

# Traitements à base de thymol pour lutter contre le Varroa Destructor: une approche physico-chimique

J. Aubry<sup>1</sup>, T. Carrer-Martens<sup>1</sup>, V. Girod<sup>2</sup>, F. Ganachaud<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Institut Charles Gerhardt - UMR 5253, Equipe "Ingénierie et Architectures Macromoléculaires", Ecole Nationale Supérieure de Chimie de Montpellier, 8 Rue de l'Ecole Normale MONTPELLIER cedex 5, France.

<sup>2</sup> Association de Développement de l'Apiculture Professionnelle en Languedoc-Roussillon, Mas de Saporta, LATTES, France



# Cadre de l'étude

## Point de départ

- ✓ Encapsulation du thymol pour retarder sa diffusion
- ✓ Une collaboration chimiste/apiculteur soutenue par l'Europe et la région LR

## Objectifs

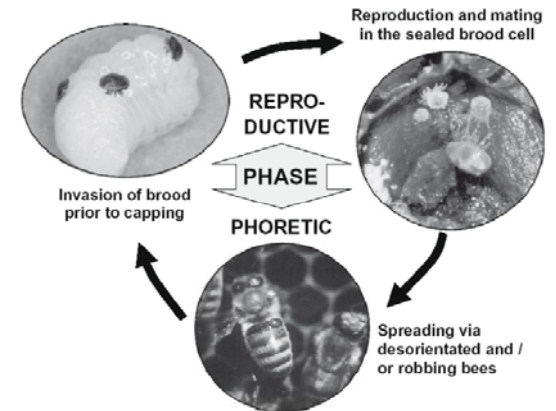
- ✓ Comprendre comment le thymol diffuse dans les ruches
- ✓ Produire de nouvelles formulations « bio »
- ✓ Privilégier un procédé utilisable par tous les apiculteurs  
=> « home-made technologie »



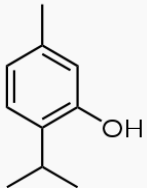
# Les acteurs

## Varroa Destructor

- Acarien parasite des abeilles
- Attaque les larves du couvain
- Vecteur de virus des abeilles



### Thymol



Structure du thymol

### Général

Nom IUPAC 5-méthyl-2-(propan-2-yl)phénol

Apparence Solide cristallin incolore

### Propriétés chimiques

Formule brute C<sub>10</sub>H<sub>14</sub>O [isomères]

Masse molaire<sup>1</sup> 150,2176 ± 0,0093 g·mol<sup>-1</sup>  
C 79,98 %, H 9,39 %, O 10,65 %

### Propriétés physiques

T° fusion 49 à 51 °C

T° ébullition (1 013 mbar) 233 °C

Solubilité (20 °C) insoluble à plus de 1,4 g/l<sup>1</sup>

### Précautions

Directive 67/548/EEC



C

N

## Thymol

- Phénol contenu naturellement dans l'huile de thym et autres huiles essentielles
- Cristaux incolores peu solubles dans l'eau (c=1,4 g/L)
- Molécule très volatile par évaporation ou sublimation
- Reconnue comme la molécule naturelle la plus efficace pour lutter contre Varroas



# Formulations sur le marché

| Formulations | Nombre d'applications | Quantité globale de thymol appliquée | Efficacité moyenne (%) |
|--------------|-----------------------|--------------------------------------|------------------------|
| Apilife Var  | 2 → 3                 | 13 → 20 g                            | 86 ± 6%                |
| Thymovar     | 2 → 3                 | 30 → 45 g                            | 89 ± 5%                |
| Apiguard     | 2                     | 25 g                                 | 89 ± 6 %               |

## Apilife Var (6.7 g thymol/tablette)



Vermiculite imprégnée de :

- 76% de thymol (s)
- 16% d'eucalyptol (l)
- 4% de menthol (s)
- 4% de camphre (s)

## Thymovar (15g thymol/tablette)

Eponge imprégnée de thymol



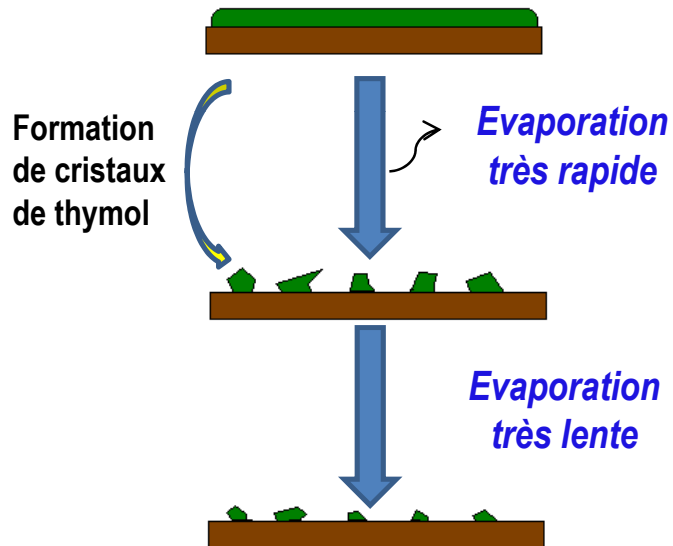
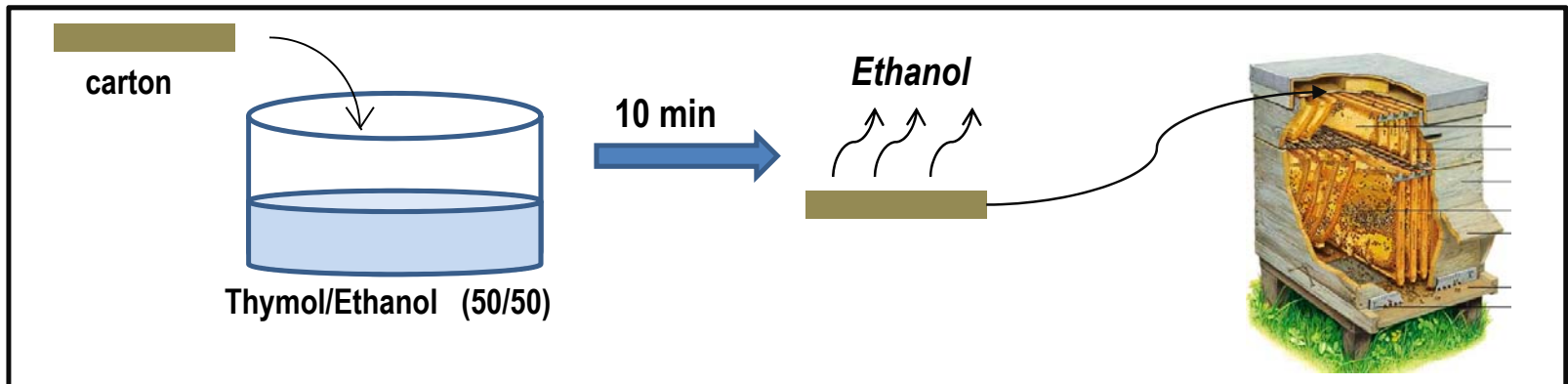
## Apiguard (12,5 g thymol/éch.)

