

Le directeur général

Maisons-Alfort, le 1^{er} avril 2025

AVIS

de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail

relatif à « Analyse des résultats d'une étude exploratoire visant à mesurer la présence de nanoparticules dans des produits phytopharmaceutiques et des produits biocides et à proposer, le cas échéant, des mesures de gestion afin de protéger les populations et l'environnement potentiellement exposés »

L'Anses met en œuvre une expertise scientifique indépendante et pluraliste.

L'Anses contribue principalement à assurer la sécurité sanitaire dans les domaines de l'environnement, du travail et de l'alimentation et à évaluer les risques sanitaires qu'ils peuvent comporter.

Elle contribue également à assurer la protection de la santé et du bien-être des animaux et de la santé des végétaux, l'évaluation des propriétés nutritionnelles et fonctionnelles des aliments et, en évaluant l'impact des produits réglementés, la protection de l'environnement.

Elle fournit aux autorités compétentes toutes les informations sur ces risques ainsi que l'expertise et l'appui scientifique technique nécessaires à l'élaboration des dispositions législatives et réglementaires et à la mise en œuvre des mesures de gestion du risque (article L. 1313-1 du Code de la santé publique).

Ses avis sont publiés sur son site internet.

L'Anses s'est saisie le 09 avril 2024 pour analyser les résultats d'une étude exploratoire visant à mesurer la présence de nanoparticules dans des produits phytopharmaceutiques et des produits biocides et à proposer, le cas échéant, des mesures de gestion afin de protéger les populations et l'environnement potentiellement exposés. Des propositions d'évolutions réglementaires afin d'améliorer les méthodologies permettant de mieux caractériser les nanoparticules susceptibles d'être présentes dans les produits pourront également être formulées.

1. CONTEXTE ET OBJET DE LA SAISINE

Selon les recommandations de la Commission européenne du 10 juin 2022¹, on entend par « nanomatériau » un matériau naturel, formé accidentellement ou manufacturé, constitué de particules solides qui sont présentes soit individuellement soit en tant que particules constitutives identifiables dans des agrégats ou des agglomérats, 50 % au moins de ces particules, dans la répartition numérique par taille, répondant au moins à l'une des conditions suivantes:

- a) une ou plusieurs dimensions externes de la particule se situent dans la fourchette de 1 nm à 100 nm;
- b) la particule présente une forme allongée, telle que celle d'un bâtonnet, d'une fibre ou d'un tube, deux dimensions externes étant inférieures à 1 nm et l'autre dimension supérieure à 100 nm;
- c) la particule présente une forme de plaque, une dimension externe étant inférieure à 1 nm et les autres dimensions supérieures à 100 nm.

Pour déterminer la répartition numérique par taille des particules, il n'est pas nécessaire de prendre en considération les particules ayant au moins deux dimensions externes orthogonales supérieures à 100 µm. Un matériau présentant une surface spécifique en volume inférieure à 6 m²/cm³ n'est toutefois pas considéré comme un nanomatériau.

Il est à noter que dans l'avis de l'Anses d'avril 2023 « Définition des nanomatériaux : analyse, enjeux et controverses - Avis de l'Anses Rapport d'expertise collective »², l'Anses constate que la nouvelle recommandation s'avère plus restrictive et moins flexible que la précédente, ouvrant ainsi la voie à une régression potentielle de la protection de la santé publique et de la prévention des risques sanitaires et environnementaux liés aux nanomatériaux. Elle recommande de considérer dès à présent une définition élargie des nanomatériaux, plus englobante que l'actuelle recommandation européenne afin que les caractérisations de danger nanospécifiques concernent le plus grand nombre possible de nanomatériaux.

Dans le cadre de la gestion par l'Anses des déclarations annuelles des substances à l'état nanoparticulaire³, l'analyse de ces données montre que depuis l'entrée en vigueur du dispositif en 2013, de nombreux usages prévus en « Produits phytopharmaceutiques » ont été déclarés (déclarations pour lesquelles a été saisi le descripteur PC 27).

Afin d'analyser en détail ces éléments, des investigations complémentaires ont été menées par l'Anses :

- analyse en détail des déclarations qui mentionnent un usage prévu en produit phytopharmaceutique,

¹ Recommandation de la commission européenne du 10 juin 2022 relative à la définition des nanomatériaux (2022/C 229/01)

² <https://www.anses.fr/fr/system/files/AP2018SA0168Ra.pdf>

³ Déclaration des substances à l'état nanoparticulaires - <https://www.r-nano.fr/>

- courrier adressé aux principaux metteurs sur le marché afin de vérifier la présence de nanomatériaux dans leurs produits

Il en ressort que le motif de déclaration dans R-Nano est en quasi-exclusivité lié à la présence de co-formulants susceptibles d'être présents à l'état nanoparticulaire.

Suite à ce constat, l'Anses a commandité une étude exploratoire afin d'analyser des produits phytopharmaceutiques et biocides et de vérifier la présence potentielle de nanoparticules.

Les travaux de l'expertise ont pour objectif de répondre aux questions suivantes :

- 1) Analyser les résultats de l'étude exploratoire menée sur des produits phytopharmaceutiques et biocides.
- 2) En s'appuyant sur les résultats des analyses des produits, indiquer si les résultats obtenus sur les produits tels qu'ils sont vendus (forme non diluée) peuvent être extrapolés aux produits tels qu'ils sont utilisés (en général sous forme diluée) ou aux résidus après application.
- 3) En fonction des résultats de l'analyse conduite pour les deux premières questions, préciser si des mesures de gestion devraient être mises en œuvre pour les populations et l'environnement potentiellement exposés afin de réduire les expositions aux nanoparticules via l'utilisation et l'application des produits phytopharmaceutiques et biocides.
- 4) Afin d'améliorer la caractérisation de la distribution des particules présentes dans les produits, indiquer la nature des tests complémentaires qui pourraient être ajoutés aux exigences réglementaires. Le type des formulations devra être pris en compte.

2. ORGANISATION DE L'EXPERTISE

L'expertise a été réalisée dans le respect de la norme NF X 50-110 « Qualité en expertise – Prescriptions générales de compétence pour une expertise (Janvier 2024) ».

L'expertise relève du domaine de compétence des comités d'experts spécialisés (CES) « Substances et produits phytopharmaceutiques, biocontrôle » (CES pilote chargé de la validation des travaux), « Substances et produits biocides » et « Agents physiques et nouvelles technologies » (CES associés pour information et commentaires).

Elle a été instruite par la Direction d'Évaluation des Produits Réglementés (DEPR) par une équipe projet interne, composée d'agents de l'Unité Évaluation Physico-Chimie et Méthodes d'Analyses des produits réglementés (UPCMA), de l'Unité Évaluation de la Toxicologie des Intrants du Végétal (UETIV), de l'Unité Évaluation de la Toxicologie Biocides (UETB), de l'Unité Évaluation Écotoxicologie et Environnement des Intrants du Végétal (U3EIV), de l'Unité

Évaluation Écotoxicologie et Environnement Biocides REACH (U3EBR), de l'Unité Résidus et Sécurité des Aliments (URSA) et de la Cellule Veille et Développement Scientifiques (CVDS).

Les travaux ont été présentés aux CES tant sur les aspects méthodologiques que scientifiques entre juin 2024 et janvier 2025. Ils ont été adoptés par le CES « Substances et produits phytopharmaceutiques, biocontrôle » réuni le 14 janvier 2025.

L'Anses analyse les liens d'intérêts déclarés par les experts avant leur nomination et tout au long des travaux, afin d'éviter les risques de conflits d'intérêts au regard des points traités dans le cadre de l'expertise.

Les déclarations d'intérêts des experts sont publiées sur le site internet : <https://dpi.sante.gouv.fr/>.

3. ANALYSE ET CONCLUSIONS DES CES

3.1. Analyse de l'étude exploratoire

L'Anses a lancé un appel d'offre à marché public dont l'objet était une « Analyse, quantification et caractérisation en taille et en nombre des particules présentes dans des préparations phytopharmaceutiques et biocides ». Suite à cette consultation, l'offre proposée par le laboratoire national de métrologie et d'essais (LNE) a été retenue. Le LNE présente plus de 15 années d'expérience sur la métrologie et la caractérisation des nanomatériaux et dispose de nombreux équipements de pointe complémentaires et de plateforme pour étudier les propriétés des nanomatériaux.

3.1.1. Méthodologie

L'objectif de cette étude exploratoire est de déterminer la présence potentielle de particules nanométriques⁴ dans des produits phytopharmaceutiques et des produits biocides. La quantification des particules **primaires**⁵ et leur nature chimique dans les produits testés ne rentrent pas dans le cadre de cette étude. En effet, les produits testés présentent pour la plupart

⁴ Particule dont l'une des dimensions est inférieure à 100 nm.

⁵ Les particules primaires constituent les formes initiales (isolées) à partir desquelles un matériau est assemblé. Celles-ci peuvent différer des particules constitutives, c'est-à-dire morphologiquement identifiables à l'intérieur d'un matériau sous forme d'agrégats ou d'agglomérats.

des compositions très complexes comprenant plusieurs co-formulants⁶ (2 à 17 par produit) qui peuvent, eux-mêmes, être composés de plusieurs constituants. Cette complexité des formulations augmente la difficulté dans l'analyse des particules primaires présentes dans les produits et nécessiterait une analyse plus approfondie. Par ailleurs, les techniques employées pour la mesure des distributions de particules ne permettent pas d'atteindre les particules primaires et peuvent entraîner une modification de l'état physique des particules lors de la préparation et l'analyse des échantillons. De plus, les analyses réalisées sur les produits solides ciblent les particules de tailles comprises entre 20 nm à 570 nm et de 1 à 20 µm, ce qui ne couvre pas l'ensemble des particules présentes dans les produits. Par conséquent, les proportions indiquées dans le rapport du LNE annexé à cet avis sont indicatives mais ne peuvent être prise en compte dans une analyse quantitative des résultats.

Les produits phytopharmaceutiques sélectionnés pour cette étude correspondent principalement à des produits contenant des co-formulants constitués d'argile ou de silice, majoritairement retrouvés dans les déclarations R-Nano. De plus, ces produits ont été également sélectionnés car ils contiennent les substances actives dont les tonnages vendus en France sont parmi les plus élevés. Les compositions détaillées des produits phytopharmaceutiques testés ont été soumises dans les dossiers de demande d'autorisation de mise sur le marché des produits.

L'étude inclut également des produits biocides susceptibles de contenir des co-formulants ou des substances actives sous forme nano-particulaire. Les produits biocides retenus dans cette étude n'ont pas encore fait l'objet d'une évaluation et restent commercialisables selon un « régime transitoire » qui est prévu par le règlement (UE) n° 528/2012. En effet, certains produits biocides contiennent des substances actives qui sont en cours d'évaluation au niveau européen. Ces produits n'ont pas encore d'autorisation de mise à disposition sur le marché selon le règlement. Les compositions détaillées des produits n'ont donc pas été soumises à l'Anses.

Parmi l'ensemble des produits, deux grands types de produits ont été testés : des produits solides sous forme de poudre (WP : wetable powder/poudre mouillable et DP : dustable powder/poudre pour poudrage) et des produits liquides sous forme de suspension (SC : suspension concentrée/suspension concentrée et CS : capsule suspension/suspension de capsules). Concernant les produits sous forme de suspension de capsules, il est à noter que les capsules sont composées d'une « coque » polymérique contenant une solution plus moins visqueuse composée de la/les substance(s) active(s) et de co-formulant(s). Une fois appliquée(s), la/les substance(s) active(s) diffuse(nt) au travers de la coque.

⁶ Les co-formulants sont définis dans le document « Definitions and functions of co-formulants in biocidal products », CG 45, février 2021 comme des substances ou des préparations chimiques non-actives qui sont ajoutés intentionnellement aux produits.

Les co-formulants sont décrits à l'article 2, paragraphe 3, point c), du règlement (CE) N° 1107/2009 comme étant les substances ou préparations qui sont utilisées ou destinées à être utilisées dans un produit phytopharmaceutique ou un adjuvant, mais qui ne sont ni des substances actives ni des phytoprotecteurs ou synergistes.

Plus particulièrement, les produits suivants ont été testés :

- Produits phytopharmaceutiques WP : 4 produits à base de composés de cuivre, 4 produits à base de microorganismes, 2 produits contenant plusieurs substances actives (mancozèbe, fosetyl, cymoxanil et composés de cuivre) et 1 produit à base d'hydrogénocarbonate de potassium ;
- Produits phytopharmaceutiques DP : 4 produits à base de soufre ;
- Produits phytopharmaceutiques CS : 5 produits à base de plusieurs substances actives (lambda-cyhalothrine, clomazone, géraniol, thymol, eugénol, clomazone, métazachlore et flurochloridone) ;
- Produits phytopharmaceutiques SC : 3 produits à base de plusieurs substances actives (chlorothalonil, cymoxanil, chloroturon et isoxabène) ;
- Produits biocides : 10 produits à base de plusieurs substances actives : silice, géraniol, extrait de pyrèthre et extrait de margosa.

Les techniques analytiques mises en œuvre ont été choisies en fonction de leur domaine d'applicabilité en termes de gamme de tailles de particules mesurées et du type d'échantillon analysable.

Pour les produits solides, la technique par SMPS (Scanning Mobility Particle Sizer/Spectromètre de mobilité électrique) couplée à l'APS (Aerodynamic Particle Sizer/Détecteur de particules aérodynamique) a été choisie afin de mesurer la distribution en nombre des tailles de particules (particle number size distribution : PNSD) de 20 à 570 nm selon un diamètre de mobilité électrique et de 1 à 20 µm selon un diamètre aérodynamique. La distribution de la taille des particules en nombre est obtenue à l'aide d'un compteur de particules (CDC : compteur de particules par condensation/condensation particle counter). Les distributions de taille de particules en nombre ont été normalisées en fonction du nombre total de particules mesurées par SMPS et APS afin d'obtenir une échelle en nombre comparables.

Ces techniques nécessitent la mise en suspension dans l'air sous forme d'aérosol des échantillons pour leur analyse. Cette mise en suspension expérimentale peut induire la formation d'agrégats⁷ et d'agglomérats⁸ ou défaire ceux déjà présents.

Pour les produits liquides, les produits testés étant très concentrés, la technique par DLS (Dynamic light scattering/Diffusion dynamique de lumière) initialement retenue n'a pas pu être utilisée. En effet, la concentration importante en particules des produits entraîne une opacité des produits qui ne permet pas une analyse par DLS. La technique SEM (Scanning electron microscopy/Microscopie électronique à balayage) couplée à un détecteur EDX (Energy dispersive X Ray/Analyse dispersive en énergie d'émission RX) a été proposée par le

⁷ Agrégat : ensemble de particules comprenant des particules fortement liées ou fusionnées dont l'aire de la surface externe résultante peut être significativement plus petite que la somme des aires de surface calculées de chacun des composants (ISO/TS 80004-2:2015).

⁸ Agglomérat : ensemble de particules faiblement liées, d'agrégats ou mélange des deux dont l'aire de la surface externe résultante est similaire à la somme des aires de surface de chacun des composants (ISO/TS 80004-2:2015).

laboratoire comme une technique alternative plus adaptée à ce type d'échantillon. Les échantillons étant très concentrés, une préparation préalable des échantillons a été réalisée. Pour les produits liquides, seules les particules inférieures à 100 nm ont été recherchées et identifiées. Une distribution de taille de particules a été réalisée pour chaque particule identifiée sur l'ensemble de l'échantillon testé.

Le laboratoire a réalisé l'ensemble des analyses sans connaître les compositions détaillées des produits testés.

3.1.2. Résultats

Produits phytopharmaceutiques : poudres mouillables (WP)

Les produits sous forme de WP sont des produits à diluer dans l'eau avant leur utilisation. Ces produits dilués sont pulvérisés lors de l'application sur les cultures. Les concentrations d'usage (concentration du produit dilué prêt à être utilisé) dépendent des cultures/usages ciblés et des compositions des produits. Par conséquent, afin de pouvoir comparer les différents produits entre eux, les analyses ont été réalisées sur les produits non dilués, tels qu'ils sont vendus.

Les distributions de la taille des particules obtenues dans la gamme de taille de 20 à 570 nm montrent la présence de deux groupes de produits. Les distributions de particules obtenues par SMPS et APS sont présentées ci-dessous (figures 1 et 2).

