjà de 200 ans, mais il a fallu les expériences de *Nicloux* (1896)²⁾ pour que la médecine légale possède une méthode digne de confiance⁹⁾. Plus tard, des expérimentateurs ont mis au point d'autres macrométhodes: titrage¹⁰⁾¹¹⁾¹²⁾¹³⁾, interférométrie¹⁴⁾ ou colorimétrie¹⁵⁾³⁾ — ou des microméthodes¹⁶⁾¹⁷⁾.

Le dosage le plus employé actuellement par les différents instituts de médecine légale⁸⁾¹⁸⁾¹⁹⁾²⁰⁾²¹⁾²²⁾ est certainement celui décrit par *Widmark* (1922)¹⁷⁾. Son avantage sur les autres réside dans sa simplicité, sa précision et dans le fait qu'il ne demande qu'une très faible quantité de sang — 1 cm³ au plus.

1) *Eskelund, V.*, Nord. med. Tidskr. **1934**, 1031.

2) *Nicloux, M.*, Ann. méd. lég. **16**, 113 (1896).

3) *Sheftel, A. G.*, J. Lab. Clin. Med. **23**, 534 (1938).

4) *Wechsler, Z.*, Psychiatr. neur. Wschr. **1934**, 175.

5) *Fabre, R. et Kahane, E.*, Ann. méd. lég. **17**, 109 (1937).

6) *Liljestrang, G. et Linde, P.*, Skand. Arch. Physiol. **60**, 273 (1930).

7) *Gabriel, E. et Novotny, S.*, Arch. Psychiatr. **108**, 279 (1938).

8) *Elbel, H.*, Deut. Z. ges. ger. Med. **30**, 218 (1938).

9) *Naville, F.*, Rev. méd. Suisse Romande **48**, 725 (1928).

10) *Astruc et Radet*, Ann. fals. fraud. **1925**, 196.

11) *Friedemann et Klaus, J.* Biol. Chem. **115**, 16 (1936).

12) *Martini et Nourrisson*, Ann. fals. fraud. **1925**, 196.

13) *Vielledent*, Ann. méd. lég. **6**, 215 (1926).

14) *Kionka et Hirsch*, Arch. exptl. Path. Pharmacol. **103**, 282 (1934).

15) *Abels, J. G.*, Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. **34**, 346 (1936).

16) *Harger, R. N.*, J. Lab. Clin. Med. **20**, 746 (1935).

17) *Widmark, T.*, Bioch. Z. **131**, 473 (1922); Die theoretischen Grundlagen und praktische Verwendbarkeit der gerichtsmedizinischen Alkoholbestimmungen, *Urban & Schwarzenberg*, Berlin 1932.

18) *Hofmann, K.*, Alkoholnachweis bei Verkehrsunfällen. Verl. *Urban & Schwarzenberg*, 1937.

19) *Jungmichel, G.*, Alkoholbestimmung im Blut. Methodik und forensische Bedeutung, *Carl Heymann*, Berlin 1933.

20) *Kionka, H.*, Pharmacol. Beitr. z. Alkoholfrage, hrsg. v. *H. Kionka*, H. 8, Jena 1938.

21) *Kriebs, R.*, Wiss. Veröff. z. Alkoholfrage, H. 7, Berlin-Dahlem 1934.

22) *Schwarz, F.*, Deut. Z. ges. ger. Med. **10**, 377 (1927); **28** (1937).

Ce dosage est basé sur la réduction d'une solution connue de dichromate de potassium par l'alcool contenu dans le sang et sur le titrage du dichromate restant au moyen de l'iodométrie.

Méthode de Widmark.

L'auteur emploie les solutions suivantes:

- 1) une solution à 2,5‰ de dichromate de potassium dans de l'acide sulfurique concentré;
- 2) une solution d'iodure de potassium à 5%;
- 3) une solution de thiosulfate de sodium;
- 4) une solution d'amidon.

Dosage.

Verser exactement 1 cm³ de la solution de dichromate de potassium dans des erlenmeyers confectionnés spécialement. Peser ensuite à la balance à torsion un petit capillaire en S enduit à l'intérieur de paraffine et contenant environ 0,1 gr. de sang. Ce sang est soufflé dans une petite cupule qui est fixée au bouchon de l'erlenmeyer. Le capillaire est alors repesé, ce qui permet de déduire le poids de sang. Les erlenmeyers soigneusement fermés sont placés dans un bain-marie à 60° pendant 2 heures, puis brusquement refroidis. Ajouter 25 cm³ d'eau distillée dans chaque erlenmeyer, 1 cm³ de la solution d'iodure de potassium, quelques gouttes de la solution d'amidon et titrer l'iode déplacé par le dichromate au moyen de thiosulfate de sodium.