Gel « intelligent » imprégné de thymol





# Traitement « au carton »



**Très bonne efficacité dans la majorité des cas (>95%)**





# Désavantages de cette technique

**Surconsommation  
du stock de nourriture**

**Arrêt de production  
de couvain**

**Manque de reproductibilité**

**Désertion de la colonie**

**Mortalité des nymphes**

**Quelles sont les causes de ces effets secondaires ?  
Comment contrôler la vitesse de diffusion du thymol ?**



**Etude fondamentale: corrélation laboratoire / rucher**

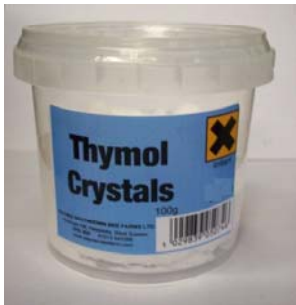
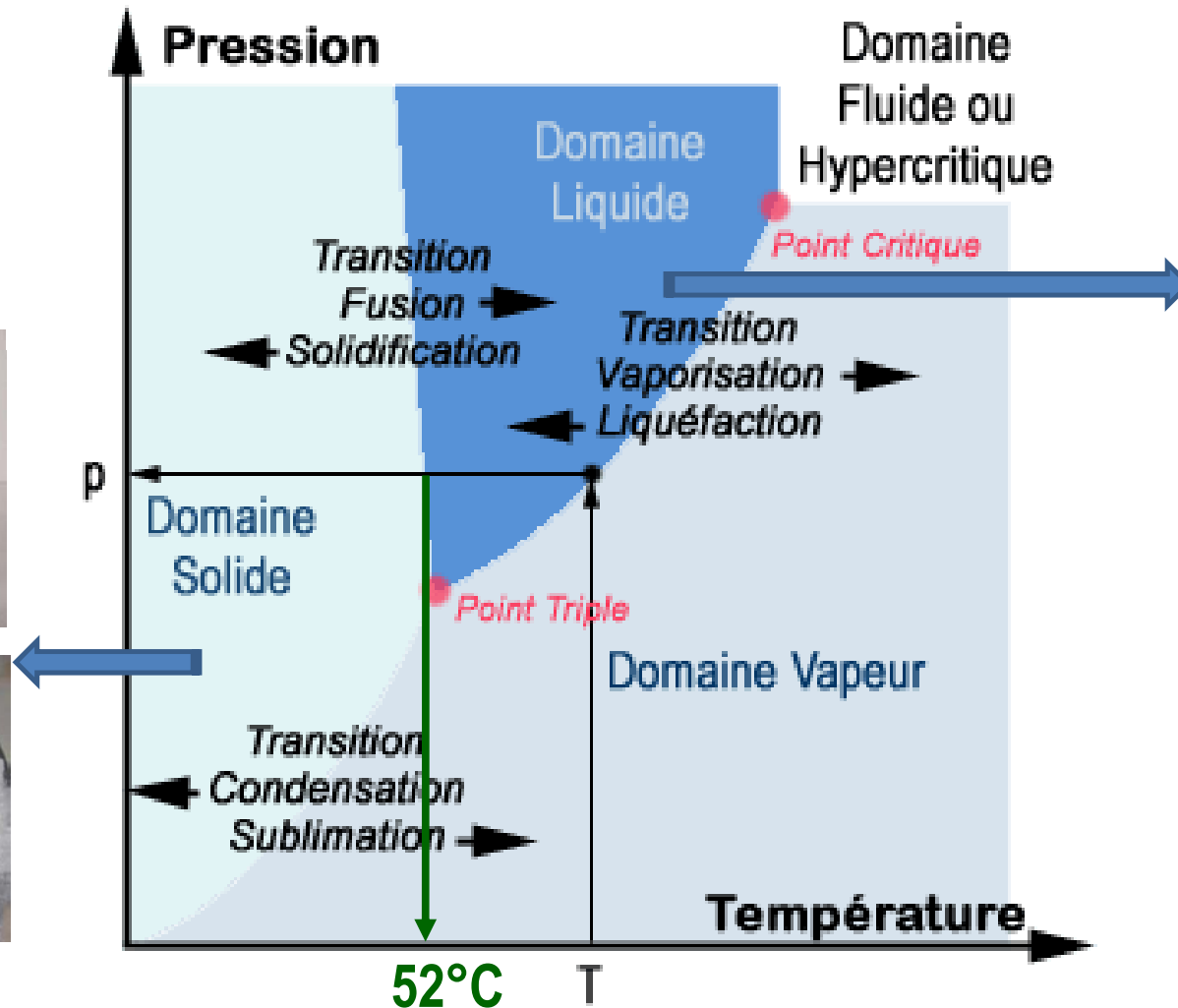


# Une approche académique

- ✓ **Physico-chimie du thymol**  
sous plusieurs formes / nature des cristaux
- ✓ **Diffusion des formes modèles**  
Évaporation – sublimation / application sur les ruches
- ✓ **La technique éthanol + carton**  
Mix amorphe-cristaux / effet « flash »
- ✓ **Une nouvelle piste....**



# Diagramme de phase du thymol

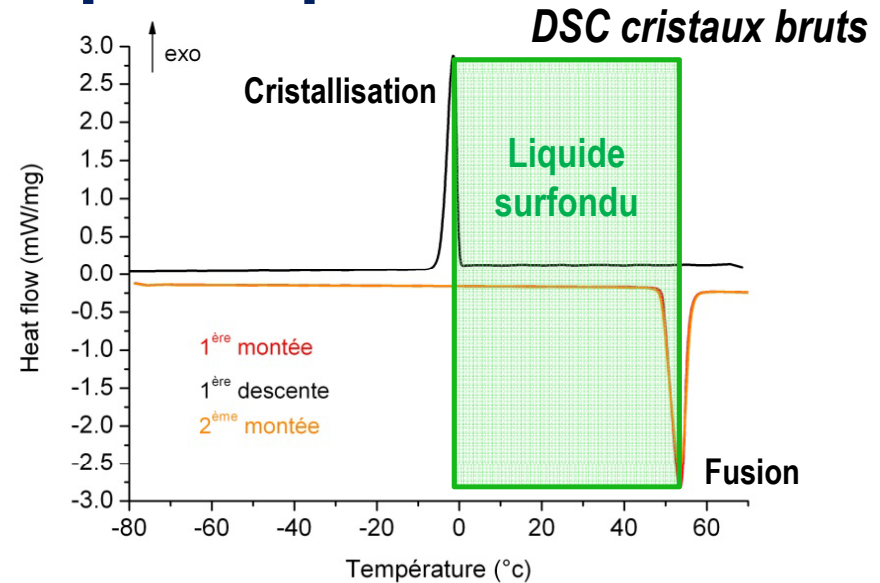
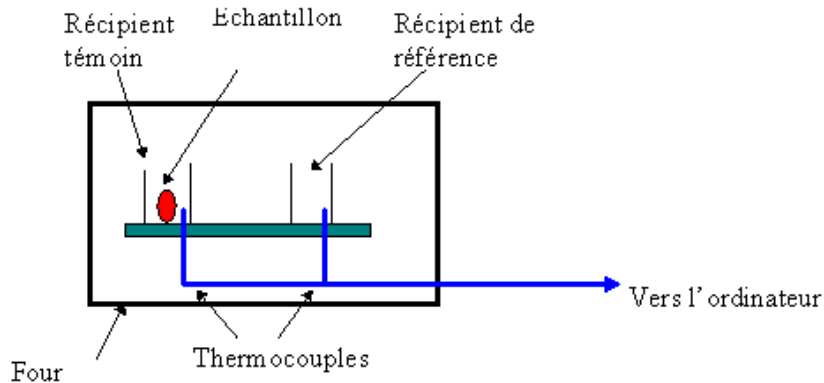