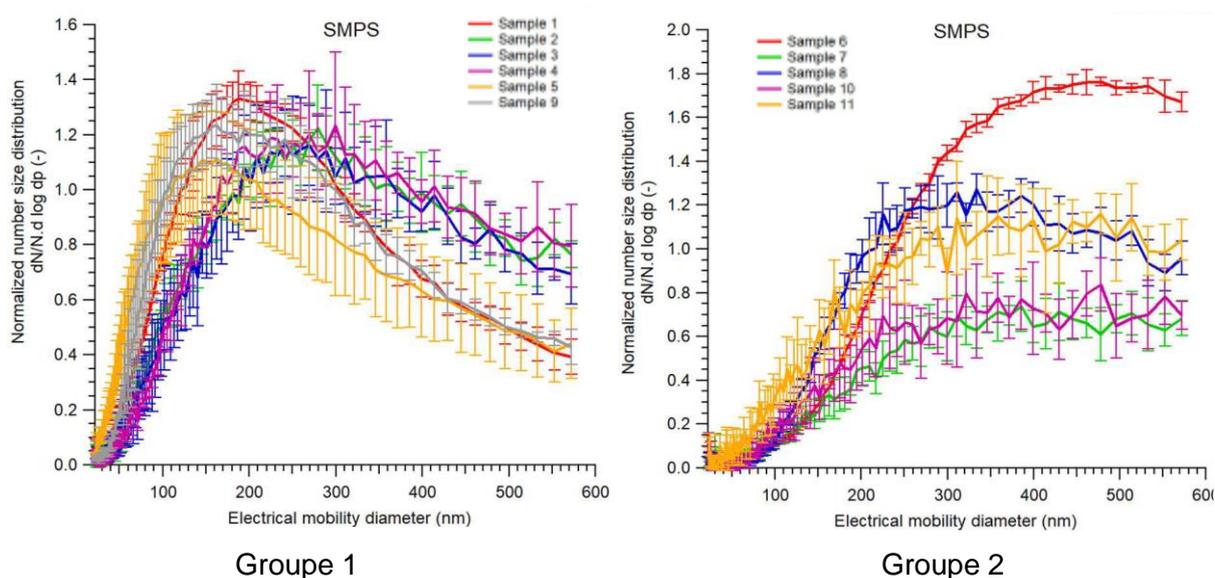


Figure 1 : Distributions de la taille des particules obtenues par SMPS des poudres mouillables

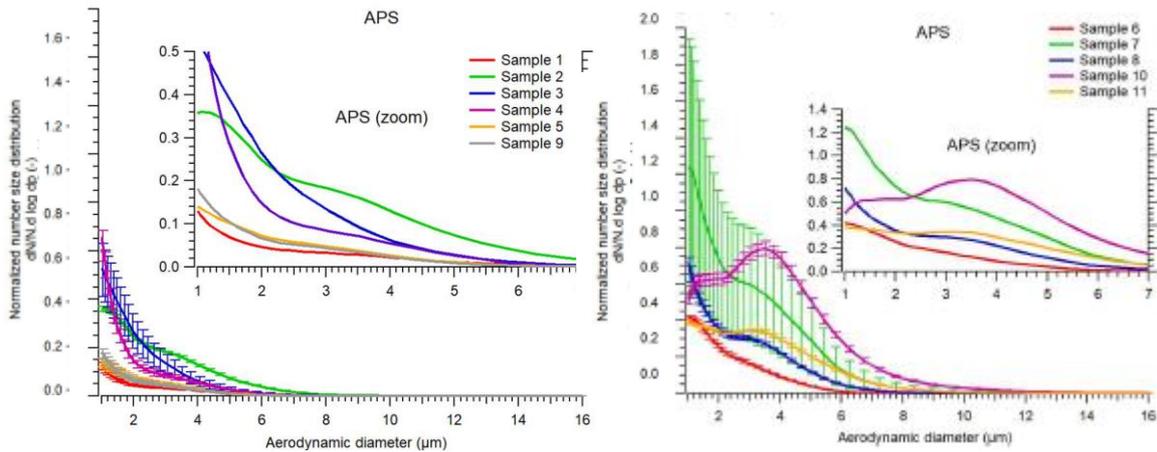


Figure 2 : Distributions de la taille des particules obtenues par APS des poudres mouillables

Les résultats détaillés pour chaque échantillon de produit sont présentés dans le tableau 1 ci-dessous.

Tableau 1. Distributions des particules obtenues par SPMS et APS pour les produits WP

N° groupe	Numéro d'échantillon	Diamètre médian SMPS (20 nm – 570 nm)	Diamètre médian APS (1 µm – 20 µm)
1	1	183 nm	1.5 µm
	2	227 nm	1.7 µm
	3	219 nm	1.4 µm
	4	227 nm	1.3 µm
	5	151 nm	1.5 µm
	9	172 nm	1.4 µm
2	6	336 nm	1.5 µm
	7	289 nm	1.7 µm
	8	283 nm	1.7 µm
	10	276 nm	2.6 µm
	11	265 nm	2.2 µm

Dans le groupe 1, les 6 produits présentent une distribution de particules comparable pour la gamme de tailles comprise entre 20 nm et 570 nm. L'ensemble des produits contiennent de l'argile ou du kaolin en tant qu'agent de charge et du cuivre à l'exception d'un produit qui ne contient pas de cuivre (échantillon n°5). Ces particules pourraient correspondre à ces constituants mais il est impossible de l'affirmer au regard des méthodes mises en œuvre (hypothèse Anses).

Dans le groupe 2, les 5 produits présentent une distribution de particules comparable pour la gamme de tailles comprise entre 20 nm et 570 nm bien que l'échantillon 6 présente un nombre de particules de taille supérieure à 300 nm légèrement plus important que les autres produits du groupe, néanmoins la forme globale de la distribution est similaire aux autres échantillons.

L'ensemble des produits contiennent de l'argile ou du kaolin en tant que charge et des microorganismes en tant que substances actives à l'exception d'un produit qui contient de l'hydrogénocarbonate de potassium (échantillon n°11). Les bactéries ou spores présentent classiquement une taille supérieure à 500 nm. Comme pour le groupe 1, les particules mesurées pourraient être issues des agents de charges présentes dans les produits et/ou à l'hydrogénocarbonate de potassium pour un des produits.

Les résultats (figure 1) montrent pour les deux groupes la présence de particules de taille inférieure à 100 nm.

Produits phytopharmaceutiques : poudres pour poudrage (DP)

Les produits sous forme de DP sont des produits utilisés sans dilution préalable. Le poudrage de ces produits est assuré à l'aide d'un flux d'air. Dans l'étude, les analyses ont été réalisées sur des produits tels qu'ils sont vendus afin de pouvoir comparer les produits entre eux. Les distributions de taille des particules obtenues dans la gamme allant de 20 -570 nm montrent la présence de 2 groupes de produits. Les distributions de particules obtenues par SMPS et APS sont présentées ci-dessous. Il faut souligner que les groupes présentés ici sont différents de ceux présentés dans le rapport du LNE. En effet, il est considéré que l'échantillon n°12 (groupe 2) ne présente pas la même forme de distribution que le groupe 1.

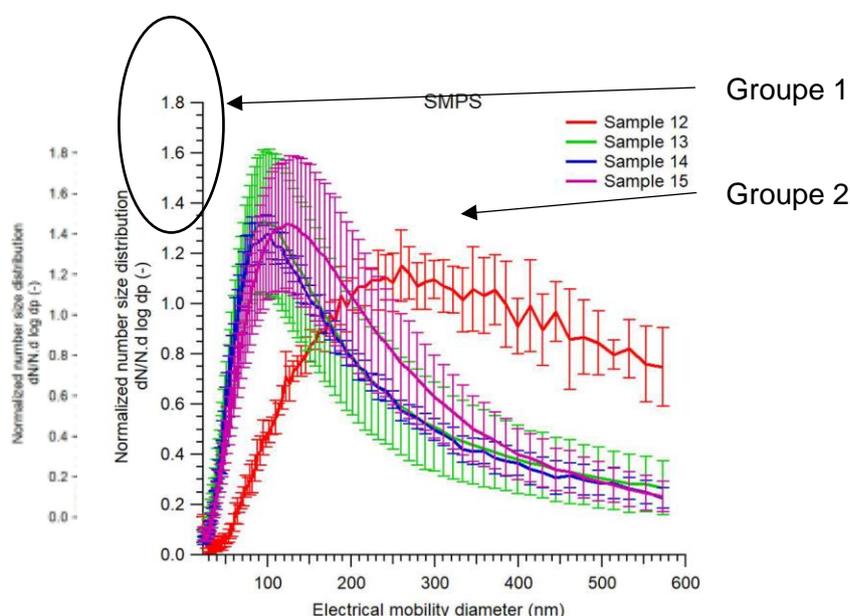


Figure 3 : Distributions de la taille des particules obtenues par SMPS des produits DP

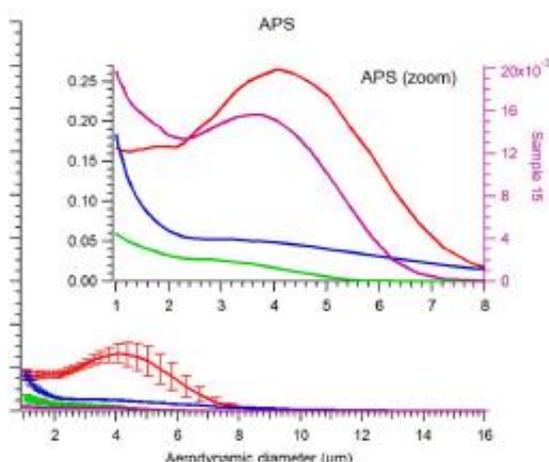


Figure 4 : Distributions de la taille des particules obtenues par APS des produits DP

Les résultats détaillés pour chaque échantillon de produit sont présentés dans le tableau 2 ci-dessous.

Tableau 2. Distributions des particules obtenues par SPMS et APS pour les produits DP

N° groupe	Numéro d'échantillon	Diamètre médian SMPS (20 nm – 570 nm)	Diamètre médian APS (1 µm – 20 µm)
1	13	111 nm	1.7 µm
	14	113 nm	1.8 µm
	15	127 nm	2.1 µm
2	12	221 nm	2.7 µm

Les produits du groupe 1 présentent une distribution comparable pour les particules comprises entre 20 nm et 570 nm. Le produit du groupe 2 présente une distribution différente avec un nombre de particules inférieur à 100 nm plus faible que pour le groupe 1 et un nombre de particules supérieur à 1 µm plus important.

Les produits DP testés ne comprennent que peu de co-formulants contrairement aux autres types de produits. Il est raisonnable de considérer que les particules mesurées correspondent, par conséquent, en grande majorité à des particules de substance active : le soufre. La différence de distribution entre les groupes 1 et 2 est donc probablement associée au procédé de production de la substance active.

L'ensemble des produits contiennent des particules de taille inférieure à 100 nm.

Produits biocides : poudre pour poudrage ou poudre sous forme d'aérosol

Les produits biocides testés sont pour la plupart des produits « prêt à l'emploi » utilisés sous forme d'aérosol ou de poudre pour poudrage. Les analyses ont donc été faites sur les produits tels qu'ils sont appliqués sans dilution ni utilisation d'un appareillage.

Les résultats des distributions de taille de particules obtenues par SMPS montrent la présence de 4 groupes de produits. Les distributions de particules sont présentées ci-dessous (figure 5). Les groupes présentés ici sont différents de ceux du rapport du LNE. En effet, les 2 produits identifiés dans le groupe 2 par le LNE ne sont pas considérés, ici, comme présentant une distribution de particules similaire.

Pour les groupes 2 et 2 bis, les distributions de particules obtenues par SMPS et APS sont présentées ci-dessous.

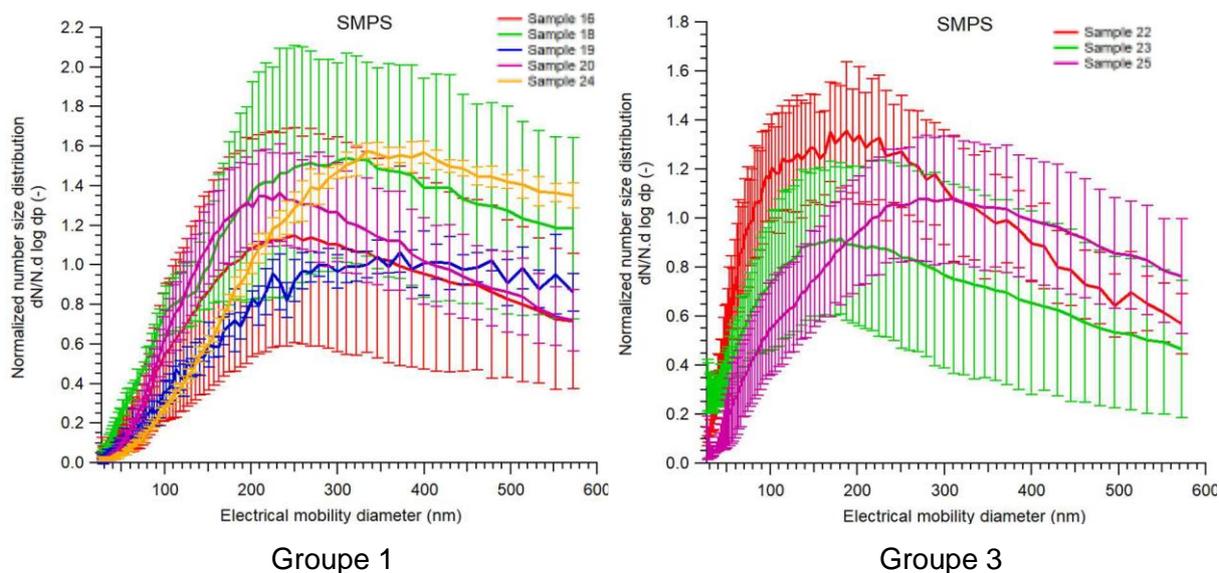


Figure 5 : Distributions de taille des particules obtenues par SMPS des produits biocides groupes 1 et 3

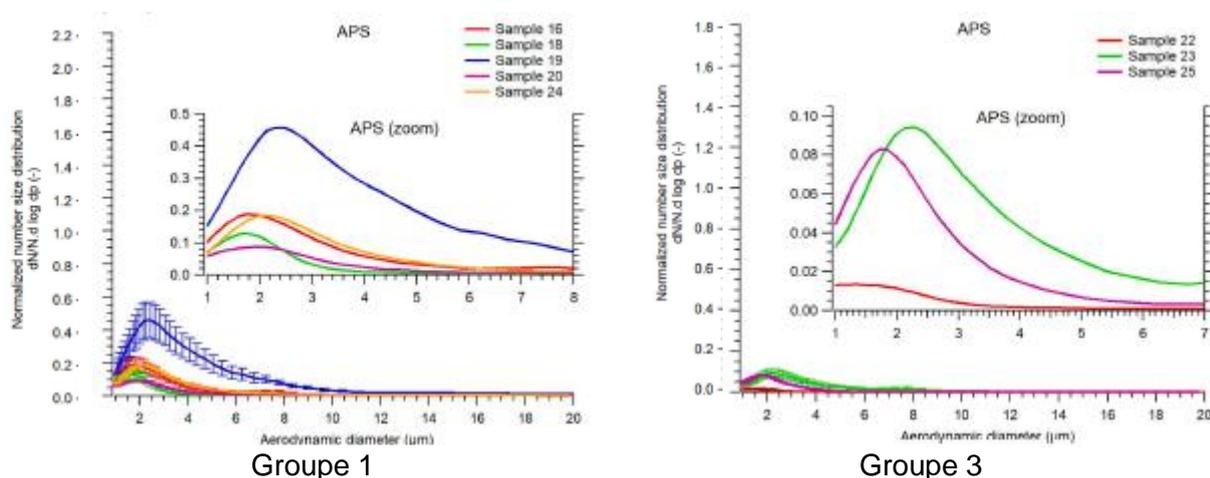
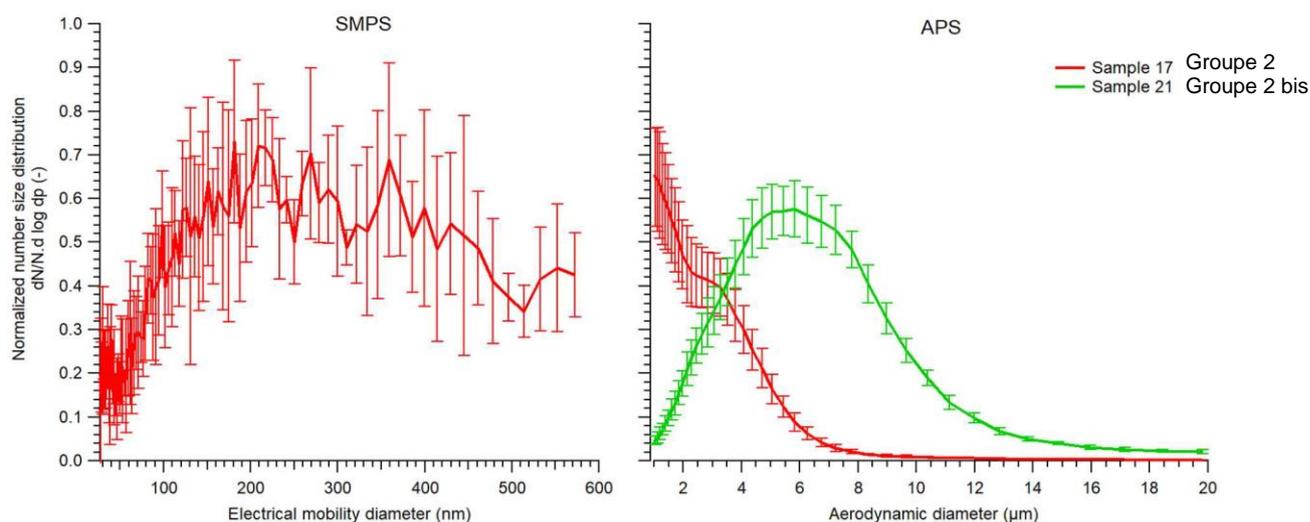


Figure 6 : Distributions de taille des particules obtenues par APS des produits biocides groupes 1 et 3



Groupe 2 et 2bis

Figure 7 : Distributions de taille des particules obtenues par SMPS et APS des produits biocides groupe 2 et 2bis

Les résultats sont présentés dans le tableau 3 ci-dessous.