On a employé par exemple:

pour la prise à blanc	4,20 cm ³ de thiosulfate de sodium
pour la prise avec alcool . . .	2,26 cm ³
	1,94 cm ³

Or, 1 cm³ de la solution de thiosulfate de sodium correspond à 113 γ d'alcool¹⁾, donc 1,94 cm³ \times 113 = 219,22 γ . Mais le poids de sang était de 117 mgr.; d'où 219,22/117 = 1,87 gr.‰ d'alcool dans le sang.

Modifications apportées à la méthode de Widmark.

En vue d'obtenir plus de précision ou plus de commodité, plusieurs auteurs ont apporté des modifications à la méthode de *Widmark*. *Koller*²⁾ et *Buhtz*³⁾ conseillent le sublimé à 1‰ comme désinfectant.

*Buhtz*³⁾ préfère pour la prise de sang la veinule qui oblige à une prise de sang i. v. mais qui permet de faire plusieurs dosages avec la même prise.

¹⁾ *Mayer, R. M.*, Deut. Z. ges. ger. Med. **26**, 244 (1935).

²⁾ *Koller, J.*, Deut. Z. ges. ger. Med. **19**, 513 (1932); **21**, 269 (1933); Münch. Med. Wschr. **1**, 541 (1935).

³⁾ *Buhtz, G.*, Der Verkehrsunfall. *Ferdinand Enke*, Verlag Stuttgart 1938.

Craignant une particulière sensibilité thermique de la solution de dichromate et une transformation du sang pendant la distillation de l'alcool, *Grafe* et *Flake*¹⁾ conseillent de la pratiquer entre 50 et 60°. En revanche, *Meier* et *Wyler*²⁾ distillent entre 58 et 62° et démontrent qu'à cette température l'alcool s'oxyde complètement en acide acétique et que le sang ne subit pas de transformations qui amènent des erreurs de dosage.

Craignant une modification du taux du dichromate à la lumière, *Grafe* et *Flake*¹⁾ conservent la solution à l'obscurité et distillent l'alcool dans une chambre noire. De leur côté, *Meier* et *Wyler*²⁾ montrent que le pouvoir oxydant de la solution au dichromate diminue de 15 % si on la laisse à la lumière du jour pendant 15 heures. Ils en concluent qu'il faut opérer la distillation à l'obscurité. En revanche, *Koller*³⁾ prouve qu'il n'est pas du tout nécessaire d'employer une chambre noire pour distiller, mais qu'il suffit de ne pas avoir une lumière trop vive.

*Ljunggren*⁴⁾ conseille une burette spéciale pour mesurer exactement le dichromate; *Meier*⁵⁾ en propose une plus simple et démontre ses avantages pour obtenir une grande précision.

Notre méthode.

Nous trouvant devant des difficultés d'ordre économique et pratique, nous avons cherché à rendre moins coûteux et plus simple l'appareillage employé pour le dosage de l'alcool selon *Widmark*.

Nous avons d'abord remplacé les petits capillaires en forme d'S et la balance à torsion par des pipettes à glycémie (méthode *Hagedorn-Jensen*)⁶⁾ contenant 0,1 cm³. Ponctionnant l'extrémité du doigt au moyen d'une lancette, nous récoltons environ 1 cm³ de sang dans un tube contenant du fluorure de sodium pour empêcher la coagulation. Nous avons ainsi une quantité de sang suffisante pour plusieurs dosages. Nous pipetons ensuite 0,1 cm³ et vidons la pipette dans la cupule fixée au bouchon de l'ermeneyer. Comme il reste toujours un peu de sang contre les parois de la pipette, nous aspirons un peu d'eau distillée et vidons ce liquide de rinçage dans la cupule. La densité du sang étant de 1,05 en moyenne, nous divisons le poids d'alcool trouvé dans 1 cm³ de sang par 1,050, ce qui nous donne le taux d'alcool par gr. de sang⁷⁾.

¹⁾ *Graf, O. et Flake, E.*, *Arbeitsphysiol.* **6**, 141 (1932).

²⁾ *Meier, C. A. et Wyler, O.*, *Arbeitsphysiol.* **7**, 528 (1934).

³⁾ *Koller, J.* *Deut. Z. ges. ger. Med.* **19**, 513 (1932); **21**, 269 (1933); *Münch. Med. Wschr.* **1**, 541 (1935).

⁴⁾ *Ljunggren, Z. anal. Ch.* **94**, 240 (1933).

⁵⁾ *Meier, C. A.*, et *Wyler, O.*, *Arbeitsphysiol.* **7**, 528 (1934).