# Thymol amorphe liquide

## Calorimétrie différentielle (DSC)



*Mélange à 50°C de thymol et d'eau (50/50)*



*Démixion dans une ampoule à décanter*

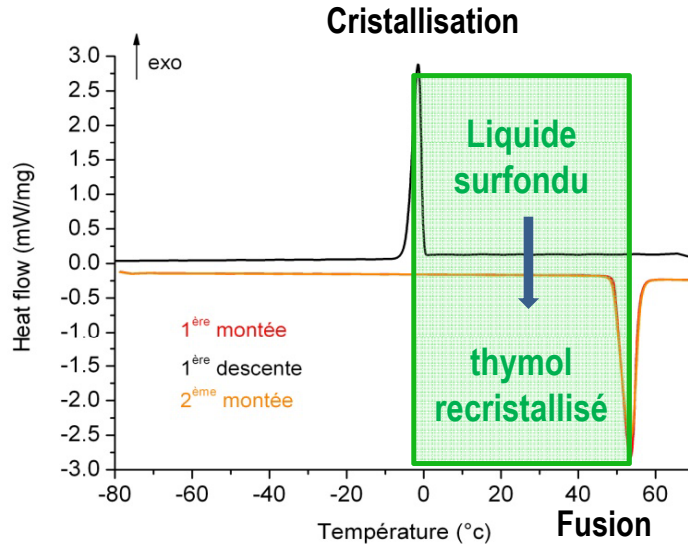


*Récupération du thymol amorphe liquide*

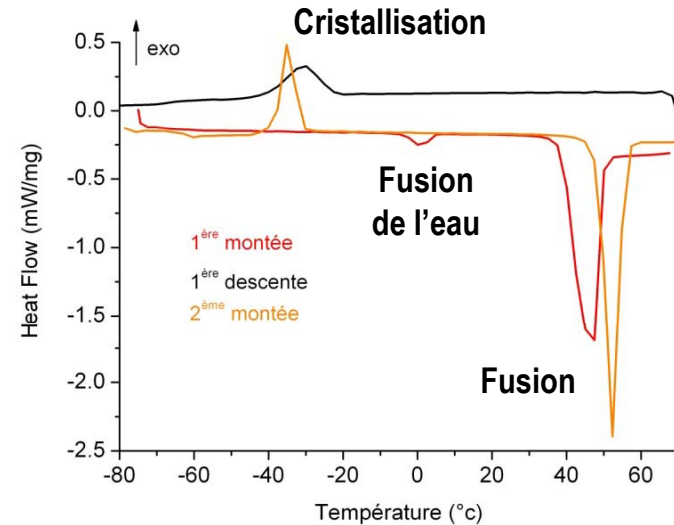


# Thymol recristallisé

**DSC cristaux bruts**



**DSC phase recristallisée**



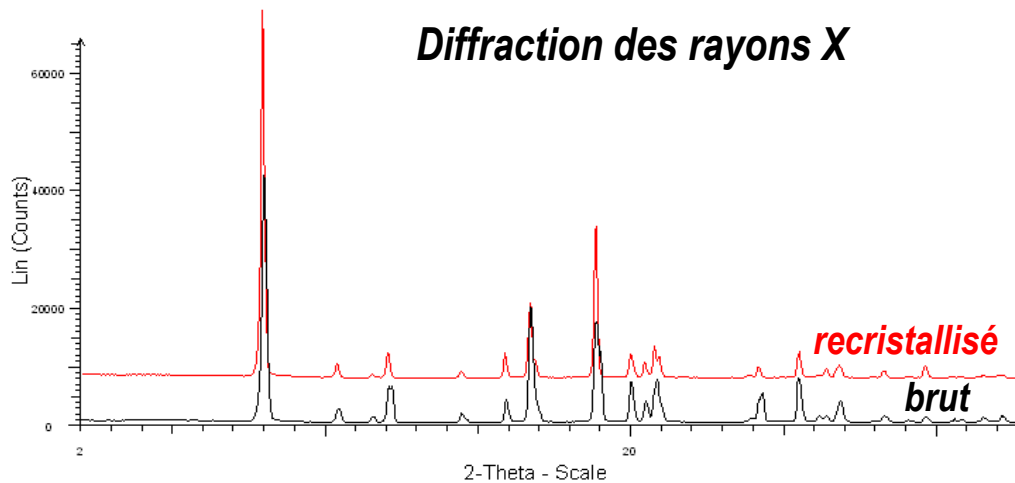
**Thymol amorphe : phase instable qui cristallise en présence d'un cristal de thymol**



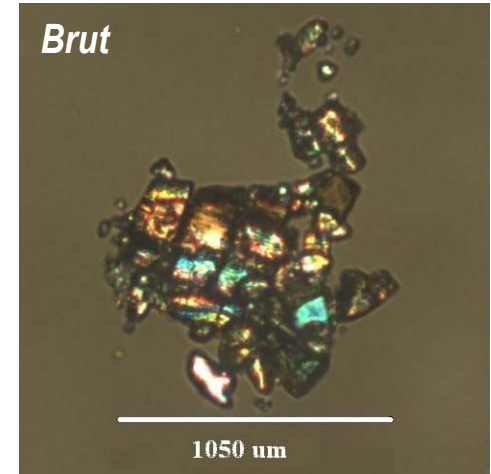
**10 minutes**



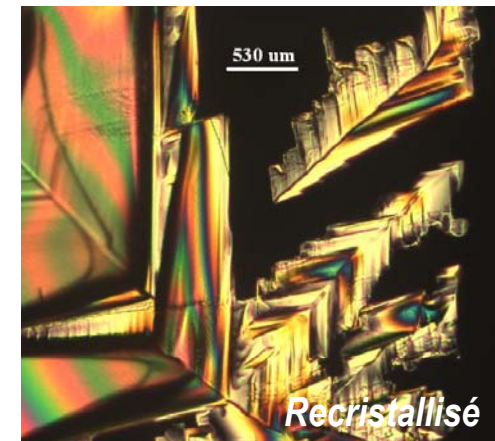
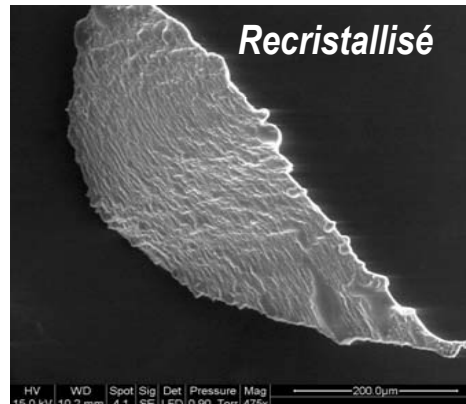
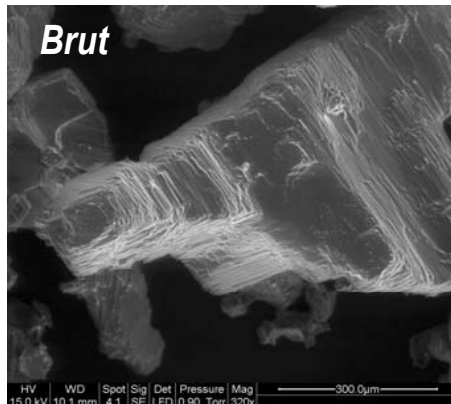
# Thymol commercial vs. recristallisé