Tableau 3. Distributions des particules obtenues par SPMS et APS pour les biocides

N° groupe	Numéro d'échantillon	Diamètre médian SMPS (20 nm – 570 nm)	Diamètre médian APS (1 µm – 20 µm)
1	16	208 nm	1.9 µm
	18	218 nm	1.7 µm
	19	251 nm	2.6 µm
	20	215 nm	1.9 µm
	24	289 nm	2.1 µm
2	17	157 nm	1.8 µm
2bis	21	/	4.5 µm
3	22	152 nm	11.5 µm
	23	135 nm	2.2 µm
	25	189 nm	1.8 µm

Les produits du groupe 1 présentent une distribution de taille de particules comparable pour les particules inférieures à 570 nm. L'ensemble des produits de ce groupe est constitué notamment de silice ou de terre de diatomée composée d'exosquelettes siliceux.

Le produit du groupe 2 présente une distribution de taille de particules plus faible pour les particules inférieures à 570 nm en comparaison avec le groupe 1. Le produit du groupe 2 est un produit à base d'extrait de pyrèthre. La présence de particules inférieures à 100 nm s'explique probablement par la présence d'agent de charge tel que de l'argile dans ce produit, cependant

cette hypothèse ne peut être vérifiée en l'absence de la connaissance de la composition détaillée du produit.

Le produit du groupe 2bis ne contient pas de particules inférieures à 570 nm.

Enfin, les produits du groupe 3 présentent une distribution de taille de particules comparable pour les particules inférieures à 570 nm. Deux des trois produits sont composés essentiellement de terre de diatomées alors qu'un des produits contient du géranol comme substance active. La présence de particules inférieures à 100 nm dans ce dernier s'explique probablement par la présence d'agent de charge.

L'ensemble des produits biocides testés contient des particules inférieures à 100 nm à l'exception d'un produit.

Produits phytopharmaceutiques : suspension concentrée (SC)

Les produits testés sont des produits à diluer avant emploi. Une fois dilués, les produits sont pulvérisés. L'analyse de la distribution des particules a été faite sur les produits tels que vendus afin de pouvoir comparer les produits entre eux. Ces produits sont très concentrés en particules, par conséquent une préparation préalable des échantillons a dû être réalisée avant chaque analyse. Cette préparation des échantillons consiste en une dilution et/ou un lavage des échantillons avant analyse. Celle-ci peut entraîner la formation d'agrégats/agglomérats ou défaire ceux déjà présents. Les protocoles de préparation des échantillons sont normalisés.

La technique analytique utilisée est le SEM couplée à une sonde EDX. Cette technique permet d'atteindre la distribution des particules présentant la même composition chimique élémentaire. Les distributions mesurées ne portent donc pas sur l'ensemble des particules présentes dans l'échantillon.

Trois produits ont été analysés contenant chacun 1 à 2 substances actives. Pour ces 3 produits, les analyses ont mis en évidence la présence d'agglomérats/agrégats présentant au moins une dimension de taille nanométrique. L'analyse EDX de ces particules montre la présence majoritaire de carbone et d'oxygène. Les tailles médianes des particules analysées pour les 3 produits sont : 22,7 ; 23,4 et 33,3 nm pour 100 particules mesurées.

La présence de chlore et d'azote a été également détectée en faible quantité dans certains agglomérats/agrégats indiquant la présence de certaines substances actives.

Pour 2 des produits testés, des fibres de taille nanométrique ont été détectées. L'analyse EDX de ces fibres a montré la présence de silicate de magnésium et d'aluminium sous forme de sépiolite et d'halloysite.

Les compositions détaillées fournies dans les dossiers d'AMM indiquent que seules les substances actives et leurs impuretés sont sous forme solide dans les 3 produits. Les autres co-formulants sont solubles dans l'eau. La présence des agglomérats/agrégats contenant principalement du carbone et de l'oxygène et des fibres de sépiolite/halloysite n'est pas identifiée dans les compositions détaillées des produits.

Sur la base des résultats, les 3 produits contiennent des particules de taille inférieure à 100 nm.

Produits phytopharmaceutiques : suspension de capsules (CS)

Les produits testés sont des produits à diluer avant emploi. Une fois dilués, les produits sont pulvérisés. L'analyse de la distribution des particules a été faite sur les produits tels que vendus avant dilution afin de pouvoir les comparer entre eux. Ces produits sont très concentrés en particules, par conséquent une préparation préalable des échantillons a dû être réalisée avant chaque analyse. Par ailleurs l'analyse par SEM des échantillons nécessite une mise sous vide des échantillons. Dans le cas des produits sous forme de capsule, cette étape apparaît critique. En effet, les produits contiennent des capsules en polymère qui contiennent les substances actives diluées dans un solvant. Lors de la mise sous vide, les capsules polymériques peuvent éclater et les solvants s'évaporer modifiant ainsi l'état physique des composés présents dans les capsules.

Cinq produits ont été analysés contenant chacun une à trois substances actives encapsulées. Pour l'ensemble des produits, les particules observées correspondent principalement à des particules présentes dans les capsules. Par conséquent, sans une identification précise des particules, il est difficile de se prononcer sur la présence réelle sous forme de particule solide de ces composés dans le produit avant analyse. En effet, il est possible que la mise sous vide des échantillons ait entraîné la cristallisation de ces molécules qui étaient initialement diluées dans un solvant.

Néanmoins, pour deux produits, des particules de fer et de dioxyde de titane (TiO_2) ont été détectées. Aucune distribution de la taille des particules n'a pu être faite car le nombre de particules présentes était trop faible. Cependant, les particules observées présentent toutes une taille inférieure à 100 nm.

La présence de dioxyde de titane est indiquée dans la composition intégrale d'un des produits testés. Il est à noter que le dioxyde de titane est ajouté en tant que colorant à une teneur supérieure à 1 g/L dans le produit. Le nombre de particules sous forme nanométriques de TiO_2 présentes dans l'échantillon testé n'étant pas suffisant pour établir une distribution (moins de 150 particules), il peut être considéré que la majorité des particules de TiO_2 présentes dans le produit n'ont pas une taille nanométrique (c'est-à-dire au moins une dimension inférieure à 100 nm). Par contre, la présence en faible quantité de fer n'est pas reportée dans la composition intégrale. Le fer pourrait être une impureté des co-formulants présents dans le produit.

Par ailleurs, dans certains produits des fibres de sépiolite/halloysite ont également été mesurées avec une taille médiane de 24.9 et 22.1 nm. La présence de ces particules est confirmée sur la base des compositions détaillées des produits qui contiennent des agents de charge de ce type.

3.1.3. Conclusion

Les produits phytopharmaceutiques solides et liquides sous forme de suspension concentrée ainsi que les produits biocides solides testés, à l'exception d'un produit biocide, contiennent des particules de taille inférieure à 100 nm. La proportion des particules est très variable en fonction du type de produits et de leurs compositions.

Concernant les produits phytopharmaceutiques sous forme de suspension de capsules, il est difficile de conclure de façon générale sur la présence de particules de taille inférieure à 100 nm. En effet, les conditions de préparation des échantillons ont probablement modifié l'état physique des capsules présentes dans les produits testés. Cependant, la présence de particules de taille inférieure à 100 nm a été détectée dans certains produits mais dans des proportions trop faibles pour établir une distribution des valeurs de la taille des particules observées dans les échantillons testés.

Il est à noter que, pour les produits solides, les techniques employées pour la mesure des distributions de particules ne permettent pas d'atteindre les particules primaires et ne couvrent pas l'ensemble des tailles des particules présentes dans les produits (limité à 20 – 570 nm et 1 - 20 µm). Par conséquent, les proportions reportées dans le rapport du LNE annexé à cet avis n'ont pas été prises en compte pour une analyse quantitative des résultats. Pour les produits liquides, aucune distribution n'a pu être réalisée sur l'ensemble des particules car la technique employée permet uniquement de réaliser une distribution sur des particules de même nature chimique.

3.2. Extrapolation des résultats des analyses des produits tels qu'ils sont vendus (forme non diluée) aux produits tels qu'ils sont utilisés (en général sous forme diluée) ou aux résidus après application

Parmi les produits phytopharmaceutiques testés, les produits de type WP, SC et CS sont des produits à diluer avant utilisation. Leurs concentrations diluées dans l'eau sont comprises entre 0.005 – 5% masse/volume en fonction des cultures et des usages ciblés. La dilution des produits se fait sous agitation permanente conformément aux bonnes pratiques agricoles. Une fois la solution obtenue, celle-ci est ensuite pulvérisée sous pression à l'aide d'un appareillage adapté. Lors de la pulvérisation et une fois sur les cultures, certaines substances présentes dans les gouttelettes peuvent s'évaporer, les autres substances restant sous forme de résidus notamment sur les plantes et le sol.

Par conséquent, les caractéristiques des particules mesurées dans les produits avant dilution peuvent être modifiées lors de ces différentes étapes. Dans les produits testés, les particules sont sous forme de particules primaires, d'agglomérats de particules primaires/agrégats ou d'agréats de particules primaires. Lors de l'utilisation de ces produits, les particules primaires peuvent s'agglomérer/s'agréger et les agglomérats se désagréger. Les agrégats présentant des liaisons plus fortes entre les particules, la probabilité de séparation des particules contenues dans les agrégats est faible. Ces phénomènes sont associés au mouvement des fluides, à la diffusion brownienne des particules ainsi que la chimie de la solution.

Par conséquent, les résultats obtenus pour les produits tels que commercialisés ne sont pas considérés extrapolables aux résidus de ces produits pendant et après application.

Concernant les produits phytopharmaceutiques de type DP, ceux-ci ne sont pas dilués avant leur utilisation. Cependant, ils sont appliqués à l'aide d'un appareillage de poudrage par impulsion d'air. Comme pour les produits à diluer, lors de l'application, la forme des particules présentes pourrait être modifiée. Par conséquent, les résultats obtenus pour les produits tels

que commercialisés ne sont pas directement extrapolables aux résidus de ces produits pendant et après application.

Enfin, les produits biocides testés sont des produits prêts à l'emploi. Néanmoins, certains produits peuvent être appliqués manuellement par poudrage, alors que d'autres sont sous forme d'aérosol à pulvériser. Pour ces derniers, les produits testés correspondant aux produits une fois pulvérisés, les analyses ont été réalisées sur les produits appliqués. Par conséquent, les résultats obtenus pour ces produits (aérosols et poudre) pourraient être considérés comme extrapolables aux résidus de ces produits après application. Néanmoins, les particules pouvant interagir avec les supports sur lesquels elles sont appliquées, une modification de la forme de ces particules ne peut être exclue. De plus, la préparation des échantillons pour l'analyse peut également modifier la distribution de la taille des particules.

3.3. Mesures de gestion qui pourraient être mises en œuvre pour les personnes et l'environnement potentiellement exposés afin de réduire les expositions aux nanoparticules via l'utilisation et l'application des produits phytopharmaceutiques et biocides

Compte tenu de l'état des connaissances sur la caractérisation de la distribution de la taille des particules notamment des produits phytopharmaceutiques, des modifications possibles de la forme des particules par exemple après dilution du produit et en fonction du mode d'application, il existe une incertitude forte sur la connaissance des expositions des personnes et des écosystèmes et des dangers liés à ces nanoparticules.

En ce qui concerne les opérateurs/utilisateurs lors de la mise en œuvre des produits, les mesures de prévention et de gestion susceptibles de diminuer l'exposition sont présentées ci-après. Dans les autres situations d'exposition, aucune mesure de gestion susceptible de limiter les expositions n'a pu être identifiée.

En se basant sur les dossiers Nanomatériaux de l'INRS⁹, les stratégies de prévention des risques liés aux nanomatériaux et les bonnes pratiques de travail doivent être élaborées au cas par cas. Actuellement, la prévention repose principalement sur la limitation des expositions professionnelles.

D'une manière générale, afin d'assurer la protection des travailleurs, les principales voies de la démarche de prévention sont les suivantes (INRS⁹) :

- Supprimer ou diminuer l'exposition ;
- En cas d'exposition, mettre en œuvre :
 - o Des mesures de protection collective,
 - o Des mesures de protection individuelle, lorsque la protection collective est insuffisante.

La protection collective repose principalement sur la ventilation des locaux (extrait du document de l'INRS) :

La concentration des nanomatériaux présents dans l'atmosphère des lieux de travail doit toujours être maintenue la plus basse possible. Pour atteindre cet objectif, il convient de mettre en place une ventilation et prioritairement une ventilation locale. Le transport des nanoaérosols demeurant très largement dominé par les écoulements d'air, la ventilation reste le moyen privilégié d'assainissement de l'air des lieux de travail.

Une protection individuelle peut également être recommandée (extrait du document de l'INRS) :

Le choix des équipements de protection individuelle doit résulter du meilleur compromis possible entre le plus haut niveau de sécurité pouvant être atteint et la nécessité d'exécuter sa tâche dans des conditions de confort maximal. L'ensemble des équipements de protection individuelle doit être maintenu en bon état et nettoyé, pour ceux qui ne sont pas jetables, après chaque usage.

- La protection respiratoire (extrait du document de l'INRS) :

Dès lors que la ventilation locale de l'atmosphère de travail s'avère insuffisante, les opérateurs/utilisateurs doivent porter un appareil de protection respiratoire, en tenant compte du fait que les objets de taille nanométrique sont susceptibles de passer par la moindre fuite (problème d'étanchéité de la pièce faciale en contact avec le visage, perforation, etc.).

- *Pour les travaux peu exposants de courte durée :*

Un masque complet à ventilation libre muni d'un filtre P3 selon la norme EN 143 ou éventuellement une pièce faciale filtrante jetable FFP3 selon la norme EN 149.

⁹ Sur la base des dossiers INRS :

- Dossier Nanomatériaux (INRS, 2024) : www.inrs.fr/risques/nanomateriaux

- « Les nanomatériaux manufacturés - Définition, effets sur la santé, caractérisation de l'exposition professionnelle et mesures de prévention », M. Ricaud et O. Witscheger, ED 6050, (décembre 2020)

- « Nanomatériaux – Ventilation et filtration de l'air des lieux de travail » M. Ricaud et S. Chazelet, E. Belut et D. Bemer (INRS), D. Thomas (CNRS Nancy), ED 6181 (novembre 2014)

- *Pour les travaux peu exposants d'une durée supérieure à une heure :*

Un appareil de protection respiratoire filtrant à ventilation assistée (= un demi-masque (TM2 P), un masque complet (TM3 P) ou une cagoule (TH2 P) à ventilation assistée conformes aux normes EN 12942 et EN 12941 et un débit d'air minimal de 160 L/min.

- *Pour les travaux exposants :*

Un appareil de protection respiratoire isolant (= masque complet, cagoule ou combinaison complète à adduction d'air comprimé).

- *La protection cutanée*

La littérature actuelle demeure encore limitée quant à l'efficacité des vêtements de protection contre les produits chimiques vis-à-vis des nanomatériaux. Néanmoins, au vu des premières données, il est recommandé de porter des vêtements de protection contre le risque chimique de type 5 (vêtements de protection contre les produits chimiques sous forme de particules solides). Le port d'un vêtement à usage unique, et notamment d'une combinaison à capuche jetable (ou d'une blouse) avec serrage au cou, aux poignets et aux chevilles, dépourvue de plis ou de revers, avec des poches à rabats est ainsi préconisé. Les gants en butyle, en vinyle ou en nitrile semblent constituer, au vu des premiers travaux de recherche, une barrière efficace vis-à-vis des nanomatériaux. Dans le cas d'expositions cutanées prolongées et répétées ou de travaux susceptibles d'endommager les gants, le port de deux paires de gants ou de gants plus épais est recommandé. L'emploi de couvre-chaussures s'avère également nécessaire afin d'éviter la contamination des zones extérieures au local de travail.

3.4. Tests complémentaires à mettre en œuvre

Dans le règlement (UE) N° 284/2013 établissant les exigences en matière de données applicables aux produits phytopharmaceutiques, la mesure de la distribution de la taille des particules est requise pour les produits sous forme de DP, de SC et de CS. Les méthodes recommandées sont les méthodes CIPAC¹⁰ MT 170 et CIPAC MT 187. La méthode CIPAC MT 170 est une méthode préalable permettant d'indiquer si la méthode MT 187 est à réaliser en fonction des résultats de la méthode MT 170. Cette dernière consiste en la mesure gravimétrique des particules passant sur un tamis de taille définie (40 – 100 µm). Si plus de 1% de particules (masse/masse) sont quantifiés, la méthode CIPAC MT 187 doit être réalisée. Celle-ci consiste en une analyse par diffraction laser des particules permettant une mesure des particules de taille comprises entre 0,01 µm – 4 mm. Ces méthodes ne permettent pas d'obtenir une distribution de l'ensemble des particules nanométriques susceptibles d'être présentes dans les produits.

¹⁰ CIPAC : Collaborative International Pesticides Analytical Council

Il conviendrait ainsi de réviser les méthodes recommandées dans la réglementation applicable aux produits phytopharmaceutiques afin de s'accorder avec la réglementation en vigueur sur les substances chimiques : REACH, notamment l'annexe R7-a (7.1.14 Granulométrie) et l'annexe R7-1 spécifique aux nanomatériaux qui précisent les méthodes adaptées pour les mesures de la granulométrie des mélanges/substances solides.

Par ailleurs, actuellement, des mesures de la distribution sont requises pour les produits solides et les produits sous forme de suspensions concentrées et de suspension de capsule. En revanche, aucune mesure de la distribution de la taille des particules n'est requise pour les substances actives solides (poudre ou granulé). Il conviendrait également d'ajouter ces requis aux exigences réglementaires des essais à soumettre.