⁶⁾ *Hagedorn et Jensen, Bioch. Z.* **135**, 46 (1923).

⁷⁾ *Hallmann, Klinische Chemie und Mikroskopie*, Verl. *Georg Thieme* 1941.

En outre, nous avons remplacé la pipette spéciale servant à mesurer le dichromate par une simple pipette de 1 cm³. Nous avons pratiqué avec cette dernière plus de 20 dosages sur la même solution et avons toujours trouvé la même valeur. Remarquons que nous n'employons pas une solution de dichromate de potassium dans de l'acide sulfurique concentré mais dans de l'acide sulfurique à 25 %, de sorte que le liquide est beaucoup plus fluide. Nous avons en effet remarqué qu'une solution de dichromate dans l'acide sulfurique à 25 %, telle qu'on l'emploie généralement en chimie, est beaucoup plus stable que la solution préconisée par *Widmark*. Nous avons répété trois fois la même opération qui consiste à chauffer au bain-marie pendant 12 heures une solution de dichromate de potassium à 1^o/₀₀ dans de l'acide sulfurique concentré. Avant le chauffage, 1 cm³ de cette solution était réduit par 4,4 cm³ de thiosulfate de sodium; après les 12 heures au bain-marie, 1 cm³ était réduit par 3,8 cm³ de thiosulfate de sodium. Pensant que la cause de cette modification résidait peut-être dans la réduction du dichromate par des impuretés contenues dans les cristaux, nous les avons fondus avant de les dissoudre, mais nous avons obtenu les mêmes modifications que précédemment. Il en est de même si l'on fait bouillir l'acide sulfurique concentré.

En outre, lorsqu'on laisse dans un flacon brun bouché à l'émeri la solution de dichromate qui a été chauffée pendant 12 heures, elle reste stable; mais si on ouvre le récipient pour en utiliser le contenu, la solution se modifie déjà après 3 jours et tend à revenir à la valeur qu'elle avait avant le chauffage, c.-à-d. à augmenter son pouvoir oxydant. On voit d'ici l'inconvénient d'une telle solution, car lors de la distillation au bain-marie, elle se transformera plus ou moins en rendant ainsi les dosages inexacts.

En revanche, nous n'avons jamais remarqué ces modifications avec notre solution de dichromate dans de l'acide sulfurique à 25 %. Une fois notre solution préparée, nous la chauffons au bain-marie pendant 2 heures, ce qui oxyde tout corps pouvant éventuellement la modifier. De cette façon, nous avons toujours eu des valeurs à blanc semblables, ce qui n'était pas le cas avec la solution employée par *Widmark*.

Un point accessoire mais qu'il nous paraît quand même judicieux de noter, est le lavage des flacons. Nous avons toujours employé à cet usage une solution acide de dichromate de potassium puis chauffé pendant 30 minutes au bain-marie les erlenmeyers pleins de cette solution. Nous avons ensuite rincé les erlenmeyers à l'eau distillée et les avons employés immédiatement sans les sécher de peur que, pendant ce temps, il n'y entre de la poussière.

Nous avons pu contrôler la valeur de notre méthode dans les quelques centaines de dosages que nous avons pratiqués.

Nous avons comparé notre méthode avec celle de *Widmark*. Voici deux exemples pratiqués avec de très faibles concentrations d'alcool dans le sang, ce qui rend le dosage plus difficile.

Premier dosage.

1) *Notre méthode*

- A) Prise à blanc décolorée par 4,20 cm³ de thiosulfate
 Prise à titrer décolorée par $\frac{3,10 \text{ cm}^3}{1,10 \text{ cm}^3}$ de thiosulfate
 $1,10 \times 56,5$ (1 cm³ de la solution de thiosulfate correspond à 56,5 γ d'alcool) = 62,15;
 62,15/105 mgr. (poids de 0,1 cm³ de sang) = **0,59** gr. ‰ d'alcool.
- B) Prise à blanc décolorée par 4,20 cm³ de thiosulfate
 Prise à titrer décolorée par $\frac{3,08 \text{ cm}^3}{1,12 \text{ cm}^3}$ de thiosulfate
 $1,12 \times 56,5 = 63,28$; $63,28/105 = \mathbf{0,60}$ gr. ‰
- C) Prise à blanc décolorée par 4,20 cm³ de thiosulfate
 Prise à titrer décolorée par $\frac{3,12 \text{ cm}^3}{1,08 \text{ cm}^3}$ de thiosulfate
 $1,08 \times 56,5 = 61,02$; $61,02/105 = \mathbf{0,58}$ gr. ‰

2) *Méthode de Widmark*

- A) Prise à blanc décolorée par 4,20 cm³ de thiosulfate
 Prise à titrer décolorée par $\frac{3,20 \text{ cm}^3}{1,00 \text{ cm}^3}$ de thiosulfate
 $1,00 \times 56,5 = 56,5$; $56,5/95$ (mgr. pesés avec la balance à torsion) = **0,59** gr. ‰
- B) Prise à blanc décolorée par 4,20 cm³ de thiosulfate
 Prise à titrer décolorée par $\frac{3,01 \text{ cm}^3}{1,19 \text{ cm}^3}$ de thiosulfate
 $1,19 \times 56,5 = 67,235$; $67,235/120$ (mgr. pesés) = **0,56** gr. ‰

Deuxième dosage.

