

TP 5 : Purification de l'allantoïne **CORRECTION**

Capacités expérimentales travaillées :

- Mettre en œuvre un protocole expérimental correspondant à un titrage direct. Exploiter une courbe de titrage pour déterminer la quantité de matière, masse ou concentration de l'espèce titrée.
- Déterminer le rendement d'une synthèse, d'une méthode de séparation.
- Expliquer et mettre en œuvre la technique de recristallisation.
- Réaliser une filtration sous pression réduite, justifier les différentes étapes du lavage d'un solide.

Fiches méthode à consulter :

- Dosages et Titrages
- Recristallisation
- Filtration

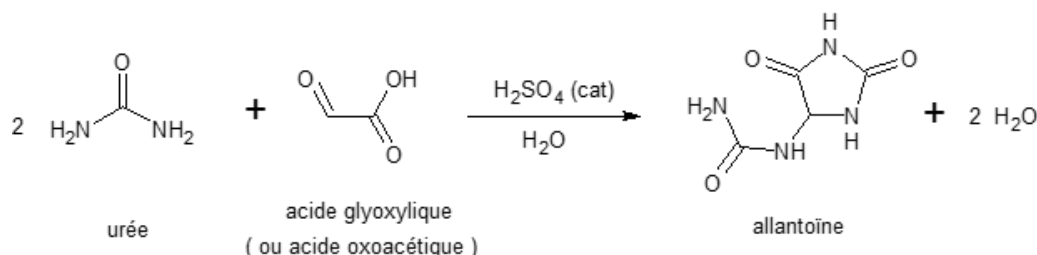
L'**allantoïne** est un composé naturellement présent dans le monde animal et végétal. On le retrouve notamment dans la bave d'escargot, connue pour ses **propriétés cicatrisantes et apaisantes**, dues en grande partie à ce composé. Ce produit chimique est donc très utilisé dans l'**industrie cosmétique**, dans des composés tels que des crèmes après-soleil, des baumes pour les lèvres ou encore des gels douches.

L'industrie cosmétique privilégie la **synthèse chimique de ce composé**, malgré son origine naturelle. Cette synthèse peut être réalisée à partir de deux produits chimiques assez peu onéreux : l'urée (produite industriellement à partir d'ammoniac et de dioxyde de carbone) et l'acide glyoxylique (produit par oxydations contrôlées de l'éthène).

Objectifs : Déterminer le degré de pureté de l'allantoïne synthétisée.
Purifier l'allantoïne.

Document 1 : Présentation de la synthèse de l'allantoïne

Protocole de synthèse de l'allantoïne à partir d'urée et d'acide glyoxylique selon le bilan suivant :



- Dans un ballon de 100 mL surmonté d'un réfrigérant à eau, introduire 8,0 g d'urée et 5,0 mL de solution aqueuse d'acide glyoxylique à 50 % en masse. Agiter jusqu'à obtention d'une solution limpide.
- Introduire lentement, sous agitation magnétique, 1 mL d'acide sulfurique concentré.
- Chauffer à reflux pendant 30 minutes. Le milieu réactionnel se trouble avec l'apparition d'un précipité blanchâtre au bout de 15 à 20 minutes.
- Une fois le reflux terminé, refroidir le ballon en remplaçant le chauffage par un bain d'eau glacée.
- Filtrer sous vide le solide obtenu à l'aide d'un filtre Büchner. Rincer avec de l'eau glacée. On obtient de l'allantoïne sous forme solide. Une masse $m = 7,87$ g de produit brut est obtenue.

Document 2 : Données de sécurité sur les composés utilisés

	Formule brute	M (g.mol ⁻¹)	Sécurité
Acide glyoxylique	C ₂ H ₂ O ₃	74,0	
Urée	CH ₄ ON ₂	60,0	
Acide sulfurique	H ₂ SO ₄	98,0	
Allantoïne	C ₄ H ₆ O ₃ N ₄	158,0	 
Hydroxyde de sodium	NaOH	40,0	

Document 3 : Quelques données physico-chimiques sur les espèces mises en jeu

Masse volumique de la solution d'acide glyoxylique à 50% en masse : 1,34 g.mL⁻¹

Constantes d'acidité :