A l'inverse, le règlement (UE) N° 528/2012 concernant la mise à disposition et l'utilisation des produits biocides inclut la soumission de la mesure de la distribution de particules pour tous les produits contenant des particules ainsi que pour toutes les substances actives solides sous forme de poudre ou de granulés. Les méthodes recommandées correspondent à celles indiquées dans la réglementation REACH l'annexe R7-a (7.1.14 Granulométrie). Ces méthodes sont adaptées pour les mesures de la granulométrie des produits/substances solides.

3.5. Contexte réglementaire

3.5.1. Les nanomatériaux dans le cadre du règlement sur les produits phytopharmaceutiques et biocides (BPR)

Contrairement au règlement sur les produits phytopharmaceutiques, le règlement sur les produits biocides contient des dispositions spécifiques pour les nanomatériaux. Ces dispositions s'appliquent aux produits et substances qui répondent aux critères définis dans le règlement sur les produits biocides. Ces définitions sont basées sur la recommandation de 2011 de la Commission relative à la définition des nanomatériaux :

- 50 % ou plus des particules ont une taille comprise entre 1 et 100 nanomètres dans au moins une dimension ;
- les particules sont à l'état non lié ou sous forme d'agrégat ou d'agglomérat.

Néanmoins, le règlement précise qu'il convient que la Commission Européenne procède à une révision régulière des dispositions relatives aux nanomatériaux, à la lumière des progrès scientifiques accomplis. Il est à noter que la Commission a publié une nouvelle recommandation de définition en 2022 (cf paragraphe 1. Contexte et Objet de la saisine).

Selon le règlement sur les produits biocides, l'approbation de la substance active ne couvre pas la nanoforme de la substance active, sauf mention explicite. Toutefois, en cas d'utilisation de nanomatériaux dans les produits, le risque pour la santé humaine, pour la santé animale et pour l'environnement doit être examiné séparément.

Une évaluation des risques spécifique est nécessaire lorsque la nanoforme de la substance active et de la substance non active est utilisée dans un produit biocide. L'étiquette du produit biocide doit indiquer le nom de chaque nanomatériau suivi du mot « nano » entre parenthèses.

3.5.2. Guide de l'EFSA sur les exigences techniques pour les applications réglementées des denrées alimentaires et des aliments pour animaux visant à établir la présence de petites particules, y compris de nanoparticules

L'évaluation nanospécifique des pesticides est abordée dans un guide de l'EFSA sur les exigences techniques (Guidance on technical requirements for regulated food and feed product applications to establish the presence of small particles including nanoparticles¹¹), définissant les critères d'évaluation de la présence d'une fraction de petites particules et fixant les exigences en matière d'information pour les applications dans les domaines réglementés des produits destinés à l'alimentation humaine et animale (comme par exemple, les nouveaux aliments, les additifs pour l'alimentation humaine et animale, les matériaux en contact avec les denrées alimentaires et les pesticides). Ces exigences s'appliquent aux particules nécessitant une évaluation spécifique à l'échelle nanométrique dans les matériaux conventionnels qui ne répondent pas à la définition de nanomatériau manufacturé telle qu'énoncée dans le règlement sur les nouveaux aliments (UE) 2015/2283. Le guide présente des critères d'évaluation afin de confirmer si l'évaluation conventionnelle des risques doit ou non être complétée par des considérations nanospécifiques.

Ce guide de l'EFSA sur les particules s'applique à toutes les matières chimiques, commercialisées ou destinées à être commercialisées en tant que substances ou mélanges, devant être évaluées par l'EFSA, y compris les mélanges et les produits commercialisés en tant que formulations liquides, à moins que les informations ne confirment qu'il s'agit de véritables liquides et qu'ils ne contiennent pas de petites particules en suspension. La caractérisation de la fraction de petites particules, y compris la distribution granulométrique, est nécessaire dans tous les cas, sauf si le demandeur démontre que la substance sera entièrement dissoute dans les conditions d'utilisation prévues et que les consommateurs ne seront pas exposés à des particules. Pour les substances et les mélanges à constituants multiples, les informations à fournir doivent couvrir chaque constituant unique ou chaque composant du mélange, ainsi que le matériau à constituants multiples.

Dans le cas a) des plantes et autres matières chimiquement complexes d'origine biologique dont la composition est inconnue ou variable, b) des macromolécules d'origine biologique (par exemple, les enzymes et autres protéines) ou c) d'autres cas similaires, le demandeur doit fournir une justification démontrant qu'une évaluation de la fraction de petites particules, y compris les nanoparticules, n'est pas nécessaire ou qu'elle est déjà prise en compte dans le processus d'évaluation de la sécurité.

¹¹ EFSA Journal 2021;19(8):6769, 48 pp. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2021.6769>

Les principes généraux et le résumé des principes d'évaluation que les demandeurs peuvent suivre pour confirmer qu'une fraction de petites particules n'est pas présente ou est couverte par l'évaluation conventionnelle des risques sont présentés dans ce guide.

Ce guide de l'EFSA sur les particules complète le guide sur l'évaluation des risques des nanomatériaux à appliquer à la chaîne alimentaire humaine et animale, à la santé humaine et animale de l'EFSA (Guidance on risk assessment of nanomaterials to be applied in the food and feed chain: human and animal health¹²).

3.5.3. Revue bibliographique commanditée par l'ECHA

Une synthèse des informations disponibles sur les produits phytopharmaceutiques, biocides et fertilisants nano-formulés a été commanditée par l'ECHA, en contribution à la mission de de l'European Union Observatory for Nanomaterials (EUON). Cette synthèse réalisée par Innovamol Srl (Italie) a été publiée en 2024¹³.

Dans une première partie, une revue exhaustive de la littérature scientifique et de la littérature grise est présentée. Une grande majorité des documents recensés portent sur l'activité, l'efficacité et la caractérisation des substances et produits nano-formulés. Peu de documents portant sur la toxicité ou l'écotoxicité ont été identifiés et aucun concernant la mise sur le marché européen de tels produits.

Dans une deuxième partie, une analyse des données collectées est présentée, détaillant les résultats par usages et type de substances ou formulation.

Les résultats d'un sondage réalisé auprès d'experts et de parties prenantes sont également présentés. Les questions posées portaient sur les usages possibles des produits nano-formulés en agrochimie, les bénéfices attendus et les préoccupations liées à ces usages, ainsi que sur les potentiels développements et avancées envisagés avec l'implémentation de telles formulations.

Une première partie de discussion porte sur l'adéquation des pratiques et cadres réglementaires actuels au regard de l'application de nanomatériaux dans des produits destinés à l'agriculture. La discussion porte en particulier sur les techniques analytiques, les méthodes de quantification, d'échantillonnage et les informations sur la toxicité et l'écotoxicité.

Une seconde partie de discussion porte sur la possibilité d'améliorer la quantité et la qualité des informations sur les produits nano-formulés, tant d'un point de vue technique que légal, au

¹² EFSA Journal 2021;19(8):6768 - <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2021.6768>

¹³ Urbani D, Evangelisti M, Bebi C, Rovegno C, Parenti MD, Varchi G, Del Rio A. Collection and review of information on nanomaterial-based and nano-enabled plant protection products, biocidal products and fertilising products. 2024. Ref: ECHA/2022/512.
https://innovamol.com/wp-content/uploads/2024/11/2024-ECHA-EUON-pesticides_and_fertilizers.pdf

regard des règlements sur les produits biocides (UE) N° 528/2012, les produits phytopharmaceutiques (CE) N°1107/2009 et les fertilisants (UE) 2019/1009.

Enfin plusieurs recommandations d'approches alternatives sont proposées dans le cadre de ces travaux commandités pour l'ECHA :

- *Inclure des dispositions spécifiques aux produits nano-formulés dans les réglementations en vigueur, à l'exemple de ce qui est fait dans le cadre du règlement sur les produits biocides et suivant les documents guides publiés par l'EFSA en 2021 ;*
- *Créer un cadre pour des instructions d'utilisation standardisées ;*
- *Créer une base de données spécifique au niveau européen, sur le modèle du dispositif R-Nano ;*
- *Avoir un dispositif de notification à l'intention des fabricants et des importateurs et un point d'entrée commun pour soumettre les informations aux autorités réglementaires ;*
- *Réaliser une recherche bibliographique pour justifier les revendications d'efficacité ;*
- *Exiger la soumission de tests de toxicité et d'écotoxicité.*

4. CONCLUSIONS ET RECOMMANDATIONS DE L'AGENCE

L'Anses s'est saisie pour analyser les résultats d'une étude exploratoire visant à mesurer la présence de nanoparticules dans des produits phytopharmaceutiques et des produits biocides et à proposer, le cas échéant, des mesures de gestion afin de protéger les populations et l'environnement potentiellement exposés. Cette étude exploratoire n'avait pas pour objectif de conduire une analyse quantitative des risques.

Dans le cadre de cette étude exploratoire, les produits phytopharmaceutiques solides et liquides sous forme de suspension concentrée ainsi que les produits biocides solides testés contiennent des particules de taille inférieure à 100 nm à l'exception d'un produit biocide. La proportion et la nature probable des particules est très variable en fonction du type de produits et de leurs compositions.

Concernant **les produits phytopharmaceutiques sous forme de suspension de capsules**, il est difficile de conclure de façon générale sur la présence de particules de taille inférieure à 100 nm. En effet, les conditions de préparation des échantillons ont probablement modifié l'état physique des capsules présentes dans les produits testés. **La présence de particules de taille inférieure à 100 nm a été détectée dans certains produits mais dans des proportions trop faibles pour établir une distribution des valeurs de la taille des particules observées dans les échantillons testés.**

Il est à noter que, pour les produits solides, les techniques employées pour la mesure des distributions de particules ne permettent pas d'atteindre les particules primaires et

ne couvrent pas l'ensemble des tailles des particules présentes dans les produits (limité à 20 – 570 nm et 1 - 20 µm) et par conséquent, ne permettent pas de quantifier les proportions.

Pour les produits liquides, aucune distribution n'a pu être réalisée sur l'ensemble des particules car la technique employée permet uniquement de réaliser une distribution sur des particules de même nature chimique.

Les produits phytopharmaceutiques testés de type poudre mouillable (WP), suspension concentrée (SC) et concentré soluble (CS) sont des produits à diluer avant utilisation. Une fois la solution obtenue, celle-ci est ensuite pulvérisée sous pression à l'aide d'un appareillage adapté. Lors de la pulvérisation et une fois sur les plantes et dans l'environnement, les substances peuvent être soumises à différents phénomènes (chaleur, dilution, notamment par l'impact des précipitations, évaporation) susceptibles de modifier la forme des particules.

Par conséquent, pour les types de formulations cités ci-dessus, les résultats obtenus pour les produits tels que commercialisés ne sont pas considérés extrapolables aux résidus de ces produits pendant et après application.

Concernant les produits phytopharmaceutiques de type DP, ceux-ci ne sont pas dilués avant leur utilisation. Cependant, ils sont appliqués à l'aide d'un appareillage de poudrage par impulsion d'air. Comme pour les produits à diluer, lors de l'application la forme des particules présentes pourra être modifiée. Par conséquent, **les résultats obtenus pour les produits tels que commercialisés ne sont pas directement extrapolables aux résidus de ces produits pendant et après application.**

Les produits biocides testés sont des produits prêts à l'emploi. Néanmoins, certains produits peuvent être appliqués manuellement par poudrage, alors que d'autres sont sous forme d'aérosol à pulvériser. Pour ces derniers, les produits testés correspondant aux produits une fois pulvérisés, les analyses ont été réalisées sur les produits appliqués et non sur les produits tels que commercialisés.

Par conséquent, **les résultats obtenus pour ces produits (aérosols et poudre) pourraient être considérés comme extrapolables aux résidus de ces produits après application. Néanmoins, les particules pouvant interagir avec les supports sur lesquels elles sont appliquées, une modification de la forme de ces particules ne peut être exclue.**

Compte tenu de l'état des connaissances sur les modifications possibles de la forme des particules par exemple après dilution du produit et en fonction du mode d'application suivi, il existe une incertitude forte sur les niveaux d'exposition des personnes et des organismes de l'environnement.

Le règlement sur les produits biocides contient des dispositions spécifiques pour les nanomatériaux contrairement au règlement sur les produits phytopharmaceutiques.

En l'absence, à ce jour, d'une déclinaison dans la réglementation phytopharmaceutique et d'une méthodologie d'évaluation du risque nanospécifique dédiée, l'Anses recommande **de réduire**

le plus possible les nanoparticules susceptibles d'être présentes dans les produits lorsque l'exposition ne peut pas être considérée comme négligeable pour les personnes et les écosystèmes malgré l'application de mesures de gestion. Pour ce faire, une attention particulière devra être portée aux spécifications des substances actives ou des co-formulants utilisés. Réduire au minimum l'exposition à la source est une démarche pertinente en raison de la forte incertitude sur les niveaux d'exposition aux nanoparticules et de la complexité des méthodologies d'évaluation des risques en particulier pour l'environnement.

En ce qui concerne la **caractérisation de la taille des particules**, l'Anses recommande **d'intégrer dans les exigences des essais à soumettre dans le cadre de la réglementation sur les substances et produits phytopharmaceutiques, les méthodes recommandées dans la réglementation en vigueur sur les substances chimiques (règlement REACH)**, notamment l'annexe R7-a (7.1.14 Granulométrie) et l'annexe R7-1 spécifique aux nanomatériaux qui précisent les méthodes adaptées pour les mesures de la granulométrie des produits/substances solides.

Les résultats de cette étude exploratoire seront portés à la connaissance des Etats membres, de l'EFSA, de l'ECHA et de la Commission européenne afin de définir les améliorations à mettre en œuvre. L'EFSA mène actuellement des travaux afin de mettre à jour ses documents guide sur l'évaluation du risque des nanomatériaux dans la chaîne alimentaire et sur l'élaboration d'un nouveau document guide¹⁴. L'Anses, qui avait également produit son propre guide [Anses, 2021]¹⁵, va contribuer à cette élaboration pour aller vers une harmonisation.

Par ailleurs, il est à noter que des projets de recherche notamment dans le cadre du projet PARC pourront venir améliorer les connaissances en ce qui concerne les méthodologies d'évaluation et les effets sur la santé et sur l'environnement.

Pr Benoit Vallet

¹⁴ [Guidance document for risk assessment of nanomaterials and materials containing nanoparticles in the food chain](https://open.efsa.europa.eu/questions/EFSA-Q-2024-00439), and a new [Guidance document for the risk assessment of feed additives containing nanoparticles](https://open.efsa.europa.eu/questions/EFSA-Q-2024-00724)
<https://open.efsa.europa.eu/questions/EFSA-Q-2024-00439>
<https://open.efsa.europa.eu/questions/EFSA-Q-2024-00724>

¹⁵ Avis de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail relatif à un guide d'évaluation du risque sanitaire spécifique aux nanomatériaux dans les produits destinés à l'alimentation. 30 septembre 2021. <https://www.anses.fr/fr/system/files/ERCA2016SA0226.pdf>

MOTS-CLÉS

Produits phytopharmaceutiques, nanoparticules, étude exploratoire

Phytopharmaceutical products, nanoparticles, exploratory study

CITATION SUGGÉRÉE

Anses. (2025). Analyse des résultats d'une étude exploratoire visant à mesurer la présence de nanoparticules dans des produits phytopharmaceutiques et des produits biocides et à proposer, le cas échéant, des mesures de gestion afin de protéger les populations et l'environnement potentiellement exposés. Saisine 2024-SA-0038. Maisons-Alfort : Anses, 71 p.

ANNEXE 1

Présentation des intervenants

PRÉAMBULE : Les experts membres de comités d'experts spécialisés, de groupes de travail ou désignés rapporteurs sont tous nommés à titre personnel, *intuitu personae*, et ne représentent pas leur organisme d'appartenance.

COMITÉ D'EXPERTS SPÉCIALISÉ

Les travaux, objets du présent rapport ont été suivis et adoptés par le CES suivant :

- **CES Substances et produits phytopharmaceutiques, biocontrôle**– 14/01/2025

Président

M. Jean-Ulrich MULLOT – Pharmacien militaire (Service de santé des Armées). Spécialité : Toxicologie, Evaluation des risques, Réglementation, Radionucléides, Chimie Analytique

Vice-présidente

Mme Laure MAMY – Directrice de recherche (Institut national de recherche pour l'agriculture, l'alimentation et l'environnement - INRAE). Spécialité : Devenir des pesticides dans l'environnement – Modélisation

Membres

M. Marcel AMICHOT – Chargé de recherche (Institut national de recherche pour l'agriculture, l'alimentation et l'environnement - INRAE). Spécialité : Biocontrôle (mode d'action), Ecotoxicologie, Résistance

M. Marc BARDIN – Directeur de recherche (Institut national de recherche pour l'agriculture, l'alimentation et l'environnement - INRAE). Spécialité : Phytopathologie, protection des plantes, microbiologie, biocontrôle, efficacité, mode d'action

M. Philippe BERNY – Enseignant – Chercheur (Vetagro Sup). Spécialité : Pesticides, vertébrés terrestres, écotoxicologie, raticides, insecticides

M. Romain BONAFOS – Ingénieur Responsable de formations en protection des plantes (Institut Agro Montpellier). Spécialité : Ravageurs, insectes non cibles, résistances, moyens de protections des plantes, macro-organismes

M. Bruno CHAUVEL – Directeur de recherche (Institut national de recherche pour l'agriculture, l'alimentation et l'environnement - INRAE). Spécialité : malherbologie, gestion intégrée, plante envahissante, désherbage, résistance aux herbicides, agroécologie

M. Jean-Pierre CUGIER – Retraité du Ministère de l'agriculture, Senior Scientific Officer (Autorité européenne de sécurité des aliments) jusqu'au 30/09/2016. Spécialité : Résidus pesticides, Plante et animal métabolisme, Sécurité consommateur (risque chronique et aigu).

