

102. Le dosage de l'alcool éthylique sanguin : Une modification de la méthode de *Nicloux*

par J. RoCHAT.

(29 IV 46)

Si, à la suite des travaux bien connus de *Nicloux*, la mesure de l'alcoolémie est entrée dans la pratique médico-légale courante depuis près d'une cinquantaine d'années, il est assez piquant de constater que, malgré cet âge respectable, la valeur de la méthode, au point de vue diagnostic de l'ivresse, demeure l'objet de réserves relativement fréquentes, voire même d'un certain scepticisme. Sans vouloir faire preuve d'un pessimisme exagéré, il faut avouer que l'unanimité est loin d'être réalisée, notamment en ce qui concerne l'interprétation des résultats d'analyse; des divergences d'appréciation subsistent, parfois considérables, ainsi que le montrerait, par exemple, pour nous borner à quelques articles récents, la comparaison des données tirées des publications de *Schwarz*¹⁾ d'une part, de *Hausser*²⁾, *Huitric*³⁾, etc., de l'autre. Il résulte de tels désaccords des conséquences faciles à deviner.

«Il arrive encore souvent — ont pu écrire *Schwarz* et *Thélin*⁴⁾ il y a quelques années — que les tribunaux se contentent d'admettre une ivresse légère, soit sans conséquence d'ordre juridique, voire même de la nier, dans des cas où l'analyse chimique du sang ou du cerveau donne des résultats tels que nécessairement on doit médicalement admettre une ébriété prononcée.»

Cet état de choses est dû, sans doute pour une bonne part, à l'imprécision, à l'élasticité des termes ivresse, ébriété — et surtout à l'extrême variabilité de certains facteurs individuels: sensibilité à l'alcool, degré de tolérance ou d'accoutumance éthyliques, etc. Toutefois, il faut également bien prendre garde au degré de précision, parfois très relatif, des techniques de dosage utilisées; à notre avis, cet aspect du problème pourrait ne pas avoir été pris assez au sérieux jusqu'ici. Il est évident que certaines discordances apparemment inexplicables tiennent peut-être à l'emploi de méthodes d'analyses insuffisamment contrôlées et dont toutes les causes d'erreurs n'ont pas été parfaitement maîtrisées. Il n'est pas nécessaire d'insister longuement sur certaines grossières fautes de manipulations, comme par

1) *Schwarz, F.*, «Die quantitative Alkoholbestimmung und ihre Bedeutung für Medizin und Rechtspflege», article tiré de «Alkoholfrage in der Schweiz», publié sous la direction de *Zurukzoglu* (1940).

2) *Hausser, G.*, Presse médicale, avril 1937, p. 522; *Truffert, L.*, et *Hausser, G.*, Presse médicale, nov. 1940, p. 962.

3) *Huitric, M.*, Presse médicale, nov. 1940, p. 908.

4) *Schwarz, F.*, et *Thélin, H.*, Rev. méd. Suisse rom. 60, 293 (1940).

exemple le prélèvement du sang au moyen d'une seringue conservée dans l'alcool ou dans un autre désinfectant volatil (éther, formol, etc.). Notre expérience nous a montré que le cas n'est pas aussi rare qu'on pourrait le penser; il peut bien être à l'origine de certains chiffres particulièrement aberrants, ce qui indique qu'on n'insistera jamais trop, auprès du praticien, sur la nécessité d'une extrême minutie lors du prélèvement sanguin. Cependant d'autres erreurs moins massives pourront être en définitive tout aussi dangereuses, parce que moins facilement repérables. *Schwarz* et *Thélin* signalent, par exemple, que leurs résultats sont de 20 à 25 % plus faibles que ceux obtenus par la méthode de *Widmark*. Nous avons nous-même observé plusieurs cas où deux laboratoires analysant séparément le même sang ont obtenu des chiffres divergeant encore davantage, alors que parfois, circonstance aggravante, les méthodes employées étaient presque semblables. Ces discordances inadmissibles ne peuvent manquer d'éveiller certains doutes quant à la sûreté des techniques utilisées et risqueraient même, si elles devaient se répéter, de les discréditer complètement.

En Suisse, comme en France, c'est l'ancien procédé de *Nicloux* qui est presque exclusivement utilisé, parfois avec de légères modifications — et les remarques précédentes le concernent donc au premier chef. Avant toute autre considération, on peut bien se demander s'il mérite la faveur unanime dont il a été et est encore l'objet. Nous admettons volontiers qu'en mains expertes il peut donner des résultats satisfaisants — pour preuve, s'il en fallait une, on pourrait citer les travaux de l'Institut de médecine légale de Zurich, grâce auxquels le problème de la preuve chimique de l'ivresse commence, en Suisse, à être situé sur une base expérimentale solide¹). Il n'en reste pas moins que la précision de la méthode n'est pas très grande; brièvement résumées, ses principales causes d'erreur sont les suivantes:

a) tout d'abord, il y a lieu de mentionner — ce qui va sans dire — la difficulté d'apprécier au terme de la réaction un changement de teinte très discret, ainsi que la variabilité de la sensibilité visuelle selon l'observateur, la nature de la lumière, le degré de fatigue, etc.;

b) le mode opératoire habituel est accompagné de pertes d'alcool. La solution à titrer, additionnée d'acide sulfurique, est portée au voisinage de l'ébullition, puis on laisse couler le réactif jusqu'à virage. La proportion d'alcool qui s'échappe par évaporation, comme tel ou après oxydation en aldéhyde acétique, dépendra de la durée du titrage, de la surface du liquide, de sa température, etc. D'après nos essais, elle varie généralement entre 5 et 15 %;

c) l'acide sulfurique, même le plus pur, contient en général des traces de matières organiques pouvant contribuer à la réduction du