- Acide glyoxylique / glyoxylate : pK_A = 3,1
- Allantoïne / allantoïmate : monoacide pK_A = 9,1
- Acide sulfurique : pK_A(H₂SO₄/HSO₄⁻) < 0 et pK_A(HSO₄⁻/SO₄²⁻) = 1,9

Données de solubilités :

Acide glyoxylique	Très soluble dans l'eau
Urée	Très soluble dans l'eau
Acide sulfurique	Très soluble dans l'eau
Allantoïne	Solubilité dans l'eau bouillante : 150 g.L ⁻¹ Solubilité dans l'eau froide : 5 g.L ⁻¹ Très peu soluble dans l'acétone
Hydroxyde de sodium	Très soluble dans l'eau
Acétone	Miscible avec l'eau en toute proportions

Préparation théorique (à faire avant de venir en TP) :

1. Déterminer le réactif limitant lors de la synthèse de l'allantoïne présentée dans le *document 1*.

$$\rho_{\text{solution}} = \frac{m_{\text{solution}}}{V} = \frac{n \cdot M}{V}$$

$$\text{Or } t_{m, \text{acide-glyoxylique}} = \frac{m_{\text{acide-glyoxylique}}}{m_{\text{solution}}} = \frac{50}{100} = \frac{1}{2} \text{ Ainsi : } m_{\text{solution}} = 2 * m_{\text{acide glyoxylique}}$$

$$\rho_{\text{solution}} = \frac{m_{\text{solution}}}{V} = \frac{2 * m_{\text{acide-glyoxylique}}}{V} = \frac{2 * n_{\text{acide-glyoxylique}} * M_{\text{acide-glyoxylique}}}{V}$$

$$\text{Donc } n_{\text{acide-glyoxylique}} = \frac{\rho_{\text{solution}} * V}{2 M_{\text{acide-glyoxylique}}} = \frac{1,34 * 10^3 * 5,0 * 10^{-3}}{2 * 74,0} = 4,5 * 10^{-2} \text{ mol}$$

$$n_{\text{urée}} = \frac{m_{\text{urée}}}{M_{\text{urée}}} = \frac{8,0}{60,0} = 1,3 * 10^{-1} \text{ mol}$$

En prenant en compte les coefficients stoechiométriques :

$$\frac{n_{\text{urée}}}{2} = 6,5 * 10^{-2} \text{ mol} > \frac{n_{\text{acide-glyoxylique}}}{1}$$

L'acide glyoxylique est donc limitant lors de la synthèse .

Si la réaction est totale ($\xi_{\text{max}} = 4,5 * 10^{-2} \text{ mol}$), il reste en fin de réaction $1,3 * 10^{-1} - 2 * \xi_{\text{max}} = 4,0 * 10^{-2} \text{ mol}$ d'urée.

2. Calculer le rendement brut de la synthèse. Justifier que le brut réactionnel ne contient pas l'allantoïne pure. Quelles peuvent être les impuretés présentes dans le produit brut ?

Une masse $m_{\text{allantoïne}} = 7,87 \text{ g}$ est obtenue.

$$n_{\text{produit}} = \frac{m_{\text{allantoïne}}}{M_{\text{allantoïne}}} = \frac{7,87}{158,0} = 4,95 * 10^{-2} \text{ mol}$$

$$\text{Rendement} = \frac{n_{\text{produit}}}{\xi_{\text{max}}} = \frac{4,95 * 10^{-2}}{4,5 * 10^{-2}} = 1,1 > 100 \%$$

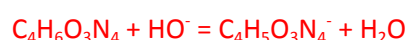
Le rendement ne peut être supérieur à 100 %. L'allantoïne n'est donc pas pur.

Dans le produit, on peut avoir de l'urée également solide à température ambiante (qui n'a pas été consommée par la réaction).

On souhaite donc titrer le produit brut synthétisé à l'aide d'une solution d'hydroxyde de sodium de concentration $c_b = 1,00 * 10^{-1} \text{ mol} \cdot L^{-1}$ pour déterminer le pourcentage en masse d'allantoïne.

3. Quelle propriété de l'allantoïne utilise-t-on pour la titrer ? Écrire l'équation de la réaction support de titrage et calculer sa constante de réaction.