Mme Caroline DE CLERCK – Assistante professeur en agronomie, écotoxicologie microbienne à l'Université de Liège Gembloux Agro-Bio Tech. Spécialité : Biocontrôle, phytopathologie, malherbologie, nutrition des plantes, systèmes de production, écotoxicologie microbienne

M. Georges DE SOUSA – Ingénieur de recherche hors classe (Institut national de recherche pour l'agriculture, l'alimentation et l'environnement - INRAE). Spécialité : Toxicologue, ADME xénobiotiques, perturbateur endocrinien ; effet mélanges, modélisation.

M. Marc GALLIEN – Chargé de mission (MSA). Spécialité : Application des produits phytopharmaceutiques, Spécialité : Santé Sécurité Travail Prévention Protection Phytopharmaceutique

Mme Sonia GRIMBUHLER – Chercheur en expologie (Institut national de recherche pour l'agriculture, l'alimentation et l'environnement - INRAE). Spécialité : Evaluation de l'exposition des agriculteurs et des riverains - machinisme agricole - évaluation de risque métrologie

M. François LAURENT – Chargé de recherche (Institut national de recherche pour l'agriculture, l'alimentation et l'environnement - INRAE). Spécialité : Métabolisme, résidus composés organiques, Contamination de l'environnement, Physiologie Végétale

ANNEXE 2 : TEXTE DE L'AUTOSAISINE 024-AUTO-0038



Décision N° 2024-046

AUTOSAISINE

Le directeur général de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (Anses),

Vu le code de la santé publique, et notamment son article L. 1313-3 conférant à l'Anses la prérogative de se saisir de toute question en vue de l'accomplissement de ses missions,

Décide :

Article 1^{er} : L'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail se saisit afin de réaliser une expertise dont les caractéristiques sont listées ci-dessous.

1.1 Thématiques et objectifs de l'expertise

Il s'agit d'analyser les résultats d'une étude exploratoire visant à mesurer la présence de nanoparticules dans des produits phytopharmaceutiques et des produits biocides et de proposer, le cas échéant, des mesures de gestion afin de protéger les populations et l'environnement potentiellement exposés. Des propositions d'évolutions réglementaires afin d'améliorer les méthodologies permettant de mieux caractériser les nanoparticules susceptibles d'être présentes dans les produits pourront être formulées.

1.2 Contexte de l'autosaisine

Les données R-Nano 2016 font régulièrement état de nombreuses déclarations pour lesquelles a été saisi le descripteur PC 27 « Produits phytopharmaceutiques ».

Afin d'éclaircir ces déclarations, des vérifications complémentaires ont été menées. Il en ressort que le motif de déclaration supposé dans R-Nano est en quasi-exclusivité lié à la présence de co-formulants à l'état nanoparticulaire.

Suite à ce constat, l'Anses a commandité une étude exploratoire afin de mesurer la présence de nanoparticules, qui peuvent potentiellement être contenues dans des produits phytopharmaceutiques et biocides.

1.3 Questions sur lesquelles portent les travaux d'expertise à mener

- 1) Analyser les résultats de l'étude exploratoire menée sur des produits phytopharmaceutiques et biocides.
- 2) En s'appuyant sur les résultats des analyses des produits, indiquer si les résultats obtenus sur les produits tels qu'ils sont vendus (forme non diluée) peuvent être extrapolés aux produits tels qu'ils sont utilisés (en général sous forme diluée) ou aux résidus après application.
- 3) En fonction des résultats de l'analyse conduite pour la première question, préciser si des mesures de gestion devraient être mises en œuvre pour les populations potentiellement exposées afin de réduire les expositions aux nanoparticules via l'utilisation et l'application des produits phytopharmaceutiques et biocides.

- 4) Afin d'améliorer la caractérisation de la distribution des particules présentes dans les produits, indiquer la nature des tests complémentaires qui pourraient être ajoutés aux exigences réglementaires. Le type des formulations devra être pris en compte.

1.4 Durée prévisionnelle de l'expertise

12 mois

Article 2.- Un avis sera émis et publié par l'Agence à l'issue des travaux.

Fait à Maisons-Alfort, le **09 AVR. 2024**


M. Benoit VALLET
Directeur général

ANNEXE 3 : RAPPORT DE L'ETUDE EXPLORATOIRE MENEES PAR LE LNE (2021)

File P188865 – Document DMSI/2 – Page 1/42

TEST REPORT

Demandeur

Anses
Direction de l'évaluation des produits réglementés
14, rue Pierre et Marie Curie
94701 Maisons Alfort Cedex

Date et référence de la commande

Marché XFTC000343

Objet

Analyse, quantification, et caractérisation en taille et en nombre des particules présentes dans 33 préparations phytosanitaires/biocides

Analysis, quantification, and characterization in terms of size and number concentrations for 33 phytosanitary and biocidal preparations

Reproduction of this document is only authorized in its unabridged version

APPROPRIATE QUALITY MANAGEMENT SYSTEM (GLP COMPLIANCE AND QUALITY ASSURANCE STATEMENT)

LNE has a fulfillment of the requirements of ISO/IEC 17025 (2005) which means that LNE meets both the technical competence requirements and management system requirements that are necessary for delivering technically valid test results and calibrations. LNE is also an organization certifying company management system according to ISO 9001, ISO 13485 (medical), ISO 14001 (environmental quality system), ISO 22000 (hygiene of materials and packaging for food products).

ABBREVIATIONS AND SYMBOLS

APS : Aerodynamic Particle Sizer
CaS : Capsules Suspension
CoS : Concentrated Suspension
CPC : Condensation Particle Counter
DMA : Differential Mobility Analyzer
DP : Dry Powder
MA : Marketing Authorization
PNSD : Particle Number Size Distribution
SEM : Scanning Electron Microscopy
SMPS : Scanning Mobility Particle Sizer
WP : Wet Powder

SUMMARY

As part of its mission to assess human health security risks in the areas of food, environment and work, ANSES launched a consultation corresponding to the analysis, quantification and characterization of particles in terms of size and number concentrations for phytosanitary and biocide preparations having marketing authorizations (MA) in France.

For the characterization of powder samples (phytopharmaceutical dry, wet and biocide, i.e. phytopharmaceutical DP, WP and biocide samples) in the aerosol phase, a dust disperser was coupled to two spectrometers to measure average normalized particle number size distribution (PNSD) for 20 nm – 570 nm and 1 µm – 20 µm size ranges respectively, without associated chemical analysis. About suspension samples in aqueous phase (phytopharmaceutical CoS and CaS samples), particle size distribution were characterized by SEM and chemical identification by EDX. This report presents the results of this study for samples given and identified by ANSES.

1. INTRODUCTION

The objective of this study was the characterization of particle number size distribution (PNSD) for a selection of 15 phytosanitary and 10 biocide preparations, and 8 suspension samples having marketing authorizations in France. Studied products were in the form of dry powder (DP), wet powder (WP), liquid in aerosol spray and suspension in aqueous phase (phytopharmaceutical concentrated suspensions (CoS) and capsule suspensions (CaS)). The sections below present for each studied sample, the associated PNSD analytical methods and the results in terms of PNSD measurements.

2. MATERIALS

2.1 Phytopharmaceutical DP, WP, biocide samples and associated references

Table 1 presents the phytopharmaceutical dry (DP) and wet (WP) powder samples (references 1 to 15). These references were studied in the aerosol phase using the analytical method presented in sections 3.1.1 and 3.2.1.

Table 1 : List of phytopharmaceutical dry (DP) and wet (WP) powder samples studied in aerosol phase

	Product name	Supplier	Active substance	Total mass/volume	Type	Packaging
Phytopharmaceutical WP						
1			Copper	1 kg	Fungicide	Bag
2			Copper	100 g	Fungicide	Bottle
3			Copper	55 g	Fungicide	Bottle
4			Copper	100 g	Fungicide, bactéricide	Bottle
5			Mancozeb + fosetyl	100 g	Fungicide	Bag
6			Gliocladium catenulatum J1446	1 kg	Fungicide	Jar
7			Bacillus subtilis QST 713	100 g	Fungicide, bactericide	Bottle
8			Trichoderma asperellum TV1	1 kg	Fungicide	Bag
9			Mancozeb + cymoxanil + cuivre	100 g	Fungicide	Bag
10			Bacillus subtilis QST 713	100 g	-	Bag
11			Hydrogénocarbonate de potassium	100 g	Fungicide	Bag
Phytopharmaceutical DP						
12			Sulfur	200 g	Fungicide	Bag
13			Sulfur	100 cm ³	Fungicide	Bottle
14			Sulfur	200 g	Fungicide	Bottle
15			Sulfur	1.5 kg	Fungicide	Bag

Table 2 presents the biocide samples (references 16 to 25). These references were studied in the aerosol phase using the analytical method presented in sections 3.1.1 and 3.2.1. It is important to mention that sample references 16 and 22 concern liquid samples contained in aerosol spray systems.

Table 2 : List of biocide sample studied in aerosol phase

Product name	Supplier	Total mass/volume	Packaging
BIOCIDES			
16		500 mL / 321 g	Aerosol spray
17		250 g	Powder
18		100 g	Powder
19		125 g	Powder
20		100 g	Powder
21		150 g	Powder
22		400 mL	Aerosol spray
23		500 g	Powder
24		1 kg	Powder
25		350 g	Powder

2.2 Suspension samples and associated references

Table 3 presents the phytopharmaceutical concentrated (CoS) and capsules (CaS) suspensions (references 26 to 33). These references were studied by scanning electronic microscopy (SEM) using the analytical method presented in sections 3.1.2 and 3.2.2.

Table 3 : List of phytopharmaceutical concentrated (CoS) and capsules (CaS) suspensions studied by scanning electronic microscopy (SEM).

Product name	Supplier	Active substance	Total volume	Type	Packaging
Phytopharmaceutical Capsules Suspensions (CaS)					
26		Lambda-Cyhalothrin	50 mL	Insecticide	Bottle
27		Clomazone	20 mL	Herbicide	Bottle
28		Geranol, thymol, eugenol	---	Fungicide	Bottle
29		Clomazone, metazachlor	30 mL	Herbicide	Bottle
30		Flurochloridone	30 mL	Herbicide	Bottle
Phytopharmaceutical Concentrated suspensions (CoS)					
31		Chlorothalonil, cymoxanil	20 mL	Fongicide	Bottle
32		Chlorotoluron	100 mL	Herbicide	Jar
33		Chlorotoluron, isoxaben	100 mL	Herbicide	Jar

3. METHODS

3.1 Analytical methods

3.1.1 Phytopharmaceutical DP, WP and biocide samples

For the characterization of phytopharmaceutical DP, WP and biocide samples in the aerosol phase, a dust disperser was coupled to two spectrometers respectively called Scanning Mobility Particle Sizer (SMPS, TSI) and Aerodynamic Particle Sizer (APS, TSI) (Figure 1) to measure PNSD from 20 nm to 20 μm without associated chemical analysis.

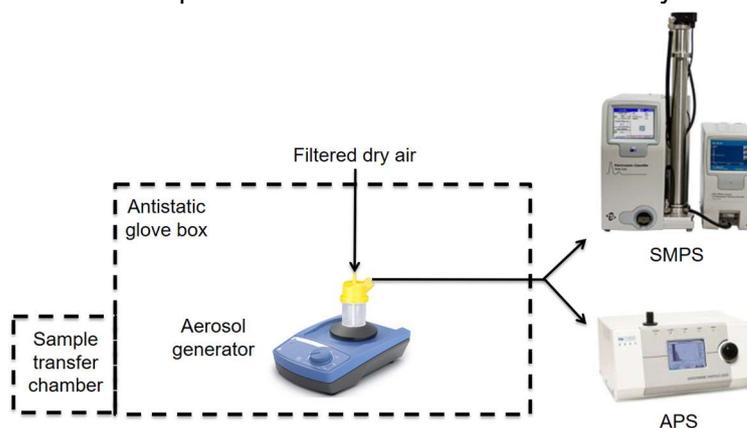


Figure 1 : Schematic bench test used for phytopharmaceutical DP, WP and biocide samples analysis

Concerning the aerosol generator, the dust disperser used for this study was single use venturi nebulizers (RN200, RESPINEB) coupled to a vortex shaker (Top-Mix 3, IKA). The dispersion of 5 to 10 cm^3 of each sample was performed by a nozzle suction from the nebulizer vial and fed into the carrier gas. Shear forces created in such injector disperse and deagglomerate the powder to form an aerosol. However, it is important to mention that agglomerates/aggregates generated in the aerosol phase will not give access to primary particles measurements as requested in the definitions of a nanomaterial at EU (Biocides Regulation n°528/2012) and French (mandatory declaration R-Nano) levels.

Downstream the generator, the scanning mobility particle sizer (SMPS) is an instrument for characterizing PNSD in the aerosol phase with a measurement range from 20 nm to 570 nm for this study. The SMPS is composed of a differential mobility analyzer (DMA), to select a diameter, and a condensation particle counter (CPC) to count the number of selected particles. Therefore, the SMPS allows PNSD measurements in terms of **electrical mobility diameter** SMPS measurements which were carried out in accordance with ISO15900.

The Aerodynamic Particle Sizer (APS) is based on a laser velocimetry principle for characterizing PNSD in the aerosol phase in a size range from 1 μm to 20 μm for this study. In the APS, particles are accelerated through an acceleration nozzle and the particle velocity is measured *via* an optical process. **An equivalent aerodynamic diameter is then deduced from this speed and APS allows PNSD measurements in terms of aerodynamic diameter.**

3.1.2 Phytopharmaceutical CoS and CaS suspensions

For the commercial pesticide products, the nanoparticles (NPs) are embedded in various controlled release systems (CRS) (A. Singh et al., 2020 [1]). The suspensions received were opaque, so the DLS technique could be not used for the study. Consequently, before their SEM characterization, they have to be extracted from the concentrated or nano-capsules suspension. After extraction step, the particles have been deposited on the silicon substrate and observed by SEM. SEM images have been performed with the CARMEN (LNE) platform's Zeiss ULTRA-Plus equipped of a Field Emission Gun (FEG) microscope and an in-Lens SE detector located within the column (Figure 2).



Figure 2 : SEM at LNE (Zeiss ULTRA-Plus equipped of a Field Emission Gun (FEG))

Size measurements of particles have been carried out by using specific semi-automatic routine PLATYPUS™ software developed by Pollen Metrology. A total of 100 up to 150 particles was taken into consideration to build number size distribution. For all measurements the minimum Feret diameter was considered and the average values were determined from the number-based particle size distribution. The minimum Feret diameter (Figure 3) has been chosen because it corresponds to the smallest dimension of the measured object as recommended by the EU biocide regulation [2].

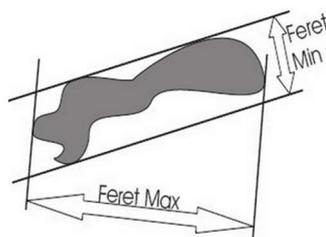


Figure 3 : Illustration of minimum Feret diameter

The chemical analysis has been performed through an EDX detector ULTIM MAX (65 mm²) in SATW window from Oxford Instruments installed on the SEM which recovers photons from the particles.

¹ Amrita Singh, et al., Advances in controlled release pesticide formulations: Prospects to safer integrated pest management and sustainable agriculture, Journal of Hazardous Materials, Volume 385,2020, 121525, ISSN 0304-3894, <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2019.121525>.

² According to the EU Biocides Regulation 528/2012 (EU BPR), nanomaterials are defined as a natural or manufactured active substance or non-active substance containing particles, in an unbound state or as an aggregate or as an agglomerate and where, for 50 % or more of the particles in the number size distribution, one or more external dimensions is in the size range 1-100 nm.

3.2 Specimen handling

A “Certiphyto” training was performed for the “operator category” in order to obtain individual certificates for the professional use of phytosanitary products.

3.2.1 Phytopharmaceutical DP, WP and biocide samples

For safety reason, samples were handled inside an antistatic glove box equipped with a transfer chamber. The previously described aerosol generator was also implemented inside the glove box and connections to SMPS and APS were performed in an external way (Figure 1).

3.2.2 Phytopharmaceutical CaS and CoS suspensions

The extraction method depends on the nature of the studied pesticide. Four protocols have been developed to assess to the “nano” aspect of a pesticide substance described below.

- (a) Static deposition: the initial suspension was homogenized and a droplet was directly deposited on a silicon wafer substrate.
- (b) Initial suspension and spin-coater deposition: the initial suspension was homogenized and then, a droplet of particle suspension was deposited on the center of the silicon wafer substrate and put on the spin coater. The spin coater used is a LabSpin 6 SUSS Microtec.
- (c) Diluted suspension and deposition by spin-coater : the initial suspension was diluted (x100) in Milli-Q water and homogenized. Then, a droplet of particle suspension was deposited on the center of the silicon wafer substrate fixed on the spin coater (60 s at 1000 rpm for spreading and 10s at 8000 rpm for drying).
- (d) Diluted suspension with step of washing and deposition by spin coater: the suspension was washed five times by following these steps:
 - i. Dilution step in Milli-Q® water (X100),
 - ii. Centrifugation at 4500 rpm during 20 min,
 - iii. Removal of the supernatant and replacement with fresh Milli-Q® water,
 - iv. Ultra-sonication was conducted using a Vibracell 75043 Ultrasonifier (750 W, 20 kHz, Fischer Bioblock Scientific, 13 mm horn). The dispersions were sonicated in a cold-water bath maintained at a constant temperature. Suspension has been sonicated with a probe-sonicator (20 min with cycles of 10 s ON with amplitude of 20% and 30 s OFF).
 - v. Deposition by using spin coater (60 s at 1000 rpm for spreading and 10s at 8000 rpm for drying).