¹) *Schwarz, F.*, loc. cit.

réactif. A ce point de vue, la méthode ordinaire ne permet pas le contrôle précis de l'acide, ni la détermination de la correction, parfois importante, qu'il est nécessaire d'effectuer. On peut faire la même remarque à propos de l'acide picrique, employé généralement pour empêcher la formation de mousse au cours de la distillation, en notant que les impuretés de l'acide picrique peuvent donner lieu à des erreurs encore beaucoup plus considérables;

d) les expérimentateurs n'ont pas encore réussi à se mettre d'accord en ce qui concerne le calcul des équivalences entre l'alcool et le réactif bichromique: 1 cm³ d'alcool absolu correspond pour les uns, l'auteur de la méthode en tête, à 3,80 gr. K₂Cr₂O₇ (facteur établi empiriquement), pour les autres (par exemple *Schwarz* et ses collaborateurs¹⁾) à 3,39 gr. K₂Cr₂O₇, chiffre calculé conformément à l'équation théorique:



L'écart résultant de cette seule incertitude dépasse déjà 10 %²⁾.

Ce qui précède nous conduit à penser que la marge d'erreur de 5 %, habituellement admise, ne doit pas souvent être respectée, même par des opérateurs entraînés. Il est évidemment délicat d'émettre des doutes à l'égard d'une méthode si fréquemment utilisée, pourtant la nécessité d'une mise au point nous semble difficile à contester.

En 1931, *Nicloux*³⁾ a proposé une nouvelle technique beaucoup plus exacte, destinée aux recherches scientifiques de haute précision, tout en continuant de penser, contrairement à ce qui précède, que l'ancienne méthode méritait d'être conservée pour les recherches médico-légales courantes. On ne peut manquer de reconnaître la valeur du nouveau procédé; il nous a paru, toutefois, comme à d'autres sans doute, un peu compliqué pour l'usage ordinaire. C'est ainsi que nous avons été amené à reprendre l'étude de la question. Après quelques tâtonnements, nous nous sommes arrêté au mode opératoire indiqué ci-après et appliqué depuis plus de 10 ans, dans notre Institut, à des centaines d'analyses.

Les modifications apportées à la technique primitive, d'ailleurs légères et ne lui enlevant pas son caractère de simplicité, ont porté sur deux points principaux: 1^o Le bichromate est ajouté en léger excès à la solution à titrer. On mesure cet excès à l'aide d'un titrage en retour. Il s'agit là d'une opération volumétrique élémentaire et l'on peut s'étonner qu'elle n'ait pas été d'emblée pratiquée partout. 2^o L'erreur mentionnée sous b) est plus difficile à éviter. *Nicloux*,

¹⁾ *Schwarz, F.*, Dtsch. Z. ger. Med. **10**, 377 (1927).

²⁾ Si l'on ne veut pas s'exposer à des sources de confusion supplémentaire, il faut bien prendre garde à l'unité choisie pour exprimer les résultats: c'est en général le cm³ d'alcool absolu par kg. de sang; plus rarement le gr.‰.

³⁾ *Nicloux, M.*, Bl. Soc. Chim. biol. **13**, 857 (1931).

et plus récemment *Rapin*¹⁾, effectuent la réaction en tube fermé. Plus simplement, nous avons observé qu'en présence d'un léger excès de réactif, l'addition d'un volume suffisant d'acide sulfurique concentré provoque une élévation de température telle que la réaction est presque instantanée; dans ces conditions, les pertes d'alcool ou d'aldéhyde sont négligeables.

Description de la technique proposée.

Solutions titrées et réactifs:

1. $K_2Cr_2O_7$ 8,475 gr./l.

La concentration de cette solution a été choisie de façon que 1 cm³ corresponde exactement, d'après l'équation d'oxydation théorique, à 5 cm³ d'alcool à 0,5 vol. $\frac{0}{100}$.

2. $KMnO_4$ 0,1 N.

3. Sel de *Mohr* environ 0.02 N (dissoudre 7,8 gr. de sel dans un litre d'eau distillée additionnée de 20 cm³ H_2SO_4 conc.). Cette solution n'a pas besoin d'être très exacte.

4. Acide sulfurique concentré, pur, bouilli.

5. Solution saturée et filtrée d'acide picrique. L'acide picrique du commerce n'est fréquemment pas assez pur et sera recristallisé. Il suffira, parfois, de le sécher à 100°.

Mode opératoire.

Un poids connu de sang, 5 à 15 gr. — il s'agit, bien entendu, de sang frais; le cas du sang putréfié a été étudié par *Nicloux*²⁾ — est introduit dans un ballon Iéna de 300 cm³, à fond rond et col allongé. On l'additionne de 6,5 fois son volume de solution picrique saturée. Le caillot, s'il y en a un, est auparavant dilacéré dans un petit bécher, à l'aide de ciseaux, et transvasé quantitativement dans le ballon. Vérifier à l'odeur l'absence d'éther (ou d'autres solvants organiques). Boucher (caoutchouc) et mélanger soigneusement le contenu, que l'on laissera au repos quelques heures ou une nuit.