## *Microscopie optique*



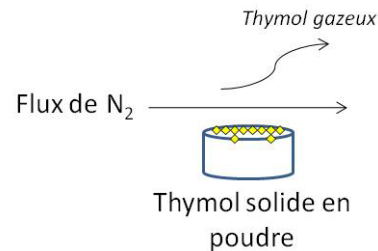
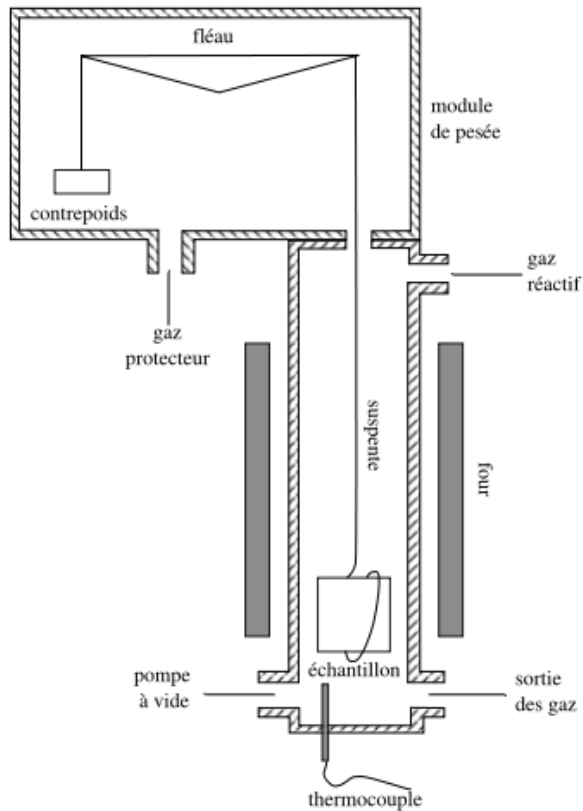
## *Microscopie électronique*



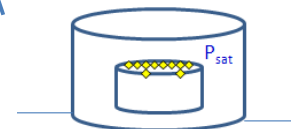
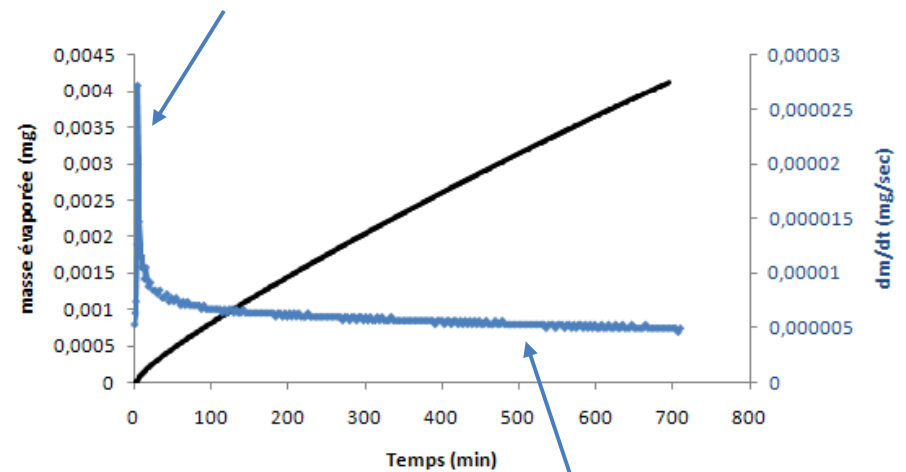


# Suivi évaporation/sublimation

## Analyse thermogravimétrique (ATG)



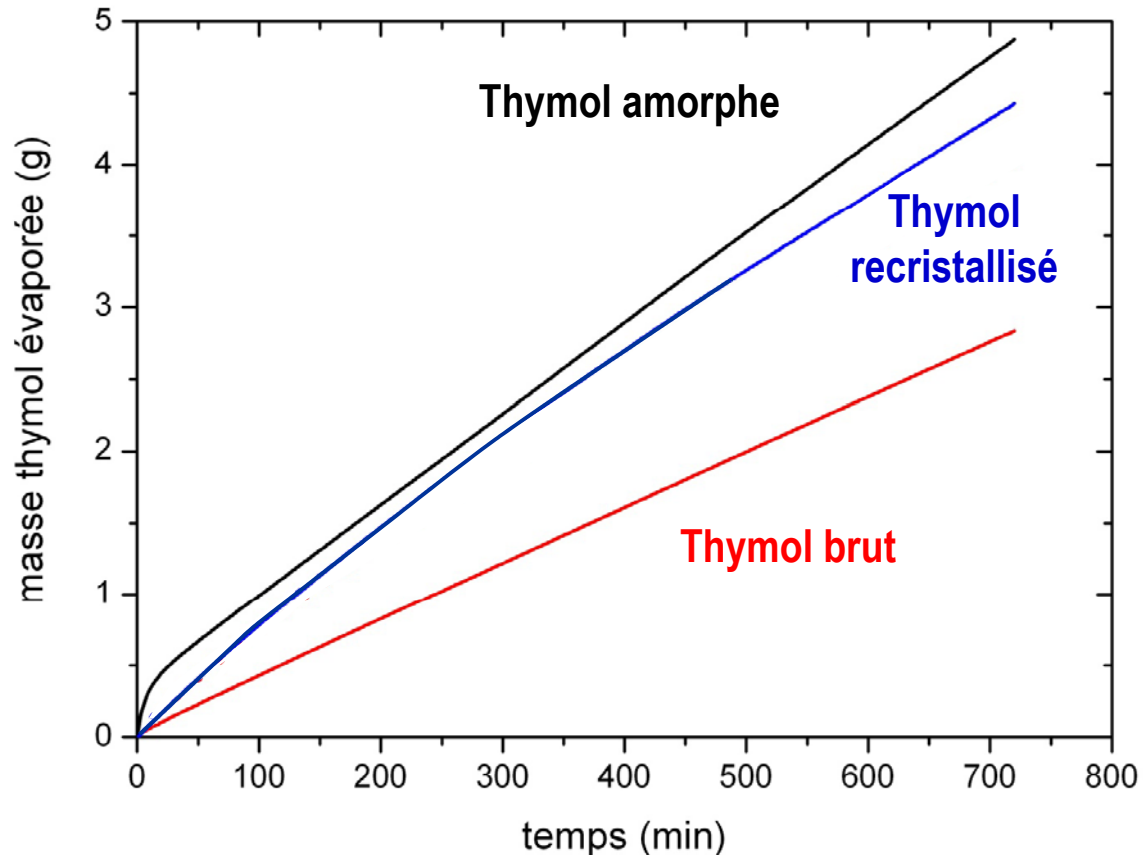
## Courbes types





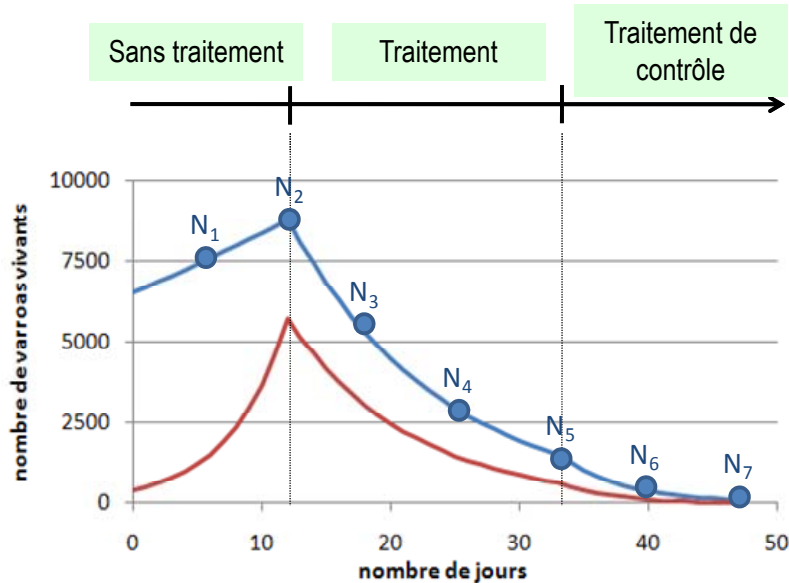
# Thymol cristal brut/liquide/recristallisé