4. RESULTS

4.1 Phytopharmaceutical DP, WP and biocide samples

In terms of PNSD measurements, average normalized PNSD were calculated from 5 SMPS and 5 APS PNSD measured for each sample involved in this study. The error bars correspond to the standard deviations (STD) calculated on the five measurements performed for each sample ($k = 1$). PNSD were normalized with regard to the total particle number concentration measured by SMPS and APS for each sample in order to obtain comparable PNSD concentration scales. Therefore, normalized PNSD allow comparison and classification of each studied sample in terms of particle sizes. For each average normalized PNSD, sub-

groups were identified in order to classify PNSD and an analysis of associated statistical diameters is presented.

Figure 4 presents group n°1 of average PNSD for phytopharmaceutical WP samples. SMPS measurements are presented on the left hand side graph with a particle size range of 20 nm - 570 nm. APS measurements are presented on the right hand side graph with a particle size range of 1 µm - 16 µm with a dedicated zoom between 1 µm and 7 µm.

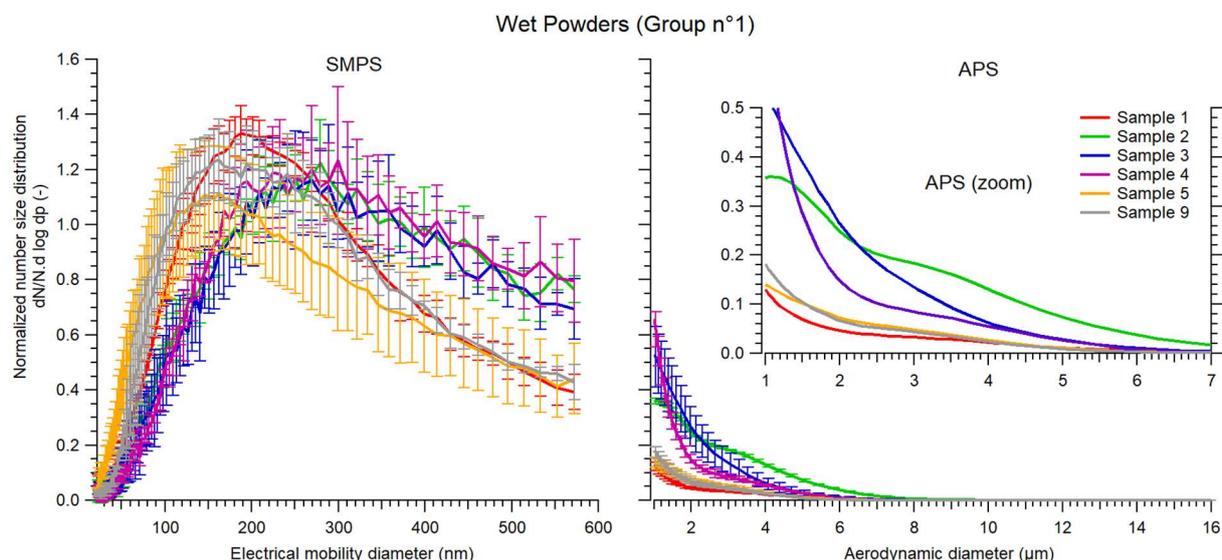


Figure 4 : Average PNSD for phytopharmaceutical WP (Group n°1) samples : (Left) - SMPS measurements between 20 nm and 570 nm ; (Right) - APS measurements between 1 µm and 16 µm. Error bars of each graph represent standard deviation (STD).

Associated statistical diameters are presented in Table 4 in terms of median, mean and modal diameters. It is important to point out that only sample 2 was characterized by a bimodal PNSD with SMPS and APS average modal diameters of 264 nm ± 17 nm and 1.10 µm ± 0.05 µm respectively.

Table 4 : SMPS and APS statistical diameters associated to average PNSD for phytopharmaceutical WP (Group n°1) samples.

WP (Group n°1)		SMPS statistical diameter (nm)			APS statistical diameter (µm)		
		Median	Mean	Modal	Median	Mean	Mode
Sample 1	Average	183	208	200	1.50	2.00	---
	STD	6	7	24	0.05	0.05	---
Sample 2	Average	227	250	264	1.70	2.20	1.10
	STD	2	1	17	0.05	0.05	0.05
Sample 3	Average	219	242	250	1.40	1.90	---
	STD	22	18	47	0.05	0.05	---
Sample 4	Average	227	250	266	1.30	1.80	---
	STD	5	5	71	0.05	0.05	---
Sample 5	Average	151	187	141	1.50	2.00	---
	STD	10	10	19	0.05	0.05	---
Sample 9	Average	172	203	186	1.40	1.90	---
	STD	9	7	50	0.05	0.05	---

From average PNSD for group n°1 of phytopharmaceutical WP samples, references 1, 2, 3, 4, 5 and 9 have particulate contribution < 100 nm of 21%, 15%, 16%, 14%, 32% and 7% respectively in the 17 nm – 570 nm SMPS measurement size range. **It is important to mention that such measurements in aerosol phase are associated to aggregates/agglomerates measurements and not to primary particles.**

Figure 5 presents group n°2 of average PNSD for phytopharmaceutical WP samples. SMPS measurements are presented on the left hand side graph with a particle size range of 20 nm - 570 nm. APS measurements are presented on the right hand side graph with a particle size range of 1 µm - 16 µm with a dedicated zoom between 1 µm and 7 µm.

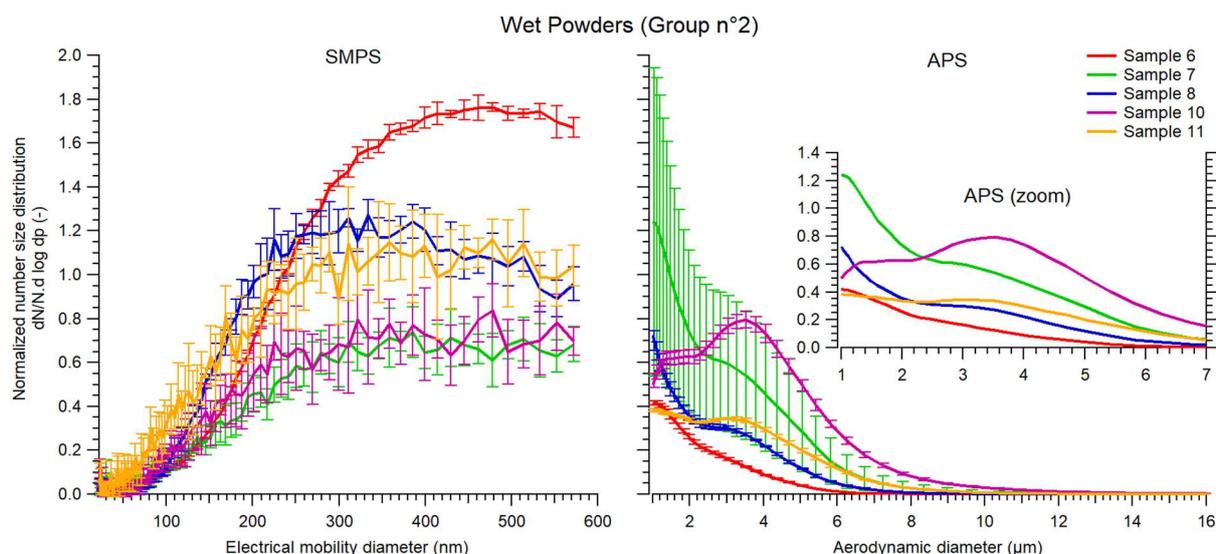


Figure 5 : Average PNSD for phytopharmaceutical WP (Group n°2) samples : (Left) - SMPS measurements between 20 nm and 570 nm ; (Right) - APS measurements between 1 µm and 16 µm. Error bars of each graph represent measurement standard deviation (STD).

Associated statistical diameters are presented in Table 5 in terms of median, mean and modal diameters. It is important to point out that sample 10 and 11 were characterized by bimodal PNSD with SMPS average modal diameters of 382 nm ± 65 nm and 370 nm ± 77 nm respectively, and with APS average modal diameters of 3.5 µm ± 0.1 µm and 3.1 µm ± 0.1 µm respectively.

Table 5 : SMPS and APS statistical diameters associated to average PNSD for phytopharmaceutical WP (Group n°2) samples.

WP (Group n°2)		SMPS statistical diameter (nm)			APS statistical diameter (µm)		
		Median	Mean	Modal	Median	Mean	Mode
Sample 6	Average	336	332	480	1.50	2.00	---
	STD	3	3	42	0.05	0.05	---
Sample 7	Average	289	296	454	1.70	2.30	---
	STD	8	7	46	0.10	0.10	---
Sample 8	Average	283	297	313	1.70	2.20	---
	STD	1	2	60	0.05	0.05	---
Sample 10	Average	276	288	382	2.60	3.00	3.50
	STD	17	13	65	0.05	0.05	0.10
Sample 11	Average	265	277	370	2.20	2.70	3.10
	STD	10	5	77	0.05	0.05	0.10

From average PNSD for group n°2 of phytopharmaceutical WP samples, references 6, 7, 8, 10 and 11 have particulate contribution < 100 nm of 11%, 6%, 23%, 11% and 13% respectively in the 17 nm – 570 nm SMPS measurement size range. **It is important to mention that such measurements in aerosol phase are associated to aggregates/agglomerates measurements and not to primary particles.**

Figure 6 presents average PNSD for phytopharmaceutical DP samples. SMPS measurements are presented on the left hand side graph with a particle size range of 20 nm - 570 nm. APS measurements are presented on the right hand side graph with a particle size range of 1 µm - 16 µm with a dedicated zoom between 1 µm and 8 µm and with a different concentration scale for sample 15 (in purple).

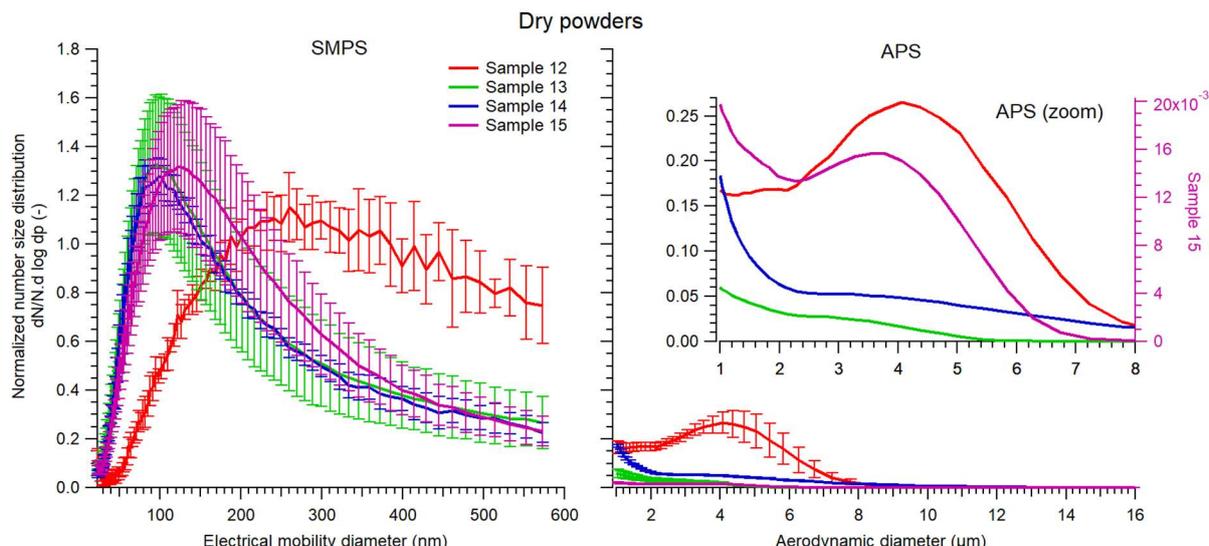


Figure 6 : Average PNSD for phytopharmaceutical DP samples : (Left) - SMPS measurements between 20 nm and 570 nm ; (Right) - APS measurements between 1 µm and 16 µm. Error bars of each graph represent standard deviation.

Associated statistical diameters are presented in Table 6 in terms of median, mean and modal diameters. It is important to point out that sample 12 and 15 were characterized by bimodal PNSD with SMPS average modal diameters of 249 nm ± 19 nm and 123 nm ± 7 nm respectively, and with APS average modal diameters of 4.2 µm ± 0.4 µm and 3.6 µm ± 0.2 µm respectively.

Table 6 : SMPS and APS statistical diameters associated to average PNSD for phytopharmaceutical DP samples.

DP		SMPS statistical diameter (nm)			APS statistical diameter (µm)		
		Median	Mean	Modal	Median	Mean	Mode
Sample 12	Average	221	242	249	2.70	3.20	4.20
	STD	12	10	19	0.20	0.20	0.40
Sample 13	Average	111	148	96	1.70	2.10	---
	STD	5	7	6	0.10	0.10	---
Sample 14	Average	113	150	99	1.80	2.70	---
	STD	3	3	11	0.05	0.05	---
Sample 15	Average	127	159	123	2.10	2.60	3.60
	STD	4	3	7	0.10	0.10	0.20

From average PNSD for phytopharmaceutical DP samples 12, 13, 14 and 15, particulate contribution < 100 nm was characterized to be 18%, 46%, 45% and 38% respectively in the 17 nm – 570 nm SMPS measurement size range. **It is important to mention that such measurements in aerosol phase are associated to aggregates/agglomerates measurements and not to primary particles.**

Figure 7 presents group n°1 of average PNSD for biocide samples. SMPS measurements are presented on the left hand side graph with a particle size range of 20 nm - 570 nm. APS measurements are presented on the right hand side graph with a particle size range of 1 µm - 20 µm with a dedicated zoom between 1 µm and 8 µm.

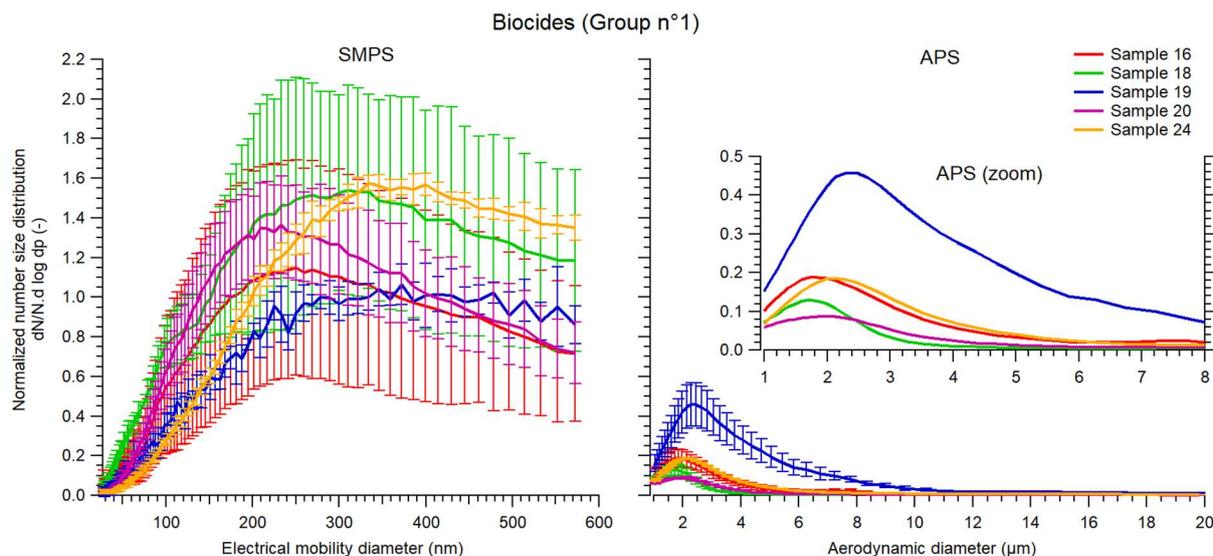


Figure 7 : Average PNSD for biocide (Group n°1) samples : (Left) - SMPS measurements between 20 nm and 570 nm ; (Right) - APS measurements between 1 µm and 20 µm. Error bars of each graph represent standard deviation.

Associated statistical diameters are presented in Table 7 in terms of median, mean and modal diameters. It is important to point out that all the samples of this Biocides – Group n°1 were characterized by bimodal PNSD from SMPS and APS measurements.

Table 7 : SMPS and APS statistical diameters associated to average PNSD for biocide (Group n°1) samples.

Biocides (Group n°1)		SMPS statistical diameter (nm)			APS statistical diameter (µm)		
		Median	Mean	Modal	Median	Mean	Mode
Sample 16	Average	208	229	200	1.90	2.60	1.90
	STD	20	16	107	0.10	0.10	0.10
Sample 18	Average	218	241	288	1.70	2.30	1.70
	STD	23	16	59	0.05	0.05	0.10
Sample 19	Average	251	265	408	2.60	3.40	2.40
	STD	12	8	83	0.10	0.10	0.10
Sample 20	Average	215	240	214	1.90	2.50	2.0
	STD	3	2	19	0.05	0.05	0.1
Sample 24	Average	289	296	373	2.10	2.80	2.20
	STD	6	6	31	0.05	0.10	0.10

From average PNSD for group n°1 of biocides samples, references 16, 18, 19, 20 and 24 have particulate contribution < 100 nm of 22%, 36%, 20%, 16% and 9% respectively in the 17 nm – 570 nm SMPS measurement size range. **It is important to mention that such measurements in aerosol phase are associated to aggregates/agglomerates measurements and not to primary particles.**

Figure 8 presents group n°2 of average PNSD for biocide samples. Average SMPS measurement is presented on the left hand side graph with a particle size range of 20 nm - 570 nm for sample 17 only, since average SMPS PNSD for sample 21 was considered as not significant. For both samples, APS measurements are presented on the right hand side graph with a particle size range of 1 µm - 20 µm.