1) *Notre méthode*

- Prise à blanc décolorée par 4,20 cm³ de thiosulfate
 Prise à titrer décolorée par
- A) 2,78 cm³ de thiosulfate
 B) 2,78 cm³ $\frac{4,20 \text{ cm}^3}{2,78 \text{ cm}^3}$
 C) 2,78 cm³ moyenne = 2,78 $\frac{2,78 \text{ cm}^3}{1,42 \text{ cm}^3}$
 D) 2,81 cm³
 E) 2,78 cm³
 $1,42 \times 56,5 = 80,23$; $80,23/105 = \mathbf{0,76}$ gr. ‰

2) *Méthode de Widmark*

- A) Prise à blanc décolorée par 4,20 cm³ de thiosulfate
 Prise à titrer décolorée par $\frac{2,72 \text{ cm}^3}{1,48 \text{ cm}^3}$ de thiosulfate
 $1,48 \times 56,5 = 83,62$; $83,62/108$ (mgr. pesés) = **0,77** gr. ‰
- B) Prise à blanc décolorée par 4,20 cm³ de thiosulfate
 Prise à titrer décolorée par $\frac{2,70 \text{ cm}^3}{1,50 \text{ cm}^3}$ de thiosulfate
 $1,50 \times 56,5 = 84,75$; $84,75/110$ (mgr. pesés) = **0,77** gr. ‰

CONCLUSION.

1) Nous avons simplifié la méthode de *Widmark* pour le dosage de l'alcool dans le sang en mesurant le sang volumétriquement au lieu de le peser, ce qui évite l'emploi de capillaires paraffinés et celui d'une balance à torsion.

2) Nous avons remplacé la pipette spéciale servant à mesurer exactement 1 cm³ de la solution de dichromate de potassium par une simple pipette de 1 cm³ et sans que le dosage perde de sa précision.

3) Nous avons démontré l'instabilité de la solution de dichromate de potassium dans de l'acide sulfurique concentré, et, au contraire, sa stabilité si l'acide sulfurique est dilué à 25 %.

Nous tenons à remercier ici M. le Prof. *Paul Wenger* qui nous a aidé de ses conseils.

Genève, Laboratoire de Chimie analytique et de Microchimie
de l'Université.

58. Über Gallensäuren und verwandte Stoffe.

21. Mitteilung ¹⁾).

3 α -Acetoxy-12-keto-cholen-(9)-säure und 3 α -Oxy-cholen-(9)-säure

von **E. Seebeck** und **T. Reichstein**.

(11. II. 43.)

Im Verlaufe von Untersuchungen in der Gallensäure-Reihe interessierte uns die 3 α -Oxy-cholen-(9)-säure (VII). Die Gewinnung dieses Stoffes und einiger seiner Derivate in reiner Form gelang erst nach Überwindung erheblicher Schwierigkeiten, die denen ähnlich sind, die bei Versuchen zur Herstellung der Cholen-(9)-säure angetroffen wurden¹⁾. Das grösste Hindernis für die Bereitung und Untersuchung der genannten Säure (VII) ist, wie hier vorgreifend bemerkt sei, die Tatsache, dass sie sowohl mit der isomeren 3 α -Oxy-cholen-(11)-säure (entspr. Formel (XX)), wie mit der gesättigten Lithocholsäure (XI) isomorph zu sein scheint, wenigstens geben diese drei Säuren bei den Mischproben keine Schmelzpunktserniedrigungen, und auch die acetylierten Säuren, sowie die Methylester²⁾ liefern bei der Mischprobe keine Erniedrigung. In der folgenden Tabelle I sind die Schmelzpunkte und Drehungen dieser Stoffe zusammengestellt.

¹⁾ 20. Mitteilung vgl. *H. B. Alther, T. Reichstein, Helv.* **26**, 492 (1943).

²⁾ Lediglich die Methylester der freien 3 α -Oxy-cholen-(9)-säure und der 3 α -Oxy-cholen-(11)-säure geben bei der Mischprobe eine schwache, aber eindeutige Schmelzpunktserniedrigung.