Distillation: l'appareil que nous utilisons est celui de *Schloesing-Aubin*, avec réfrigérant en étain, tel qu'il est décrit par *Nicloux* (³), p. 874). Le réfrigérant se termine par un tube de verre dont l'extrémité effilée plonge dans quelques cm³ d'eau, au fond d'un cylindre gradué de 50 cm³, se bouchant à l'émeri. La distillation s'effectue à la pression ordinaire. (Nous ne sommes pas sûr que les distillations sous pression réduite ne soient fréquemment accompagnées de pertes d'alcool, surtout lorsque l'extrémité du réfrigérant ne plonge pas dans le liquide.) Tout l'alcool est pratiquement contenu dans le premier quart du distillat, mais, pour plus de sûreté, on en distillera les 2/5. Boucher, agiter. Noter le volume.

Titrage.

On commencera par établir les correspondances volumétriques des solutions titrées en procédant comme suit: 1° Pipeter 5 cm³ de sel de *Mohr*, ajouter 40 à 50 cm³ d'eau, quelques gouttes d' H_2SO_4 conc., puis laisser couler $KMnO_4$ 0,1 N, d'une microburette de 1 cm³ divisée en centièmes, jusqu'à début de virage rose. Appelons a le volume utilisé, exprimé en cm³. 2° Dans un nouvel essai, pipeter 5 cm³ de sel de *Mohr*, ajouter 0,50 cm³ de $K_2Cr_2O_7$ (microburette), mélanger, diluer, comme précédemment, avec de l'eau et quelques gouttes d'acide sulfurique, titrer l'excès de sel de *Mohr* au $KMnO_4$ 0,1 N; soit b le volume utilisé.

Chacune de ces opérations sera effectuée, cela va de soi, au moins deux fois et l'on prendra les moyennes.

On voit immédiatement que 0,50 cm³ $K_2Cr_2O_7$ équivaut oxydimétriquement à a - b cm³ de $KMnO_4$ 0,1 N. Réciproquement, 1 cm³ $KMnO_4$ 0,1 N correspondra donc à

$$\frac{1}{2(a-b)} \text{ cm}^3 K_2Cr_2O_7 \quad (I)$$

¹⁾ *Rapin*, A., *Helv.* **22**, 72 (1939).

²⁾ *Nicloux*, M., *Bull. Soc. Chim. biol.* **18**, 318 (1936).

³⁾ *Nicloux*, M., *Bull. Soc. Chim. biol.* **13**, 857 (1931).

Notons que ces deux solutions, contenues dans des flacons bruns et bouchés à l'émeri, sont d'une conservation pratiquement illimitée. Par conséquent, la différence $a - b$ est une constante ne dépendant que de l'exactitude des solutions et burettes utilisés et qu'il suffira de contrôler une fois pour toutes. Sa valeur théorique est 0,864. La solution de sel de *Mohr*, par contre, peut diminuer légèrement de titre: le volume a doit donc être vérifié avant chaque nouvelle série de mesures.

Titrage proprement dit. — Un premier essai d'orientation est conduit de la façon suivante: on pipette 5 cm³ de distillat dans un bécher de 150 cm³, ajoute 6 à 7 cm³ H₂SO₄ conc., mesuré dans un cylindre gradué, on mélange et laisse couler rapidement K₂Cr₂O₇ de la microburette jusqu'à coloration distinctement jaunâtre. On détermine ainsi, grossièrement, un volume de K₂Cr₂O₇ nettement supérieur à celui qui est réellement nécessaire à l'oxydation de l'alcool.

Dans une nouvelle opération, précise cette fois, on procédera, comme nous y avons déjà fait allusion, dans un ordre d'addition inverse afin d'éviter toute perte d'alcool. A 5 cm³ de distillat, ajouter le volume de K₂Cr₂O₇ tel qu'il vient d'être évalué, puis 6 à 8 cm³ de H₂SO₄ conc. Le volume de l'acide doit être approximativement égal au volume total, distillat + K₂Cr₂O₇, augmenté de 1,5 cm³. Il faut le laisser couler le long des parois du bécher, tenu légèrement incliné; le mélange doit s'effectuer *d'un coup*; on réalise cette condition importante en imprimant au liquide un brusque mouvement de rotation; parachever le brassage à l'aide d'une baguette de verre. Attendre 25 ou 30 secondes à partir de l'instant où s'est effectué le mélange, diluer avec environ 50 cm³ d'eau¹⁾, et pipeter 5 cm³ de sel de *Mohr* pour réduire l'excès de K₂Cr₂O₇. La teinte du liquide doit devenir vert-bleue sinon il faudrait ajouter une seconde fois 5 cm³ de sel de *Mohr*. Titrer en retour au KMnO₄ 0,1 N (aux fortes concentrations en Cr⁺⁺⁺, jusqu'à teinte verte très légèrement teintée de pourpre).

Calculs et corrections.