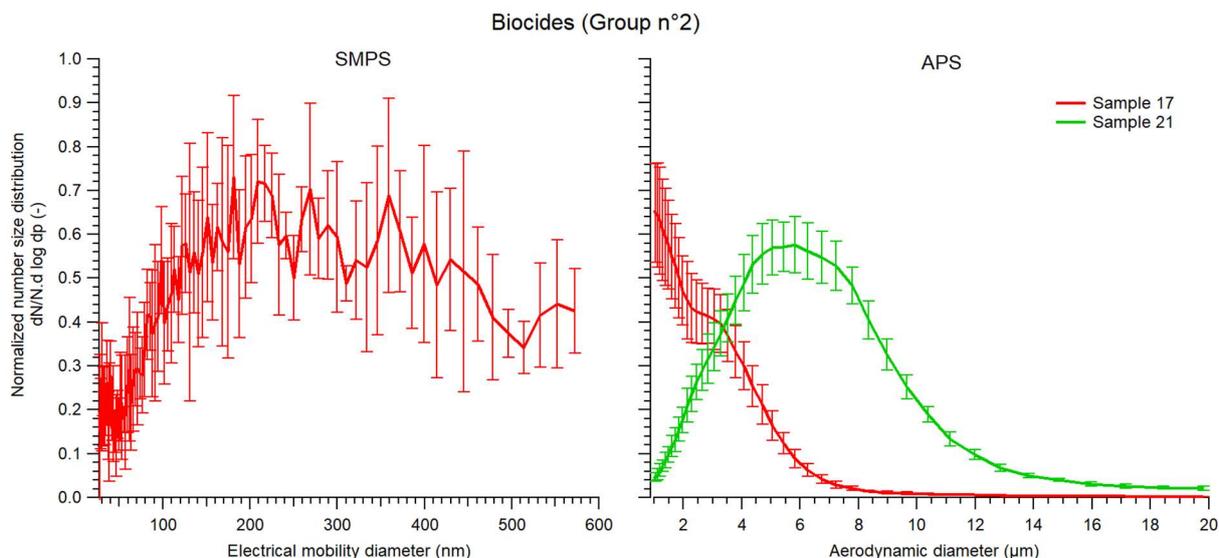


Figure 8 : Average PNSD for biocide (Group n°2) samples : (Left) - SMPS measurements between 20 nm and 570 nm ; (Right) - APS measurements between 1 µm and 20 µm. Error bars of each graph represent standard deviation.

Associated statistical diameters are presented in Table 8 in terms of median, mean and modal diameters. It is important to point out that sample 21 was characterized by an APS PNSD with an average modal diameter of 5.8 µm ± 0.3 µm.

Table 8 : SMPS and APS statistical diameters associated to average PNSD for biocide (Group n°2) samples.

Biocides (Group n°2)		SMPS statistical diameter (nm)			APS statistical diameter (µm)		
		Median	Mean	Modal	Median	Mean	Mode
Sample 17	Average	157	190	90	1.80	2.40	---
	STD	10	9	107	0.05	0.05	---
Sample 21	Average	---	---	---	4.50	5.30	5.80
	STD	---	---	---	0.10	0.10	0.30

From average PNSD for group n°2 of biocides samples, references 17 and 21 have particulate contribution < 100 nm of 15% and 36% respectively in the 17 nm – 570 nm SMPS measurement size range. **It is important to mention that such measurements in aerosol phase are associated to aggregates/agglomerates measurements and not to primary particles.**

Figure 9 presents group n°3 of average PNSD for biocide samples. SMPS measurements are presented on the left hand side graph with a particle size range of 20 nm - 570 nm. APS measurements are presented on the right hand side graph with a particle size range of 1 µm - 20 µm with a dedicated zoom between 1 µm and 7 µm.

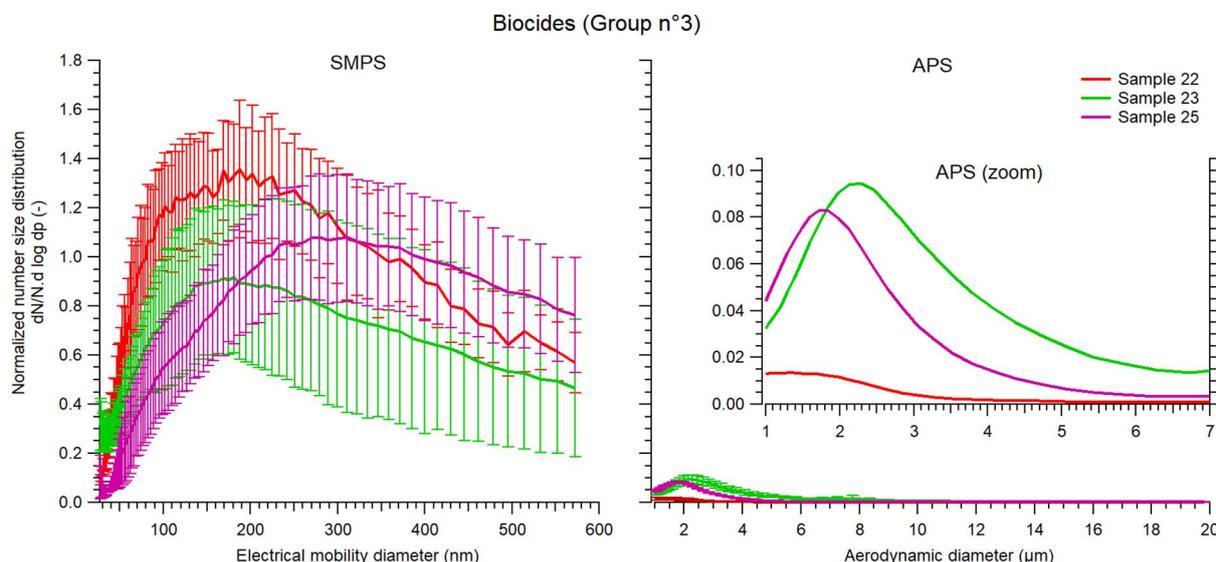


Figure 9 : Average PNSD for biocide (Group n°3) samples : (Left) - SMPS measurements between 20 nm and 570 nm ; (Right) - APS measurements between 1 µm and 20 µm. Error bars of each graph represent standard deviation.

Associated statistical diameters are presented in Table 9 in terms of median, mean and modal diameters. It is important to point out that all the samples of this Biocides – Group n°3 were characterized by bimodal PNSD from SMPS and APS measurements.

Table 9 : SMPS and APS statistical diameters associated to average PNSD for biocide (Group n°3) samples.

Biocides (Group n°3)		SMPS statistical diameter (nm)			APS statistical diameter (µm)		
		Median	Mean	Modal	Median	Mean	Mode
Sample 22	Average	152	188	192	1.50	2.30	1.20
	STD	5	3	18	0.10	0.10	0.20
Sample 23	Average	135	172	145	2.20	3.00	2.20
	STD	20	19	79	0.10	0.10	0.10
Sample 25	Average	189	216	173	1.80	2.40	1.80
	STD	26	22	145	0.05	0.05	0.10

From average PNSD for group n°3 of biocides samples, references 22 , 23 and 25 have particulate contribution < 100 nm of 29%, 39% and 31% respectively in the 17 nm – 570 nm SMPS measurement size range. **It is important to mention that such measurements in aerosol phase are associated to aggregates/agglomerates measurements and not to primary particles.**

4.2 Phytopharmaceutical CoS and CaS samples

All samples have been prepared (dilution, drying and ultrasonication) before measurements, except for static deposition. Note that the phase of sample preparation can generate modifications like opening shell.

It should be remembered that the study consists in only targeting particles smaller than 100 nm, identifying them and then measuring their size distribution.

4.2.1 Sample reference: [REDACTED] Sample 26

[REDACTED] The nano-capsules have been developed as insecticide carrier for lambda-cyhalothrine ($C_{23}H_{19}ClF_3NO_3$), as active ingredient (Figure 10).

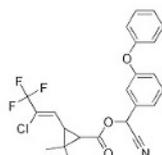


Figure 10 : Chemical formula of the active substance

SEM images of particles of various shapes (fibrillar and spherical structure) are reported on Figure 11, corresponding to the static deposition without ultrasonication. Isolated particles of different shapes and agglomerates (3)³/ aggregates (4)⁴ are observed.

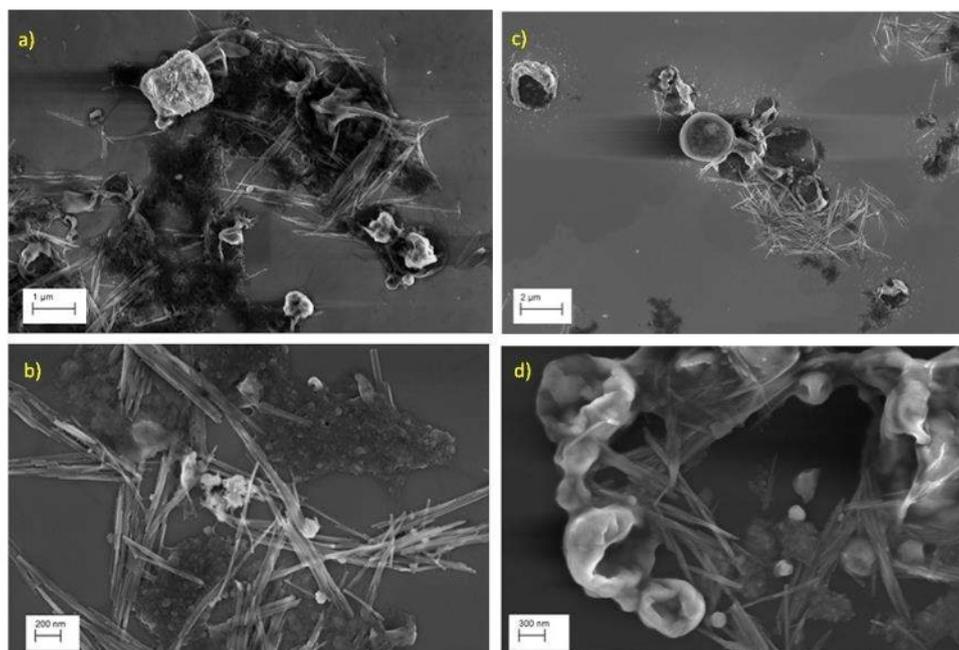


Figure 11: SEM images from sample [REDACTED] (a, b) static deposition without ultrasonication step and (c, d) diluted suspension deposition with step of washing, ultrasonication and spin coater deposition

³ ISO/TS 80004-2:2015 - Agglomerate: collection of weakly or medium strongly bound *particles* where the resulting external surface area is similar to the sum of the surface areas of the individual components

⁴ ISO/TS 80004-2:2015 - Aggregate: *particle* comprising strongly bonded or fused particles where the resulting external surface area is significantly smaller than the sum of surface areas of the individual components

To confirm the chemical nature of the observed particles (spherical and fibrillary), an elemental analysis was performed on the agglomerates/aggregates using the EDX technique (Figure 12).

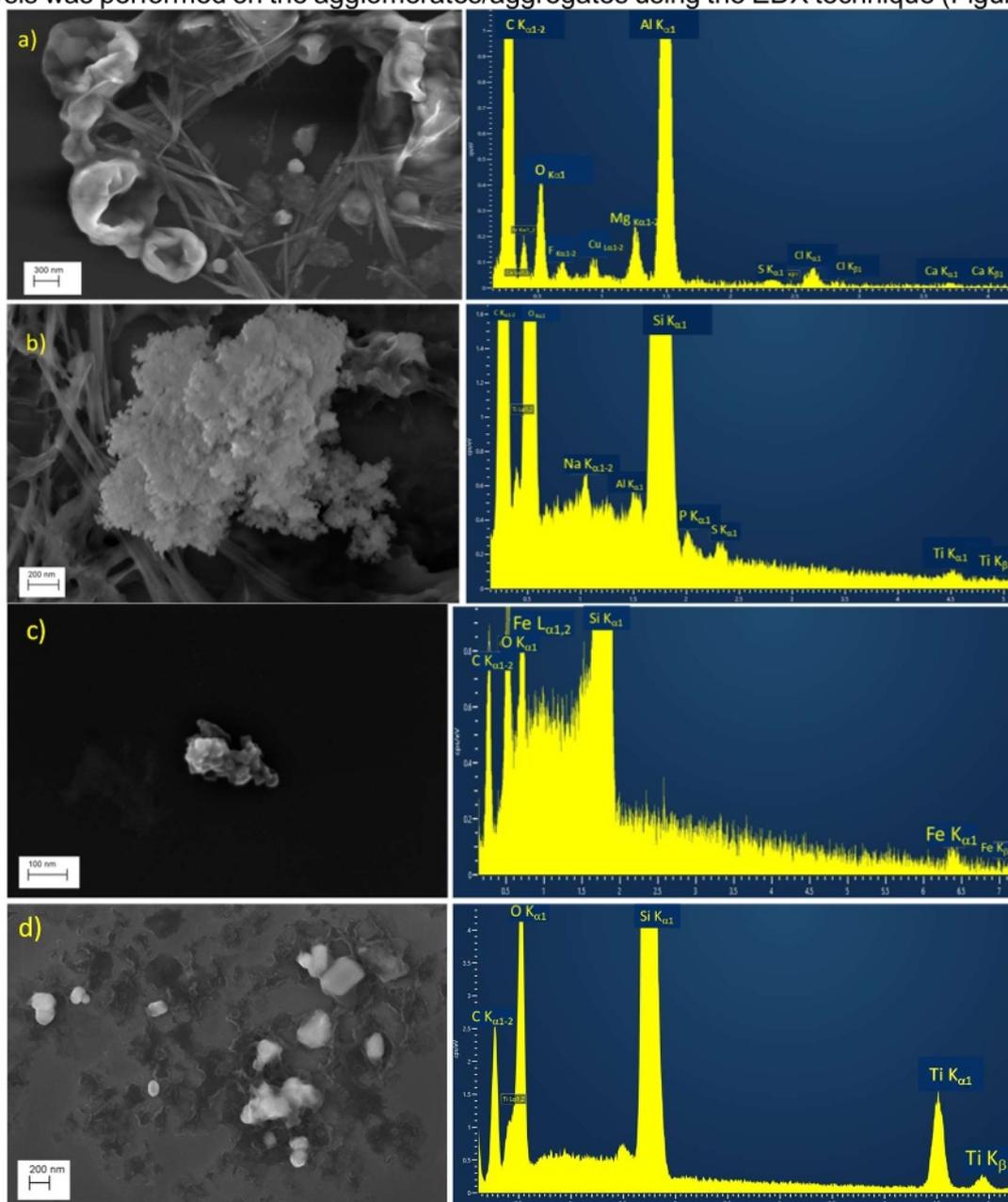


Figure 12: Sample [redacted] corresponding to diluted suspension with step of washing, ultrasonication and spin coater deposition a) SEM image and EDX spectrum performed on agglomerate with fibers and nano-capsules, b) SEM image and EDX spectrum performed particles and fibers, and c), d) SEM images and EDX spectrums performed on particles outside the shell

The peaks relative to the $Cl K\alpha$ and $K\beta$, $F K\alpha$, $N K\alpha$, rays and the oxygen $O K\alpha$ ray present on the EDX spectrum (Figure 12a) are perfectly visible. Fluor, Chlorine and Nitrogen peaks coming from active ingredient is clearly identified on the EDX spectrum. Fibrillar structure is likely composed of a mixture of sepiolite and halloysite structure confirmed by elementary composition with Mg, Si, Al identified on EDX/SEM fibers images (Figure 12b). The silicon $Si K\alpha$ peak comes on one hand, from the substrate used for the deposition of the particles and on the other hand, from the fibers. The iron $Fe K\alpha$ peak and $Ti K\alpha$ peak are also visible on the

EDX spectrum. A focus is made on particles (Figure 12 c and d) with identification of iron and titanium as macronutrients (5) inside the shell that should be released.

In order to confirm the chemical composition of the particles, EDX-mapping was carried out on the agglomerated particles (Figure 12d). The results are given in Figure 13. For the other particles present in minor quantities with small size, we are at the limit of detection to carry out a cartography.

The presence of titanium and oxygen corresponds exactly to the location of the particles, confirming clearly the presence of titanium dioxide particles.