On utilise la propriété acido basique de l'allantoïne pour la titrer. L'allantoïne possède un pKa de 9,1.



$$\text{La constante de réaction est : } K^\circ = 10^{pK_{a,\text{base}} - pK_{a,\text{acide}}} = 10^{14-9,1} = 10^{4,9}$$

La réaction est donc quantitative ($K^\circ > 10^4$), ce qui est nécessaire pour une réaction de titrage.

4. On suppose que le solide brut ne contient que de l'allantoïne. Quelle masse de solide faut-il prélever pour avoir un volume équivalent proche de 10 mL ?

On veut $V_{eq} = 10 \text{ mL}$.

La relation à l'équivalence pour le titrage est :

$$\frac{n_{allantoïne}}{1} = \frac{n_{HO^-}}{1}$$
$$\frac{m_{allantoïne}}{M_{allantoïne}} = C_{HO^-} V_{eq}$$

donc $m_{allantoïne} = C_{HO^-} V_{eq} M_{allantoïne}$

A.N.

- $m_{allantoïne} = 1,0 * 10^{-1} * 1,0 * 10^{-2} * 1,58 * 10^2 = 1,6 * 10^{-1} \text{ g}$

5. L'allantoïne sera ensuite purifiée par recristallisation. Justifier que l'eau est un solvant adapté pour la recristallisation de l'allantoïne.

L'eau ne solubilise pas bien l'allantoïne à froid alors qu'elle solubilise bien l'allantoïne à chaud. L'urée reste soluble à froid et à chaud dans l'eau.

On pourra donc solubiliser l'allantoïne et l'urée à chaud et recristalliser sélectivement l'allantoïne en refroidissant le milieu réactionnel. L'eau est donc adaptée pour réaliser la recristallisation.

Travail pratique

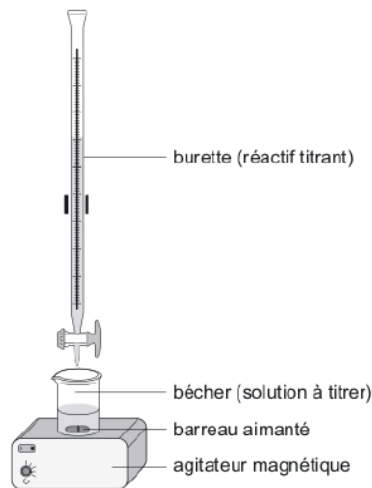
① Détermination du degré de pureté du produit brut par titrage

- Préparer une solution de solide brut par dissolution de 0,20 g de solide dans 60 mL d'eau distillée chaude.
- Réaliser le titrage de l'allantoïne dans ce prélèvement par une solution de soude de concentration $c_b = 1,00 \times 10^{-1} \text{ mol.L}^{-1}$.

On peut expliquer l'allure de la courbe conductimétrique qui augmente par le fait qu'au début, on ajoute des ions Na^+ et on crée l'ion allantoinate. Après l'équivalence, on ajoute dans le milieu réactionnel des ions Na^+ et des ions HO^- (qui ont une conductivité molaire bien plus importante).

On a donc une droite avec une pente positive légère avant l'équivalence puis une droite avec une pente positive plus forte après l'équivalence.

1. Mettre en place la burette graduée sur son support, robinet fermé. Placer un bécher « poubelle » sous la burette.



Dispositif expérimental d'un titrage volumétrique.

■ : Fixation ferme ou pince à burette.

2. Verser dans la burette graduée un peu de solution titrante de concentration connue afin de la **rincer**, robinet fermé. Vider la burette dans le bécher « poubelle ».
3. La remplir avec la solution titrante en dépassant la graduation zéro puis ajuster le ménisque à zéro.
4. Éliminer toute bulle d'air présente dans la burette, en particulier à proximité du robinet. Pour cela, ouvrir et fermer brusquement le robinet.
5. Ajuster le volume de solution titrante au zéro de la graduation, l'excès de solution est récupéré dans le bécher « poubelle ».