Soient c et d les volumes de K₂Cr₂O₇ et KMnO₄ respectivement employés. Dans le cas où l'on a ajouté 5 cm³ de sel de *Mohr*, le volume de K₂Cr₂O₇ en excès, c'est-à-dire n'ayant pas pris part à l'oxydation de l'alcool, correspond à $a - d$ cm³ KMnO₄ 0,1 N. D'après la formule (I), cet excès vaut $a - d/2$ ($a - b$) cm³ K₂Cr₂O₇ et le volume de K₂Cr₂O₇ réellement utilisé, u , sera donc donné par la relation

$$u = c - \frac{a - d}{2(a - b)} \quad (\text{II})$$

Si l'on avait ajouté 10 cm³ de sel de *Mohr*, l'expression deviendrait:

$$u = c - \frac{2a - d}{2(a - b)} \quad (\text{III})$$

L'opération précédente — qui, avec un peu d'entraînement, ne prend, calcul compris, que quelques minutes — sera effectuée à double ou à triple, en faisant varier, si l'on veut, le volume initial de K₂Cr₂O₇ de façon, toutefois, que ce réactif reste en excès modéré: 0,20 à 0,50 cm³ par exemple. Du reste, un excès de quelques centièmes suffit à assurer l'oxydation complète. Finalement on prendra la moyenne des valeurs ainsi déterminées, qui doivent d'ailleurs concorder à quelques % près.

Le reste du distillat sera utilisé pour les réactions qualitatives de contrôle, aldéhydes, acétone, etc.

Le chiffre ainsi obtenu mesure le volume de K₂Cr₂O₇ réduit non seulement par l'alcool, mais encore par les impuretés des acides sulfurique et picrique. La correction correspondante, rarement négligeable même avec des réactifs purifiés, se déterminera le plus simplement par un essai à blanc dans lequel on distillera le même volume d'acide picrique que celui qui a été utilisé pour le sang. Recueillir un volume identique à celui du distillat sanguin et procéder au titrage comme il vient d'être indiqué; on trouvera

¹⁾ Dans toutes ces opérations: dilutions, lavages, essais à blanc, l'eau de robinet peut remplacer avantageusement, du moins à Lausanne, l'eau distillée.

ainsi le volume r de $K_2Cr_2O_7$ réduit par les substances étrangères des acides; $u-r$ correspondra donc au volume réellement consommé par l'alcool contenu dans 5 cm^3 de distillat, et la concentration x dans le sang, exprimée en cm^3 alcool absolu par kg. , sera donnée par l'expression

$$x = \frac{u-r}{2} \frac{V}{P} F \quad (\text{IV})$$

où P désigne le poids du sang (en gr.); V le volume du distillat (en cm^3) et F un facteur empirique de correction qui tient compte de légères pertes au cours de la distillation ainsi que du fait que, dans les conditions où nous opérons, l'équation d'oxydation classique ne s'applique pas absolument rigoureusement. Nos expériences, comme nous le verrons tout à l'heure, nous ont conduit aux valeurs de F suivantes:

solutions aqueuses pures	0,97
sangs fluorés	0,98
sangs coagulés	0,99

La reproductibilité du dosage peut être évaluée en solution diluée à $\pm 0,01\text{ cm}^3$ $K_2Cr_2O_7$ ce qui correspond dans le sang à environ $\pm 0,02^{0/00}$; elle sera un peu moins bonne en solution concentrée. Les volumes de $K_2Cr_2O_7$ sont calculés au $1/500$ de cm^3 près; cette exigence est rendue possible, d'une part grâce au fait, bien mis en évidence par *Nieloux*, que la solution de bichromate ne mouille pas le verre et peut dès lors être mesurée avec une précision parfaite, d'autre part en raison de la très grande sensibilité du titrage permanganique, un écart de $0,005$ à $0,01\text{ cm}^3$ restant nettement perceptible à un œil exercé. Quant à la précision effectivement réalisée, elle ressortira des chiffres indiqués plus loin; pour n'être pas illusoire, il va sans dire qu'elle nécessite les précautions habituelles concernant le calibrage des pipettes et microburettes, une propreté méticuleuse de la verrerie et de l'appareil à distillation (que nous lavons en distillant de l'eau avant chaque opération) et, en particulier, une vérification minutieuse du titre de la solution de $K_2Cr_2O_7$ (nous la contrôlons iodométriquement par comparaison avec une solution de $KMnO_4$, elle-même titrée exactement à l'oxalate de sodium).

En ce qui concerne le calcul de la valeur r mentionnée précédemment, il sera avantageux, si l'on effectue des mesures en série, de calculer séparément, une fois pour toutes, les corrections correspondant aux deux acides. Le volume s de $K_2Cr_2O_7$ réduit par H_2SO_4 se mesurera immédiatement dans quelques titrages à blanc en remplaçant le distillat par un égal volume d'eau. On déterminera, d'autre part, le taux t des matières réductrices volatiles de la solution picrique en distillant un volume connu, que l'on titrera à la façon ordinaire, en tenant compte de la réduction s due à l'acide sulfurique. Connaissant s et t , un calcul simple montre que r est donné par la relation

$$r = s + \frac{2t \cdot V'}{V}$$

où V est le volume du distillat sanguin, V' le volume d'acide picrique ajouté au sang.

s et t sont des grandeurs pratiquement constantes pour des échantillons conservés dans des flacons bruns, rodés et, dans le cas de l'acide picrique, en solution filtrée; s , pour un acide de pureté satisfaisante, est compris entre $0,01$ et $0,03$; si tel n'est pas le cas, on obtiendra, en général, un résultat suffisant en chauffant l'acide à l'ébullition, ainsi que le recommande *Nieloux*. Si l'on conserve la solution picrique en présence d'un excès de substance solide pour en assurer la saturation, ainsi que nous procédions au début, on s'expose à de très graves erreurs. La concentration des matières réductrices augmente en fonction du temps, avec une rapidité qui dépend de la quantité de l'acide picrique en excès et qui est souvent déconcertante. Voici, à titre d'exemple, quelques séries de mesures effectuées à ce propos:

Séries I et II: solutions saturées d'acide picrique en présence d'un dépôt abondant de substance solide, occupant 25—50% du volume total. Température du laboratoire.