Mesures d'Analyse Thermo-Gravimétrique (ATG) : isotherme à 40°C pendant 12 heures





# Protocole de traitement des ruches



Nombre de varroas en fonction du temps

$$N(t) = N_0 \times e^{(\alpha - \beta)t}$$

natalité      mortalité

$$\text{Efficacité (\%)} = \frac{\text{Mortalité}_{(\text{thymol})} - \text{Mortalité}_{(\text{nat})}}{\text{Mortalité}_{(\text{ctrl})} - \text{Mortalité}_{(\text{nat})}}$$

✓ Utilisation de hausses

Températures régulées entre 36 et 38°C

✓ Echantillons en têtes de cadre

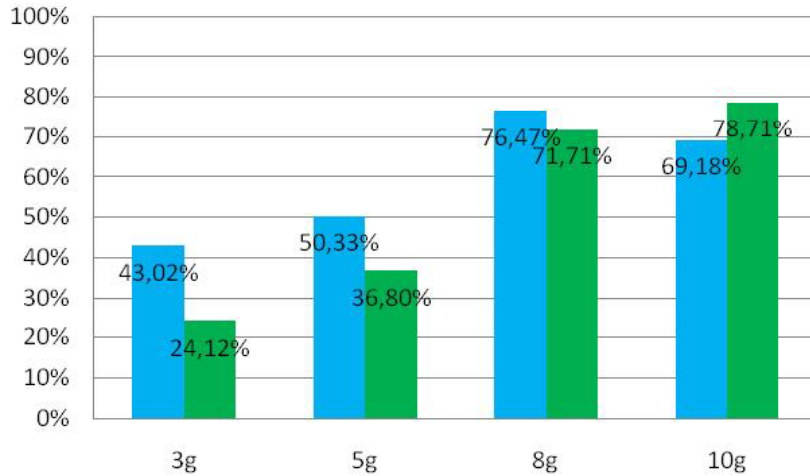
Quantités variables



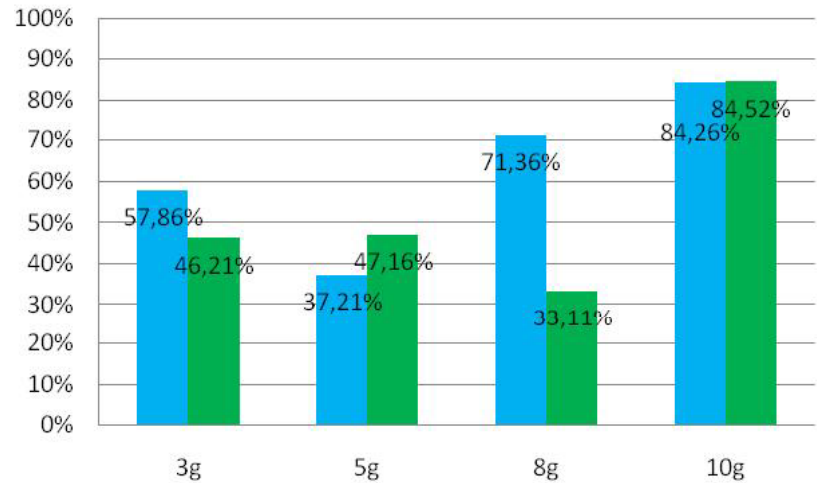


# Thymol liquide/recristallisé (sur carton)

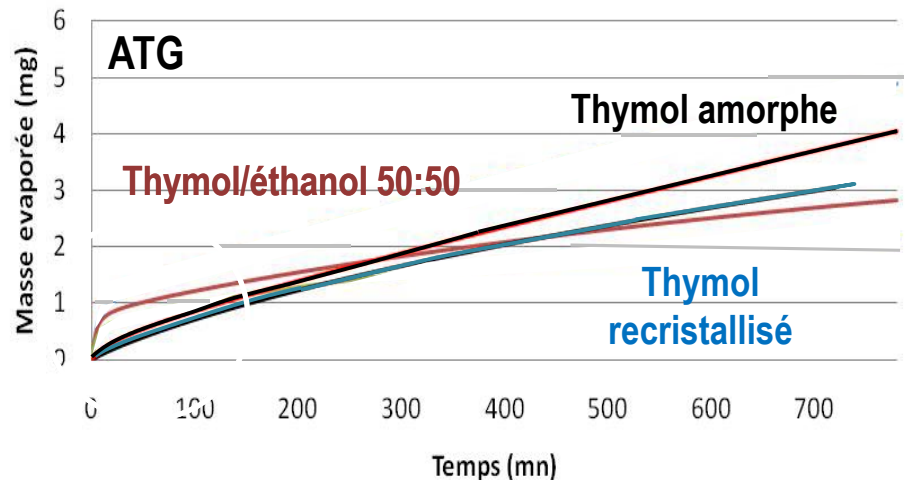
TAL



TAR

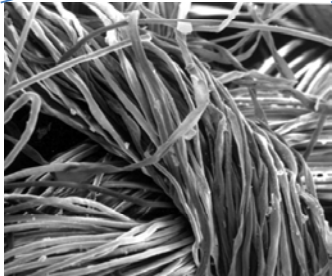


Efficacité moindre comparée à la technique conventionnelle : pourquoi ?