Déroulement du titrage

1. Verser dans le bécher qui va servir au titrage, un **volume précis** de solution à titrer avec une **pipette jaugée préalablement rincée avec la solution**. Ajouter un barreau aimanté plat dans le bécher et placer ce dernier sous la burette. Agiter sans éclabousser les parois.
2. Selon le mode de détection du point de fin de titrage choisi, ajouter un indicateur coloré ou de fin de réaction ou mettre en place un appareil de mesure. Ne pas oublier d'observer et/ou de mesurer les propriétés de la solution dans le bécher **avant de débiter le titrage**.
3. Verser un peu de solution titrante. S'il reste une goutte au bout de la burette, appuyer doucement la paroi du bécher sur la pointe de la burette afin que la goutte délivrée soit effectivement contenue dans le bécher. Agiter pour homogénéiser.
4. Lire le volume versé. Observer et/ou mesurer les propriétés de la solution dans le bécher pour ce volume.
5. Répéter les opérations 3 et 4 **en adaptant les volumes versés** à la technique expérimentale de détection du point de fin de titrage choisi jusqu'au volume équivalent.
6. Dépasser ensuite le volume équivalent estimé de sorte à confirmer que le volume équivalent a bien été atteint.

☞ Déterminer le degré de pureté d'allantoïne brut, c'est-à-dire le pourcentage en masse d'allantoïne dans le solide.

$$d.p. = \frac{m_{\text{allantoïne}}}{m_{\text{solide}}} \times 100$$

$$m_{\text{allantoïne}} = n_{\text{allantoïne}} M_{\text{allantoïne}} = C_b V_{\text{eq}} M_{\text{allantoïne}}$$

Application numérique :

$$m_{\text{allantoïne}} = 1,00 * 10^{-1} * 9,0 * 10^{-3} * 1,580 * 10^2 = 1,4 * 10^{-1} g$$

$$\text{donc d.p.} = \frac{1,4 * 10^{-1}}{2,0 * 10^{-1}} * 100 = 70 \%$$

❏ En déduire le rendement réel de la synthèse présentée dans le document 1.

Rendement réel de la synthèse : Sur les 7,87 g de produit obtenu, 70% sont de l'allantoïne.

Donc, en réalité, la synthèse a produit :

$$n_{\text{produit}} = \frac{0,70 * m_{\text{obtenu}}}{M_{\text{allantoïne}}} = \frac{0,70 * 7,87}{158,0} = 3,5 * 10^{-2} \text{ mol}$$

Donc

$$\text{Rendement} = \frac{n_{\text{produit}}}{\xi_{\text{max}}} = \frac{3,5 * 10^{-2}}{4,5 * 10^{-2}} = 78 \%$$

Le rendement réel de la synthèse est de 78 %.

② Recristallisation du produit brut

- Réaliser la recristallisation de 2,00 g d'allantoïne dans l'eau.
- Filtrer sous vide avec un montage de Büchner.
- Laver le solide obtenu sur le filtre avec de l'eau froide puis avec de l'acétone froid.
- Sécher puis peser le solide obtenu.

1. Placer le composé à purifier dans un **ballon bicol** comportant un barreau aimanté et l'insérer dans un montage de **chauffage à reflux** (fiche 15).
2. Adapter une **ampoule de coulée** (ou **ampoule d'addition isobare**) remplie avec le solvant de recristallisation sur le rodage latéral du ballon.
3. Recouvrir le solide avec le **minimum** de solvant.
4. Chauffer de sorte à porter le milieu au **reflux du solvant** et agiter.
5. Si le solide est totalement dissous, arrêter le chauffage, baisser le support élévateur et déplacer le système de chauffage pour ramener le système à température ambiante. Sinon, ajouter du solvant par petites quantités jusqu'à **dissolution complète**. Prendre soin d'attendre le **rétablissement du reflux** entre chaque ajout.
6. Laisser le ballon revenir à température ambiante lentement.
7. Une fois le solide recristallisé, l'essorer (les impuretés restent dans le filtrat) et le laver à l'aide du solvant de recristallisation préalablement refroidi (afin de re-solubiliser le moins de produit possible).
8. Une fois séché sur un entonnoir Büchner ou à l'étuve, mesurer de nouveau sa température de fusion et/ou contrôler sa pureté par une chromatographie sur couche mince.

Rappel pour la réalisation de la recristallisation :

1. Dans l'idéal, le solvant est porté à ébullition au bain-marie avant d'être mis en contact avec le solide à purifier
2. Le produit est dissous dans un MINIMUM de solvant chaud (bouillant).
3. La solution est laissée refroidir lentement jusqu'à température ambiante.
4. Une fois que les premiers cristaux sont apparus, on complète la recristallisation dans un bain de glace (eau,+ glace).
5. On filtre ensuite sur un entonnoir Büchner en rinçant le ballon avec la solution-mère.
6. On rince avec du solvant froid (pensez-y à l'avance).
7. Le produit est séché pour enlever toute trace de solvant (étuve ou pompe mécanique).