I.

temps (en jours)	1	2	7	16	43	53
matières réductrices volatiles . (exprimées en cm ³ alcool ‰)	0,017	0,022	0,023	0,035	0,060	0,080

II.

temps (en jours)	0	30	70
matières réductrices	0,017	0,187	0,34

L'augmentation est plus rapide dans la série II parce que le dépôt est beaucoup plus volumineux. Pour évaluer l'erreur correspondante dans une analyse de sang, il faut noter que ces chiffres doivent être multipliés par 6,5, puisqu'on emploie 6,5 vol. d'acide picrique pour 1 vol. de sang.

Séries III—IV: solutions saturées filtrées.

III.

temps (en jours)	0	60	230	360
matières réductrices	0,002	0,005	0,007	0,0095

IV.

temps (en jours)	0	45	80	180
matières réductrices	0,003	0,006	0,007	0,007

L'augmentation des matières réductrices, on le voit, est négligeable en milieu picrique filtré. Un très léger dépôt est d'ailleurs, pratiquement, sans répercussion.

Expériences de contrôle.

Nous sommes parti de différents échantillons d'alcool absolu, vérifiés exactement au point de vue densité. Par des opérations de dilution appropriées, nous avons ensuite préparé, à partir de solutions-bases de titre intermédiaire, les concentrations bien déterminées dont nous avons besoin. Les séries d'essais suivantes ont été entreprises: a) titrages directs, sans distillation, de l'alcool en solution aqueuse pure; b) titrages après distillation; c) analyses de sangs d'individus strictement à jeun d'alcool; d) analyses des mêmes sangs additionnés, «in vitro», de quantités d'alcool connues.

Nos résultats, en résumé, sont les suivants:

A. Titrage direct de solutions aqueuses diluées d'alcool.

Les concentrations étudiées, correspondant à celles que l'on rencontre habituellement dans un distillat sanguin, ont été comprises entre 0,10 et 1,00‰.

Effectué 32 mesures, chacune étant la moyenne de deux ou trois dosages. Si, dans la formule (IV), nous fixons provisoirement $F = 1$, nos chiffres sont en moyenne trop forts de 3,3%. En faisant intervenir une correction de cette valeur, nous reproduisons les chiffres théoriques avec une erreur moyenne de 1,15%. La répartition des erreurs est la suivante:

Nombre de mesures	Erreur relative (en %)
15	0—1,0
14	1,0—2,0
2	2,0—3,0
1	3,0—4,0

Le fait que les chiffres, en solution aqueuse pure, sont trop élevés d'environ 3% ne doit pas surprendre. En effet, comme l'a montré *Nieloux*, l'alcool en milieu sulfochromique n'est oxydé quantitativement en acide acétique que dans des conditions d'acidité et de température strictement définies. En cas d'acidité et de température insuffisantes, il y aura oxydation incomplète accompagnée de pertes d'aldéhyde acétique, dans le cas contraire, le stade acétique pourra être partiellement dépassé avec formation d' H_2O et CO_2 . Dans sa nouvelle méthode, *Nieloux* se place nettement dans les conditions d'oxydation incomplète, d'où la nécessité, pour assurer néanmoins l'exactitude des résultats, de prolonger la durée du temps de réaction et d'opérer en vase clos. Si l'on renonce à ce dispositif, l'erreur correspondant à une perte d'aldéhyde acétique ne pourra être éliminée qu'à la condition de travailler en milieu sulfurique relativement concentré, ce qui peut donner lieu à des oxydations trop poussées, d'ailleurs sans conséquences fâcheuses si ce n'est l'obligation de se servir d'un facteur de correction¹⁾, l'essentiel étant d'opérer dans de bonnes conditions de reproductibilité. L'expérience suivante montre qu'à partir d'une certaine concentration d'acide sulfurique les chiffres tendent à devenir pratiquement constants:

A 5 cm³ d'alcool à 0,403 $\frac{\circ}{100}$ on ajoute 1,25 cm³ $K_2Cr_2O_7$ et des volumes croissants d' H_2SO_4 conc. On obtient les titres suivants, en tenant compte naturellement de l'effet des impuretés de l'acide, qui augmente avec la concentration.

vol. H_2SO_4 conc. (cm ³) . . .	4,5	6	7	8	9	12	16
titre alcool mesuré	0,384	0,410	0,415	0,419	0,420	0,423	0,420

B. Contrôle de distillation.

Nous avons distillé 10 cm³ de solution titrée, en présence de 65 cm³ de solution picrique saturée; zone de concentrations étudiées 0,25 à 5,0 vol. $\frac{\circ}{100}$ (au-dessous de 0,6 $\frac{\circ}{100}$, les titrages ont porté sur 10 et non pas 5 cm³ de distillat).

14 expériences nous ont conduit à des résultats trop forts de 2,2% en moyenne²⁾, avec un écart moyen de 1,6%. Les divergences sont donc légèrement plus accentuées que dans la série précédente, notamment en solution très diluée.