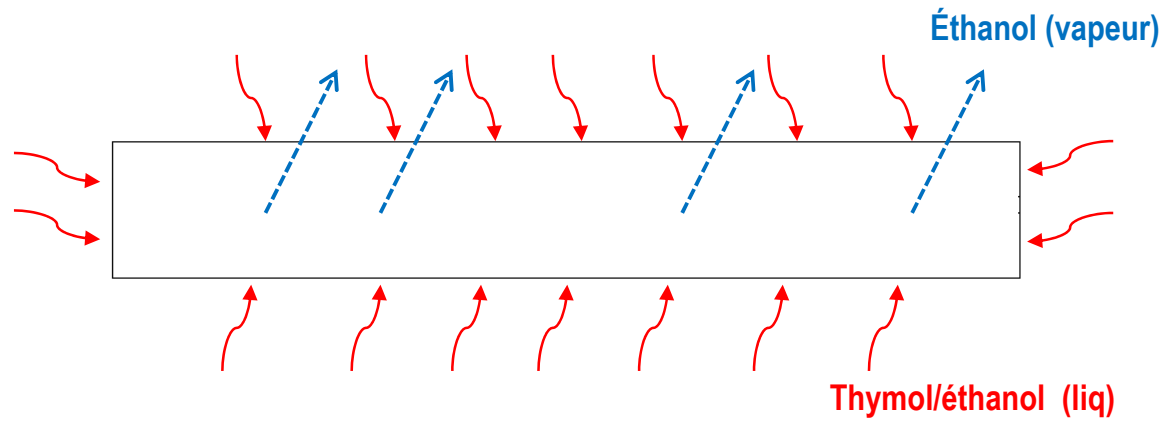


# Thymol/éthanol sur carton



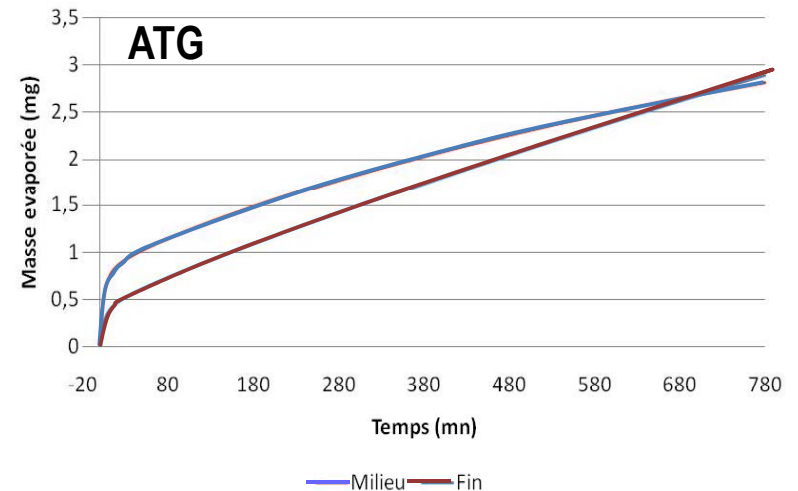
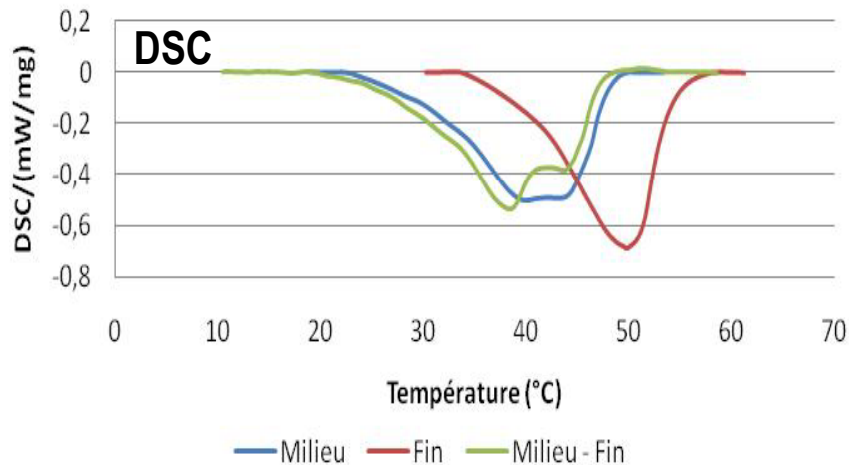
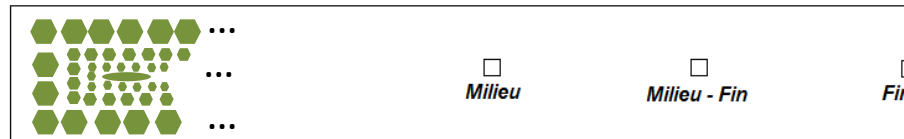


# Thymol/éthanol sur carton





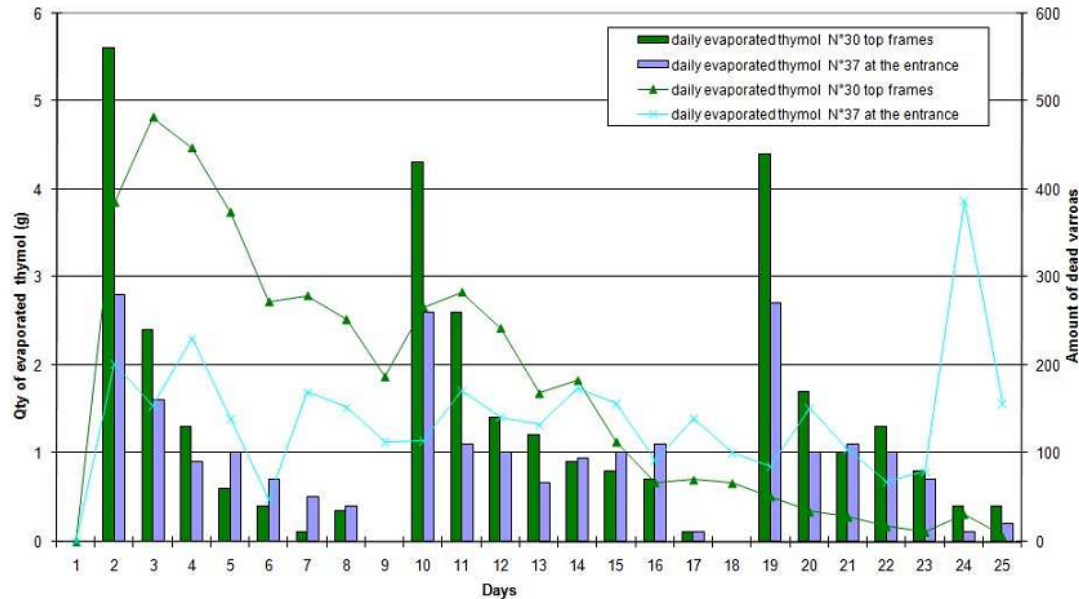
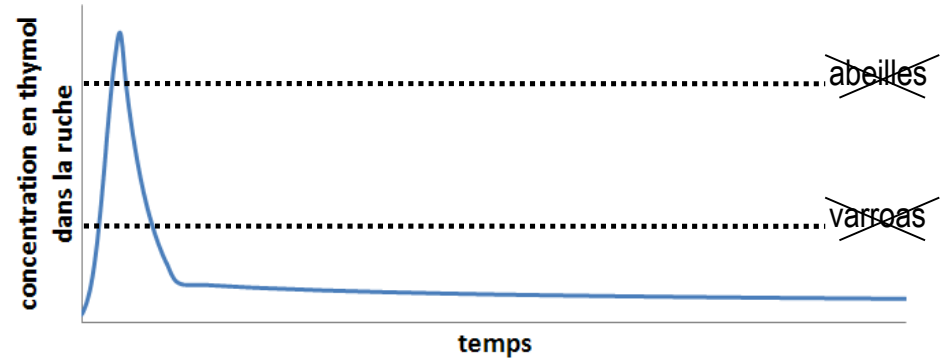
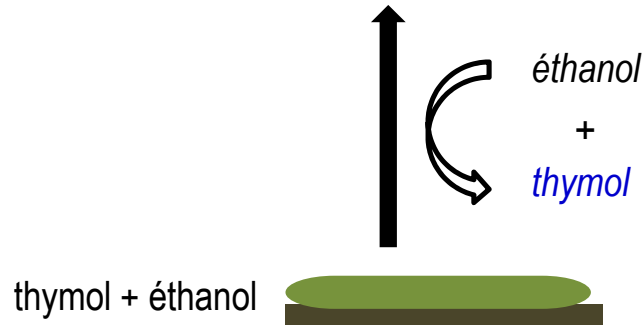
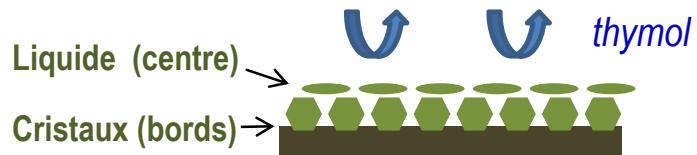
# Thymol/éthanol sur carton



Epaisseur du film recristallisé variable  $\Rightarrow$  Fusion large (entre 20 et 55°C)