Filtration/essorage

1. **Fixer fermement** la fiole à vide à l'aide d'une pince trois-doigts, déposer un cône en caoutchouc de taille adaptée et mettre en place l'entonnoir Büchner.
2. Découper un disque de papier filtre de **taille adéquate** et le placer dans l'entonnoir Büchner.
3. **Humidifier** le papier filtre avec un peu de solvant afin qu'il adhère correctement à la paroi de l'entonnoir. Cette étape est nécessaire pour que le solide ne passe pas entre le papier filtre et la paroi.
4. Relier le tuyau de la trompe à eau à la fiole à vide.
5. Verser petit à petit le mélange dans l'entonnoir. Ouvrir le robinet d'eau avec un débit assez fort et **ne plus y toucher**.
6. **Rincer le ballon** avec du solvant de façon à récupérer tout le solide.

Si le filtrat est **trouble**, une partie du solide a pu traverser le papier filtre. Il faut alors recommencer la filtration en utilisant un entonnoir en verre fritté de faible porosité.

Lavage

1. Anticiper le refroidissement du solvant de lavage.
2. Couper l'aspiration **en déconnectant le tuyau de la fiole à vide sans couper l'eau**. Ajouter assez de solvant de lavage de façon à recouvrir le solide. Casser les agrégats de solide avec une baguette de verre ou une spatule pour que tout le solide soit en contact avec le solvant de lavage. Cette opération est appelée **trituration**.
3. Raccorder à nouveau le tuyau de la trompe à eau et la fiole à vide afin d'aspirer le liquide. Si nécessaire, répéter l'opération de lavage.
4. Dans le cas d'un essorage, laisser le système d'aspiration en marche 5 à 10 minutes afin de sécher au maximum le solide.
5. Déconnecter le tuyau et la fiole à vide **puis** fermer enfin le robinet d'eau. En effet, si le robinet d'eau est fermé sans déconnecter préalablement le tuyau et la fiole, la dépression peut entraîner des « **retours d'eau** » qui souillent le filtrat.
6. Dans le cas d'un essorage, récupérer le solide dans une **coupelle tarée** et le sécher éventuellement à l'**étuve**. Dans le cas d'une filtration, récupérer le filtrat dans un **ballon rodé taré** et éliminer le solvant à l'évaporateur rotatif (fiche 21).

- ☐ Indiquer la masse de solide obtenue après recristallisation.
- ☐ Comparer à la masse d'allantoïne dans le produit brut.
- ☐ Calculer le rendement de la recristallisation.

③ Vérification de la pureté du produit recristallisé

- ☐ Proposer des méthodes pour vérifier la pureté de l'allantoïne obtenue après recristallisation
 - CCM
 - RMN

☐ **A la fin du TP, rendre un compte-rendu par binôme** présentant la démarche suivie pour purifier l'allantoïne. Pour cela, aidez-vous de la liste ci-dessous de points à aborder lors de la rédaction du compte-rendu.

Points à aborder lors de la rédaction du compte-rendu pour la purification d'un produit par recristallisation

- ☐ Présentation de la synthèse étudiée
 - Bilan de la réaction
 - Détermination du réactif limitant
 - Calcul du rendement
- ☐ Détermination du degré de pureté du produit brut par titrage
 - Principe du titrage : équation support, constante d'équilibre, caractéristique d'une réaction support de titrage, choix du suivi

- ☐ Si suivi conductimétrique : prévision de l'allure de la courbe
- ☐ Schéma du dispositif légendé
- ☐ Courbes annotées
- ☐ Valeur du volume équivalent
- ☐ Relation à l'équivalence
- ☐ Calcul du degré de pureté du produit brut
- ☐ Calcul du « vrai » rendement de la synthèse

☐ Purification du produit brut par recristallisation

- ☐ Prévision des impuretés possiblement présentes dans le produit brut
- ☐ Choix du solvant de recristallisation
- ☐ Schéma du montage annoté
- ☐ Masse du produit obtenu après recristallisation et rendement de recristallisation

☐ Méthodes pour vérifier la pureté du produit recristallisé