C. Analyses de sangs d'individus normaux à jeun d'alcool.

Les prélèvements que nous avons pu examiner, au nombre de 9, ont donné des taux compris entre 0,00 et 0,025 vol. d'alcool $\frac{\circ}{100}$.

D. Sangs additionnés «in vitro» de doses d'alcool déterminées.

Ces additions ont été réalisées de la façon suivante: 8 à 10 cm³ de sang, prélevés à l'aide d'une seringue sèche stérilisée au four, sont introduits dans une éprouvette tarée contenant 1 cm³, très exactement mesuré, de solution alcoolique titrée. L'éprouvette est bouchée, on mélange doucement, pèse, ce qui permet d'établir la concentration en alcool. On laisse ensuite la coagulation s'opérer; le volume de solution ajouté étant relativement petit, ce processus n'est pas troublé. — Une série d'essais identiques a été préparée également en présence d'un anticoagulant (NaF).

Nos additions, au nombre de 43, ont porté sur 8 échantillons sanguins différents, avec des taux d'alcool compris entre 0,5 et 3,5 vol. $\frac{\circ}{100}$. Les résultats ont été en moyenne trop forts de 1,2% (si l'on admet le facteur F, formule IV, égal à 1). Nous avons toutefois constaté une légère différence entre sangs fluorés (17 cas, en moyenne trop forts de 1,9%) et sangs coagulés (26 cas, 0,8% trop forts).

¹⁾ Il ne nous a pas été possible de déceler une réduction de $K_2Cr_2O_7$, en présence d'acide acétique, aux concentrations utilisées dans nos dosages, pas plus d'ailleurs qu'une auto-réduction du réactif sulfochromique. Peut-être qu'une petite fraction de l'alcool est-elle oxydée selon un processus autre que le mécanisme classique?

²⁾ Bien entendu, en supposant $F = 1$.

Si nous multiplions nos chiffres par les facteurs correspondants à nos moyennes¹⁾, soit sensiblement 0,99 pour les sangs coagulés et 0,98 pour les sangs fluorés, nous obtenons les doses théoriques avec un écart moyen de 1,0% et une répartition suivante des erreurs:

Nombre d'additions	Erreur relative %
26	0—1,0
11	1,0—2,0
6	2,0—3,0

Notons encore les points suivants:

1. D'après les essais rapportés en A et B, la perte d'alcool au cours de la distillation est de l'ordre de 1% en solution aqueuse pure. Pour le sang, elle paraît légèrement plus élevée: 1,5—2,5%. La différence, qui ne dépasse d'ailleurs guère la marge d'erreur possible, correspond peut-être à une légère absorption d'alcool par les albumines coagulées en milieu pierique.

2. Répartition de l'alcool entre sérum et caillot.

Nous avons centrifugé 8 échantillons sanguins différents (dont 2 fluorés) et analysé séparément sérums (ou plasmas) et caillots (ou globules). Le rapport

$$\frac{\text{teneur alcool du caillot}}{\text{teneur alcool du sérum}}$$

a été trouvé en moyenne égal à 0,81 (valeurs extrêmes 0,77 et 0,85); ce chiffre représente également sensiblement le quotient des teneurs en eau correspondantes, en accord avec la loi de répartition établie expérimentalement par *Nicloux* et *Gosselin*²⁾: dans les liquides et tissus de l'organisme, lorsque l'équilibre est atteint, il y a *in vitro* rapport constant entre les quantités d'alcool et d'eau.

3. Le phénomène de coagulation n'entraîne pas d'erreur appréciable par absorption d'alcool dans le caillot. La différence moyenne observée entre sang fluoré et sang coagulé est de 1,1%. Toutefois, il faudrait tenir compte, au cours d'une analyse de sang coagulé, du sérum resté adhérent aux parois de l'éprouvette, en quantité non négligeable (environ 0,5 gr.); ce sérum étant de 10 à 12% plus alcoolisé que le sang total, il s'en suivrait une correction ramenant l'écart entre sang fluoré et sang coagulé à environ 0,5%, chiffre de l'ordre des erreurs d'expériences.

Dosage de l'alcool en présence d'acétone.

Parmi les substances assez nombreuses pouvant, dans certaines circonstances, troubler ou fausser le dosage de l'alcool sanguin, le cas de l'acétone³⁾ mérite d'être examiné ici, car notre technique, et c'est l'un de ses grands avantages, permet, en prenant quelques précautions supplémentaires, d'éliminer cette importante cause d'erreur «endogène». Il suffit d'utiliser la propriété que l'acétone est oxydable au réactif sulfochromique, mais

¹⁾ Nous avons considéré comme négligeables les traces de matières réductrices pré-existantes à toute addition d'alcool. En tenir compte reviendrait à utiliser les facteurs de correction 0,995 (sangs coagulés) et 0,985 (sangs fluorés), la répartition des erreurs n'étant guère modifiée (0—1%: 23 cas; 1—2%: 13 cas; 2—3%: 6 cas; 3—4%: 1 cas; ce dernier correspondant à un résultat de 0,604 au lieu de 0,627, donc encore très admissible).

²⁾ *Nicloux, M., et Gosselin, G., Bl. Soc. Chim. biol.* **16**, 338 (1934).