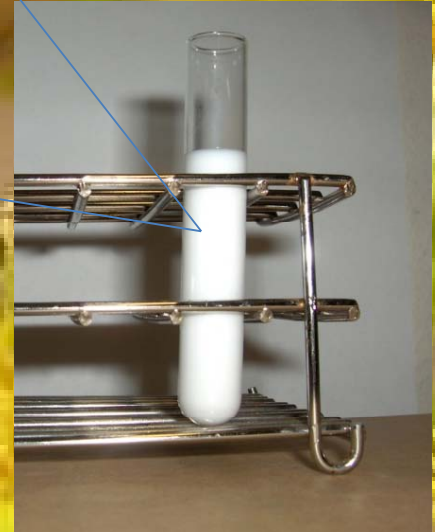
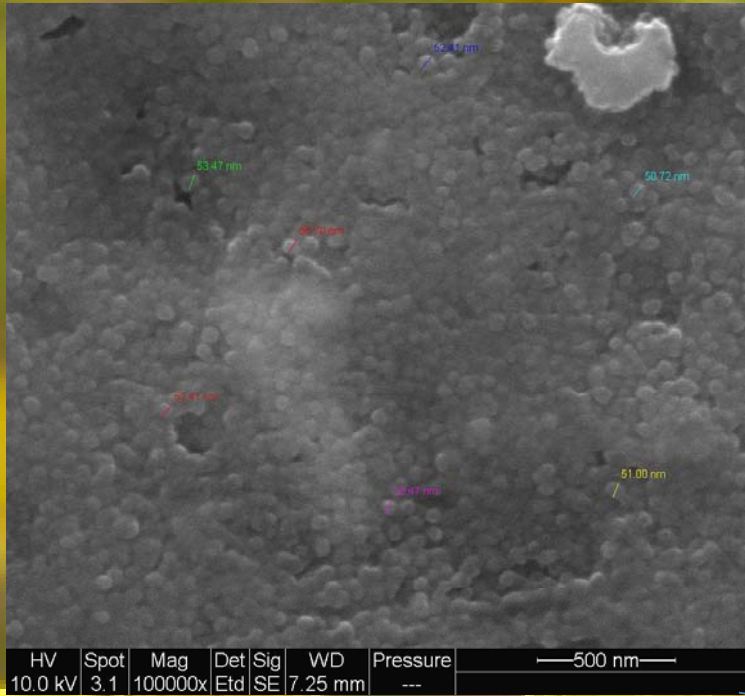


# Thymol/éthanol: effet « flash »





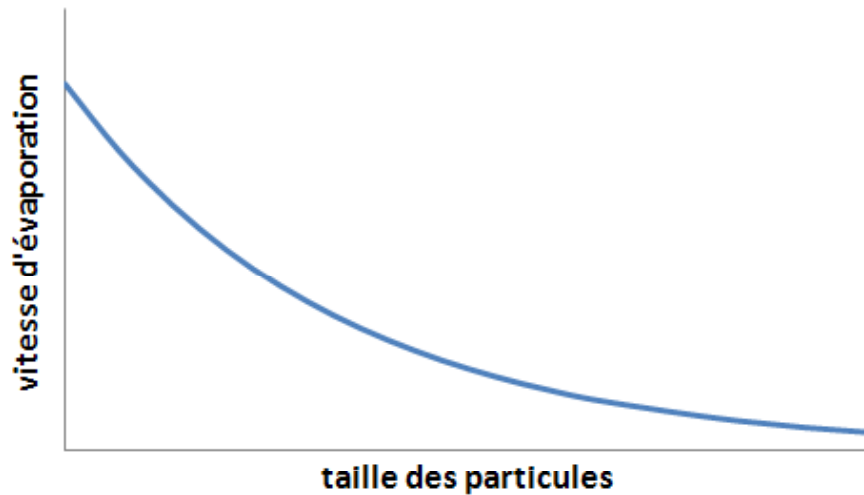
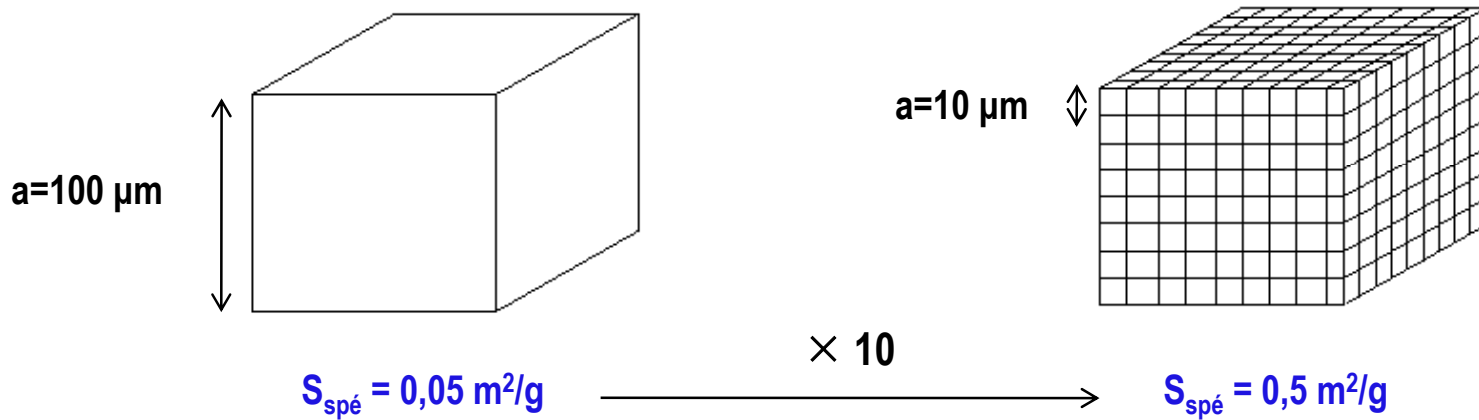
# Nouvelle piste: nanoparticules de thymol