³⁾ La réaction la plus recommandable pour déceler l'acétone, paraît être ici celle de *Lieben* (celle de *Legal* n'est pas assez sensible): on pourra effectuer du même coup la recherche qualitative et le dosage. Il faut se rappeler, toutefois, que cette réaction n'est pas absolument spécifique; les aldéhydes, notamment, donnent également un résultat positif.

beaucoup moins facilement que l'alcool éthylique. Dans ces conditions, en réduisant au strict minimum le temps de réaction ainsi que l'excès de réactif, on arrive, dans une solution diluée d'alcool et d'acétone, à oxyder tout l'alcool alors que l'acétone reste pratiquement inattaquée; un temps de réaction réduit à 15 secondes, avec un excès de 0,02 à 0,03 de $K_2Cr_2O_7$, réalisent les conditions optima: le dosage de l'alcool reste quantitatif alors qu'il n'y a pas d'oxydation sensible d'acétone. En définitive, on procédera comme suit: effectuer un premier titrage de façon ordinaire, on détermine ainsi un volume de $K_2Cr_2O_7$, u , réduit par 5 cm^3 de distillat. Dans une seconde opération ajouter à ce même volume de distillat u cm^3 de $K_2Cr_2O_7$, puis le volume convenable d' H_2SO_4 conc., attendre 15 secondes, diluer avec de l'eau, etc. Le volume u' de $K_2Cr_2O_7$, réduit dans ce nouveau titrage sera plus petit que u (la fraction consommée par l'alcool reste la même, mais celle correspondant à l'acétone diminue). Si la différence $u - u'$ ne dépasse pas 0,03—0,04, on peut considérer le dosage comme terminé, quitte à le vérifier par un nouvel essai identique; dans le cas contraire, renouveler l'opération en ajoutant $u' cm^3$ $K_2Cr_2O_7$. On obtiendra un volume u'' ; $u' - u''$ ne doit pas dépasser 0,03 à 0,04, sinon recommencer avec u'' . Généralement deux opérations suffisent. — Le volume de $K_2Cr_2O_7$, correspondant à l'alcool ainsi qu'aux impuretés réductrices des acides étant déterminé de cette façon, la suite des calculs et des corrections s'effectuera sans changement.

Comme épreuves de contrôle à l'appui des indications précédentes, nous avons préparé 2 séries de solutions, l'une en présence, l'autre en l'absence d'acétone, chaque solution de l'une des séries correspondant à une solution de titre alcoolique identique de l'autre. Les taux d'alcool sont de l'ordre de ceux que l'on rencontre dans un distillat sanguin.

Titres d'alcool (en $cm^3 \text{ ‰}$)		Titres d'alcool (en $cm^3 \text{ ‰}$) mesurés en présence d'acétone			
théoriques	mesurés en l'absence d'acétone	acétone ajoutée en $cm^3 \text{ ‰}$	nombre de dosages	valeurs extrêmes	moyennes
0,050	0,0515	0,20	5	0,049—0,0525	0,0515
0,100	0,1005	0,20	8	0,100—0,1075	0,1045
0,500	0,495	0,20	5	0,48 —0,495	0,490
1,00	1,005	0,20	3	0,98 —1,00	0,99
—	0,061	0,60	4	0,061—0,072	0,067
—	0,543	0,60	4	0,528—0,563	0,548
0,251	0,249	1,0	3	0,241—0,255	0,246
0,251	0,251	2,5	3	0,270—0,276	0,273
0,5025	0,485	2,0	3	0,496—0,502	0,498
0,5025	0,505	2,5	2	0,508—0,515	0,512
0,754	0,749	2,0	4	0,738—0,748	0,743
0,754	0,760	2,5	3	0,747—0,762	0,756
1,005	1,008	2,0	3	1,00 —1,013	1,005
1,005	1,006	2,5	2	0,991—0,996	0,993

La comparaison des colonnes 1, 2 et 6 du tableau montre l'approximation réalisée dans nos mesures et qui, ajoutons-le, est en relation plus étroite avec la pureté de l'acide sulfurique en présence, qu'en l'absence d'acétone.

Le mode opératoire décrit ci-dessus pourra rendre des services toutes les fois qu'il est à craindre que certains corps plus ou moins réducteurs accompagnent l'alcool. En l'absence de données précises permettant d'exclure une telle éventualité, il sera prudent

d'effectuer, de la façon indiquée, au moins un des titrages, ce qui permettra de diminuer certaines possibilités d'erreur, sans naturellement prétendre à les éliminer complètement.

Dosage de l'alcool par semi-microméthode.

Malgré la faveur dont jouissent actuellement les microméthodes, il ne semble pas qu'il faille en préconiser l'emploi dans la détermination courante de l'alcoolémie, en raison de l'importance accrue des causes d'erreur et des précautions minutieuses devant être observées pour les éliminer. Il va sans dire qu'elles pourront, par contre, rendre de grands services dans les essais en série, lorsque les conditions du patient et celles du prélèvement sont bien définies. Dans cet ordre d'idées, ainsi qu'afin d'éprouver la valeur de la technique adoptée, nous avons fait quelques dosages dans des prises de 1 cm³ (solutions aqueuses et sangs). Bien que nous n'ayons pas poussé la vérification aussi loin que dans le cas de la macrométhode, les résultats obtenus montrent que l'on peut réaliser une approximation comparable en observant les conditions, brièvement résumées, que voici:

Peser environ 1 gr. de sang fluoré dans une petite éprouvette tarée, transvaser quantitativement, à l'aide de 4 cm³ eau et 10 cm³ acide picrique saturé, dans un ballon à distiller à long col de 50—100 cm³. Distillation: l'appareil ordinaire de *Schloesing-Aubin* à réfrigérant d'étain, un peu incommode en raison de ses dimensions, peut être utilisé si l'on n'a pas à disposition le modèle microdistillateur décrit par *Nicloux*¹⁾. On distillera tout d'abord 4—5 cm³ comme d'habitude, l'extrémité du réfrigérant arrivant dans un peu d'eau au fond d'une éprouvette tarée, qu'on abaisse par la suite, de façon que le tube ne plonge plus. On distille encore environ le même volume, en interrompant à 2 ou 3 reprises le chauffage quelques instants. Le refroidissement du ballon provoque une légère rentrée d'air, accompagnée du brassage et d'une aspiration partielle des gouttelettes à l'intérieur du réfrigérant; ensuite, lorsque le chauffage est repris, une poussée d'air inverse assure l'expulsion intégrale du liquide dans l'éprouvette où l'on recueille le distillat. Cet artifice, répété une ou deux fois, réalise le lavage du réfrigérant et permet d'éviter toute perte d'alcool. On recueille ainsi au total 8 à 10 cm³ de liquide, dont on déterminera exactement le volume par pesée. Titrage: se fera dans une grande éprouvette de 20—30 cm³, sur une prise de 2 cm³, à l'aide d'une solution de K₂Cr₂O₇ à 3,39 gr.⁰/₁₀₀; le volume d'H₂SO₄ conc. doit dépasser de 1 cm³ le volume total: prise + vol. K₂Cr₂O₇; on titrera l'excès de réactif au moyen de sel de *Mohr* 0,01 N et KMnO₄ 0,02 N. Le volume distillé permet de faire 3 ou 4 dosages. Les corrections et essais à blanc se déterminent de façon analogue à ce qui a été indiqué précédemment.

Expériences de contrôle.

A. 1 cm³ de solution alcoolique titrée est amené à 10 cm³. On procède au titrage direct, sans distillation.

titre théorique cm ³ ‰	0,32	0,645	1,01	2,015	3,025
trouvé cm ³ ‰	0,32	0,63	1,02	2,06	3,085

B. Distillation et dosage de 1 cm³ solution titrée.

titre théorique	0,33	0,665	1,00	2,00	3,33
trouvé série I	0,345	0,69	1,005	1,985	3,345
trouvé série II	—	—	1,02	2,01	3,33

C. Un prélèvement de sang fluoré, provenant d'un individu à jeun d'alcool, est additionné de doses d'alcool déterminées. Les analyses portent sur 1 gr. de chacun des échantillons ainsi obtenus.

Un contrôle, par macrométhode, donne, avant toute addition, une teneur de 0,025⁰/₁₀₀.

Alcool ajouté	0,00	0,34	0,72	1,05	2,055	3,305
Alcool trouvé (série I)	0,03	0,36	0,72	1,065	2,11	3,35
Alcool trouvé (série II)	0,01 et 0,06	0,375	0,745	1,055	2,125	3,375

¹⁾ *Nicloux, M., Le Breton, E. et Dontcheff, A., Bl. Soc. Chim. biol.* **16**, 1314 (1934).

Les résultats ont été calculés en utilisant les facteurs de correction habituels. Si l'on tient compte des substances réductrices préexistantes, qui dans ce cas ne sont pas tout à fait négligeables (en moyenne 0,03), la concordance des résultats peut être considérée comme satisfaisante.

RÉSUMÉ.

1. La technique de dosage de l'alcool sanguin, décrite dans ce travail, est basée sur l'ancien procédé de *Nicloux*, modifié à deux points de vue: a) détermination de l'excès de $K_2Cr_2O_7$ par manganimétrie; b) interversion de l'ordre d'addition des réactifs et augmentation de la proportion d'acide sulfurique.

2. Cette double modification permet d'améliorer la précision de la méthode de façon très marquée. En multipliant les résultats par les facteurs correctifs suivants: solutions aqueuses pures 0,97; sangs fluorés 0,98; sangs coagulés 0,99, on obtient les chiffres théoriques avec une approximation de 1—2 %.

3. Cette technique donne le moyen de doser exactement l'alcool en présence d'acétone.

4. Elle nécessite normalement 5—10 cm³ de sang, mais sa sensibilité rend possible, en observant certaines précautions, de doser l'alcool dans 1 cm³ de sang avec une précision du même ordre.

Lausanne, Institut de chimie clinique.

103. Modellmässige Deutung der inneren Viskosität (der Formzähigkeit) von Fadenmolekeln II

von Werner Kuhn und Hans Kuhn.

(1. V. 46.)

In dem kürzlich erschienenen Teil I der vorliegenden Arbeit¹⁾ haben wir modellmässige Betrachtungen durchgeführt über die Entstehung einer Formzähigkeit von Fadenmolekeln auf Grund der Unvollkommenheit der Drehbarkeit um die in der Kette vorkommenden Valenzrichtungen als Achsen. Diese Betrachtungen werden nachstehend fortgesetzt, wobei sich die Numerierung von Abschnitten und Formeln an Teil I anschliesst.

5. Spannungsrelaxationszeit τ .

a) Qualitatives.

Wir haben gezeigt, dass eine Fadenmolekel, deren Endpunkte mit einer Geschwindigkeit $h \cdot$ relativ zueinander bewegt werden, der

¹⁾ Helv. **29**, 609 (1946).