# Surface spécifique



**Diminution de la taille des  
particules/gouttelettes**

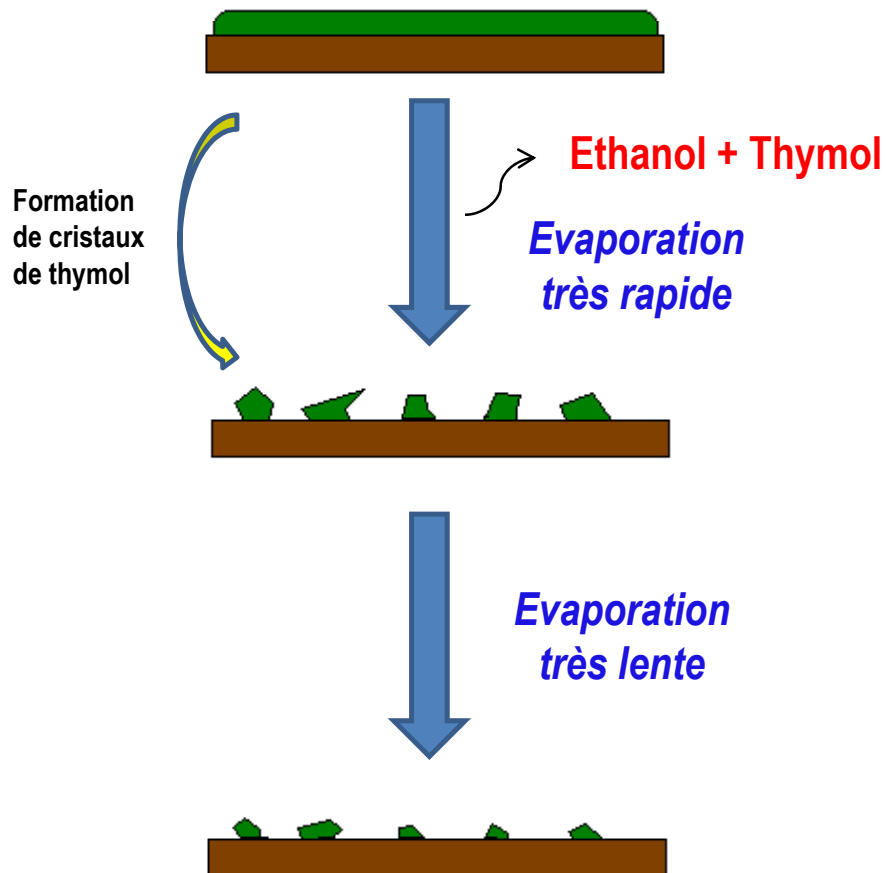


**Augmentation de la  
vitesse d'évaporation**

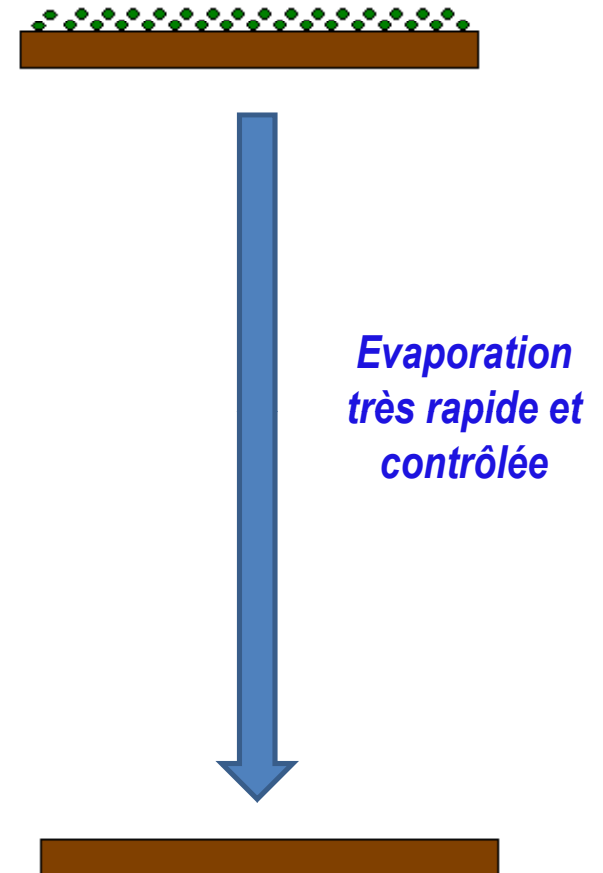


# Concept sur le traitement des ruches

## Méthode traditionnelle

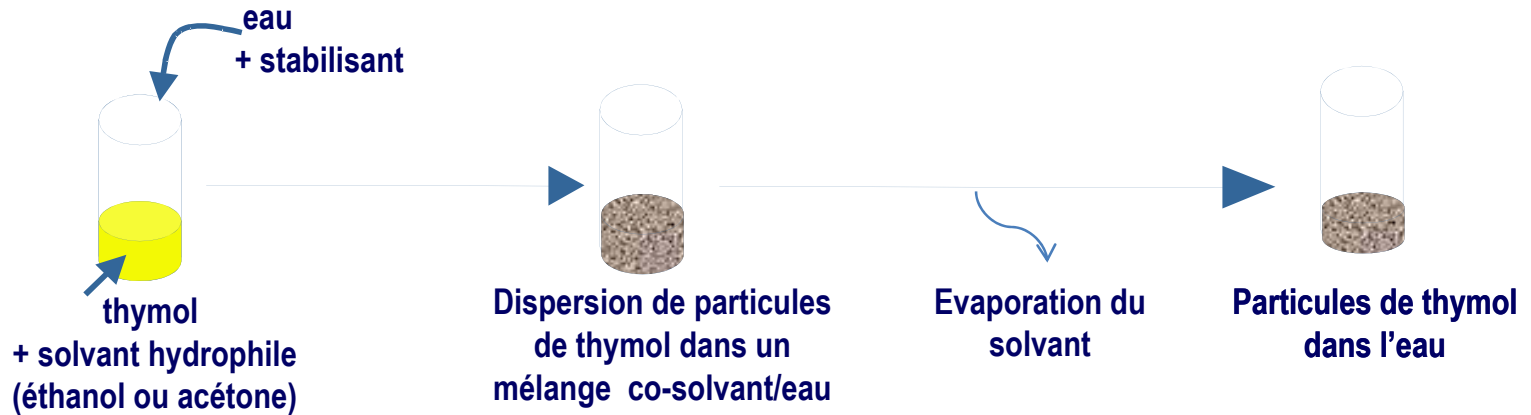


## Nanoparticules





# Emulsification spontanée par « effet Ouzo »



**Ouzo**  
(Grèce)



**Pastis**  
(France)



**Emulsion d'anéthole dans un mélange éthanol/eau**



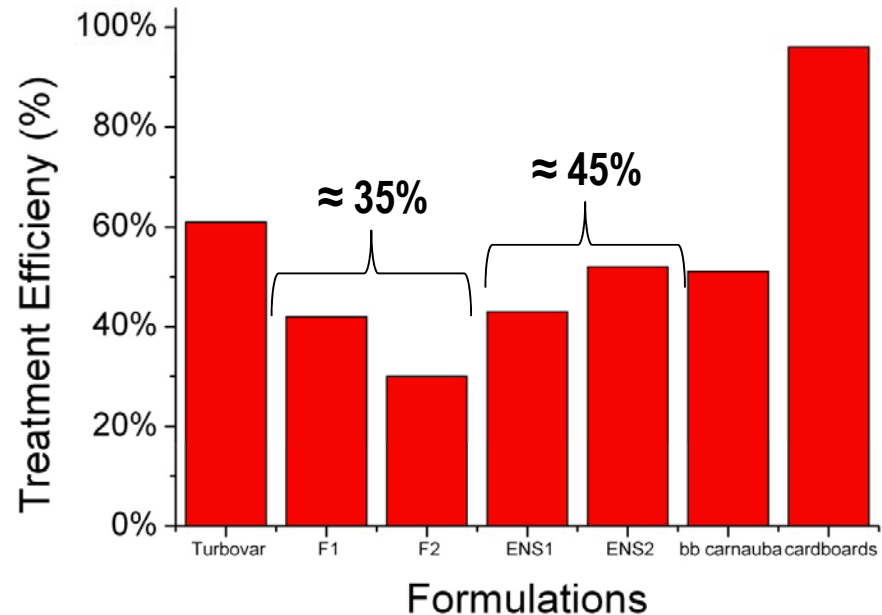
# Traitements des ruches par les émulsions

| Formulation | Stabilisant | Diamètre (μm) | administration                 |
|-------------|-------------|---------------|--------------------------------|
| F1          | Brij 56     | 0.6           | 0.8 g injectée par spray       |
| F2          | Brij 56     | 0.8           | 0.8 g injectée par spray       |
| ENS1        | Brij 56     | 0.26          | 1.2 g imprégnés sur une éponge |
| ENS2*       | Brij 56     | 0.3           | 1.2 g imprégnés sur une éponge |

*\* Coprécipitation avec un polymère*

## Autres traitements:

- ⇒ *Turbovar: vapeurs de thymol*
- ⇒ *Bb carnauba: spores de champignons*
- ⇒ *Cardboards: cartons éthanol /thymol*





# Conclusions

- ✓ La technique thymol/éthanol reste la plus efficace pour lutter contre Varroa à la fin de l'été
- ✓ Il est possible d'envisager des variations sur cette technique (ratio thymol:éthanol, forme du carton...)
- ✓ Emulsions trop peu concentrées jusqu'à aujourd'hui pour démontrer leur efficacité
- ✓ Les recherches s'orientent vers des formulations demandant des outils technologiques (sonification)



# Remerciements



***Pour le financement***



***Pour la collaboration***