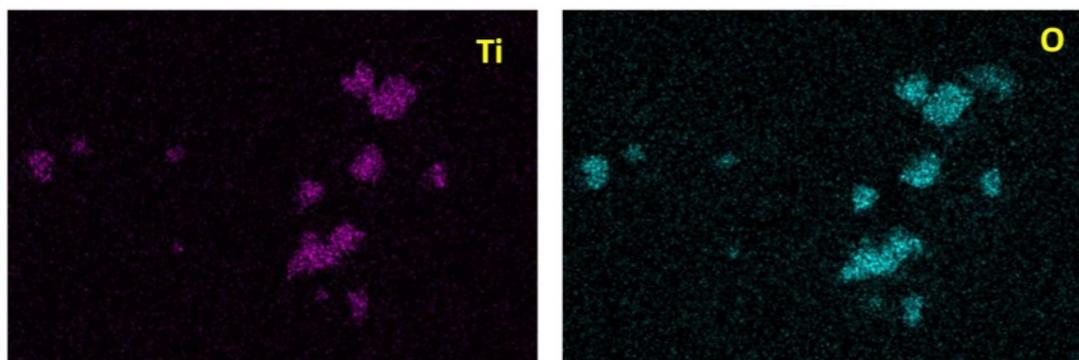


Figure 13: EDX mapping performed on the agglomerated particles in Figure 12d

From the SEM images obtained, a set of fiber was measured in order to construct a histogram of number size distribution (Figure 14). Only the smallest dimension ($D_{\text{Ferret min}}$) of each constituent particle was measured as recommended by the European authorities. In order to ensure that the dimensional measurements are representative of the entire population studied, around 150 constituent fibers were analyzed by using Platypus software.

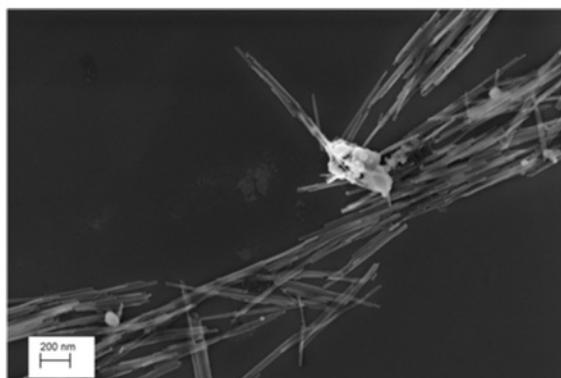


Figure 14: SEM image of likely mixture of halloysite and sepiolite from [redacted]

For each set of data, the number size distribution was constructed (Figure 15) and different parameters were extracted (average size, size distribution, mode of the distribution, median (D50)) (Table 10).

⁵ Macronutrient is a chemical element (e.g. potassium, magnesium, calcium) required in large amounts for plant growth. Macronutrient are included such as Nitrogen (N), Phosphorus (P), Potassium (K), Magnesium (Mg), Sulfur (S) and Calcium (Ca) which are essential for plant growth. (Liu, R., Lal, R. Synthetic apatite nanoparticles as a phosphorus fertilizer for soybean (Glycine max). Sci Rep 4, 5686 (2015).

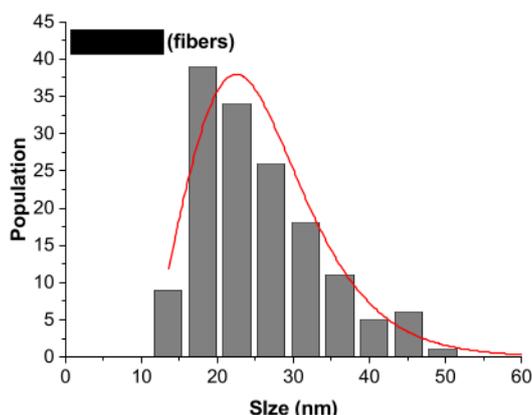


Figure 15: Number size distribution histogram of fibers from [redacted]

The table 10 summarized the various parameters from this measurement.

Table 10 : Parameters from the size distribution of the [redacted] from fibers

Mesurand	Value in nm
Average size (DFeret Min)	23.4
Size distribution (standard deviation)	8.2
Mode	19.6
Median (D50)	22.1

Mode: The mode of the distribution is the average size of the most common class.

D50 (Median size): the size which divides the distribution into two parts of equal area.

From the results of the histogram, **100%** by number of fibers population (likely composed by a mixture of halloysite and sepiolite) of [redacted] is **less than 100 nm**.

From the SEM images obtained from initial suspension and after spin-coater deposition (Figure 16), a set of particles containing iron (Fe) (Figure 16a) and titanium dioxide (TiO₂) constituent particles (Figure 16b) are clearly identified.

But, regarding particles containing iron (Fe) the particle concentration is too low, that makes it impossible to count 100 particles with the protocol set up. Nevertheless, the particles present a minimum Feret diameter smaller than 100 nm as observed in Figure 16a.

For titanium dioxide, the particle concentration is too low to obtain a size distribution. Moreover, on SEM images 100% by number of the constituent particle population is greater than 100 nm.

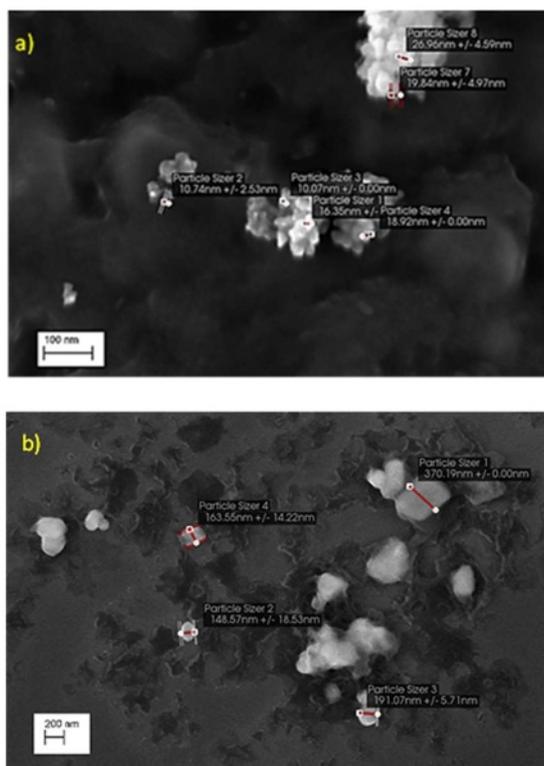


Figure 16: SEM images from [REDACTED] (a) particles containing iron (Fe) and (b) titanium dioxide (TiO₂) particles

4.2.2 Sample reference: [REDACTED] Sample 27

[REDACTED]. The nano-capsules have been developed as herbicide carrier for 2-(2-chlorobenzyl)-4,4-diméthyl-1,2-oxazolidin-3-one (C₁₂H₁₄ClNO₂), as active ingredient (Figure 17).

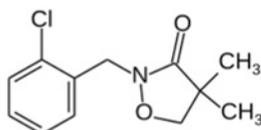


Figure 17: Chemical formula of the active substance

SEM images of nano-capsules are reported on Figure 18(a) corresponding to the static deposition without sonication step. Isolated particles of various shapes and agglomerates/aggregates are observed Figure 18(b and c) after dilution and washing step to extract particles.

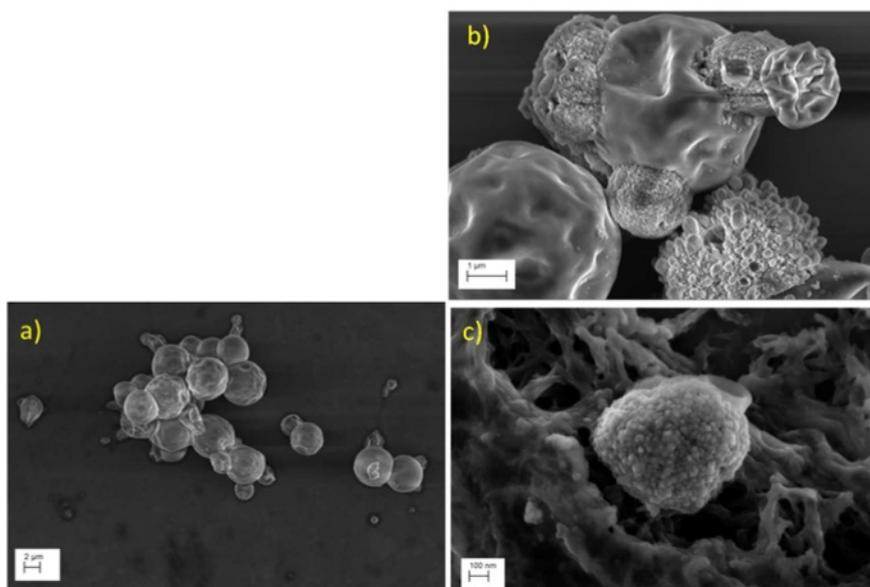


Figure 18: SEM images from sample [redacted] (a) static deposition without ultrasonication step and (b, c) diluted suspension with step of washing, ultrasonication and spin coater deposition

To confirm the chemical nature of the observed particles on (Figure 18 b and c), an elemental analysis was performed using the EDX technique (Figure 19) on the agglomerate/aggregates.

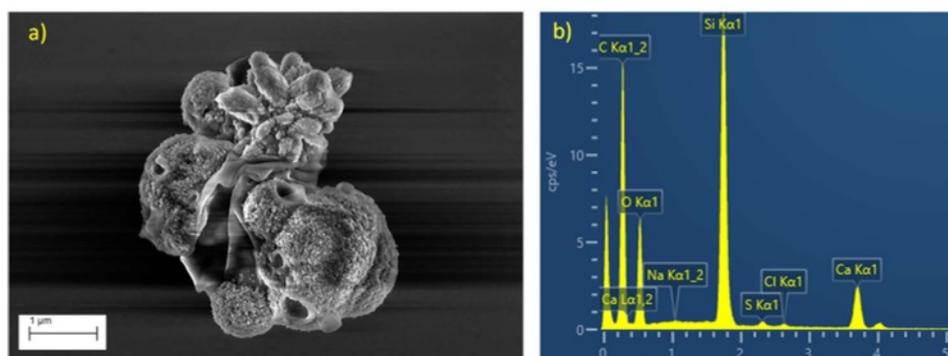


Figure 19: Sample [redacted] a) SEM image of an agglomerate of particles corresponding to diluted suspension with step of washing, ultrasonication and spin coater deposition and b) EDX spectrum performed on the particles agglomerates

The peaks relative to the carbon C K α ray, the calcium Ca K α , calcium Ca L α rays, S K α ray and the oxygen O K α ray present on the EDX spectrum (Figure 19) are perfectly visible. The silicon Si K α peak comes from the substrate used for the deposition of the particles. The presence of the chlorine (Cl K α) is related to the active ingredient.

In order to confirm the chemical composition of the particles, EDX-mapping was carried out on the same agglomerated particles. The results are given in Figure 20. The presence of calcium, carbon and oxygen corresponds exactly to the location of the particles, confirming that these particles are indeed likely composed of calcium carbonate. According to the literature, calcium carbonate was also studied in terms of acting as a carrier (6).

⁶ Qian, K., Shi, T., Tang, T. et al. Preparation and characterization of nano-sized calcium carbonate as controlled release pesticide carrier for validamycin against *Rhizoctonia solani*. *Microchim Acta* 173, 51–57 (2011). <https://doi.org/10.1007/s00604-010-0523-x>

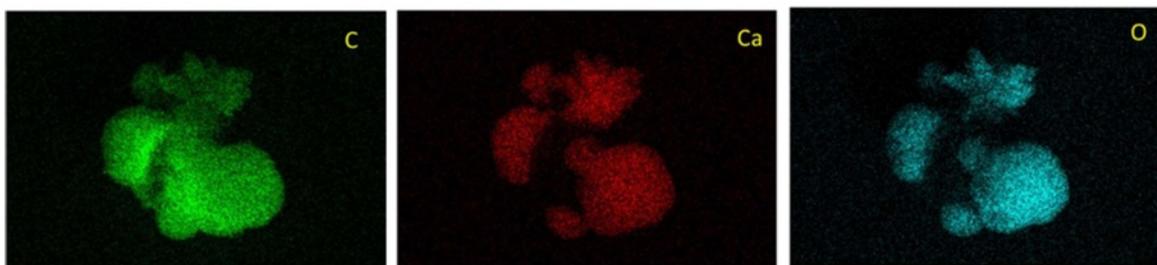


Figure 20: EDX mapping performed on the agglomerated particles in Figure 19

From the obtained SEM images (Figure 21), a set of likely calcium carbonate constituent particles was measured in order to construct a histogram of number size distribution (Figure 22).

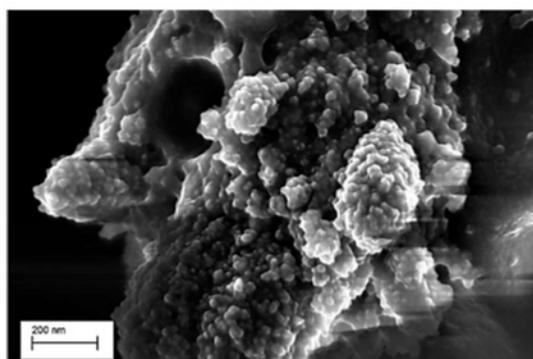


Figure 21: SEM image of likely calcium carbonate constituent particles from [redacted]

Only the smallest dimension of each constituent particle was measured as recommended by the European authorities. In order to ensure that the dimensional measurements are representative of the entire population studied, around 100 constituent particles were analyzed by using Platypus software. For each set of data, the number size distribution was obtained (Figure 22) and different parameters were extracted (average size, size distribution, mode of the distribution, median) (Table 11).

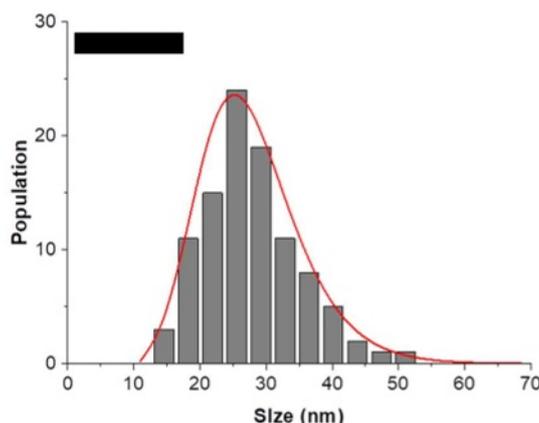


Figure 22: Number size distribution histogram of likely calcium carbonate constituent particles from [redacted]

The table 11 summarized the various parameters from this measurement.

Mesurand	Value in nm
Average size	25.9
Size distribution (standard deviation)	7.3
Mode	25.5
Median (D50)	24.9

Mode: The mode of the distribution is the average size of the most common class.

D50 (Median size): the size which divides the distribution into two parts of equal area.

From the results of the histogram, **100% by number of likely calcium carbonate constituent particles** population of [REDACTED] is less than 100 nm.

4.2.3 Sample reference: [REDACTED] Sample 28

[REDACTED]. The nano-capsules suspensions have been developed as fungicide carrier for Eugenol (3.3%), Geraniol (6.6%) and Thymol (6.6%), as active ingredients (Figure 23).

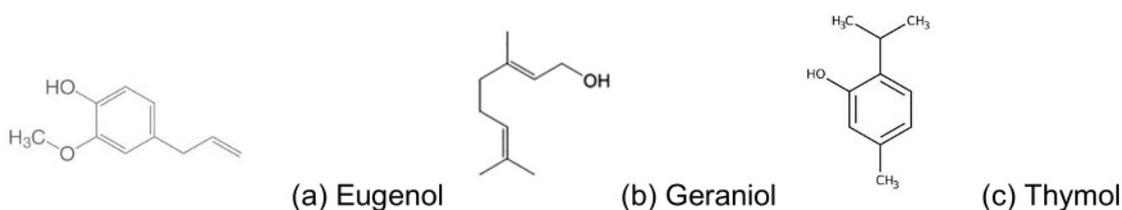


Figure 23: Chemical formula of the active substances

SEM images of particles of various shapes are reported on Figure 24, corresponding to the static deposition without ultrasonication (Figure 24 a) and diluted suspension with step of washing, ultrasonication and spin coater deposition (Figure 24 b, Figure 24 c). Isolated particles made of constituent particles are observed.

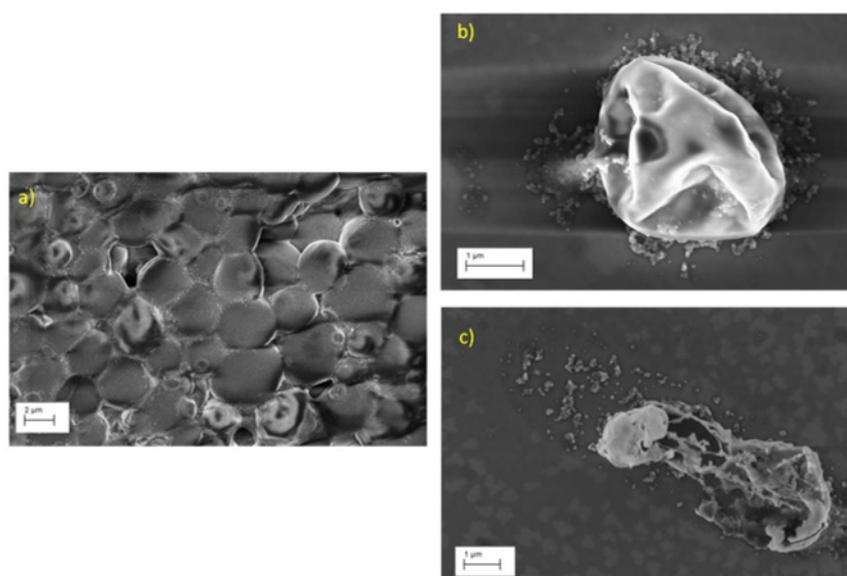


Figure 24: SEM images from sample [REDACTED] (a) static deposition without ultrasonication and (b, c) diluted suspension with step of washing, ultrasonication and spin coater deposition

To confirm the chemical nature of the observed particles (spherical), an elemental analysis was performed on the agglomerate/aggregate using the EDX technique (Figure 25).

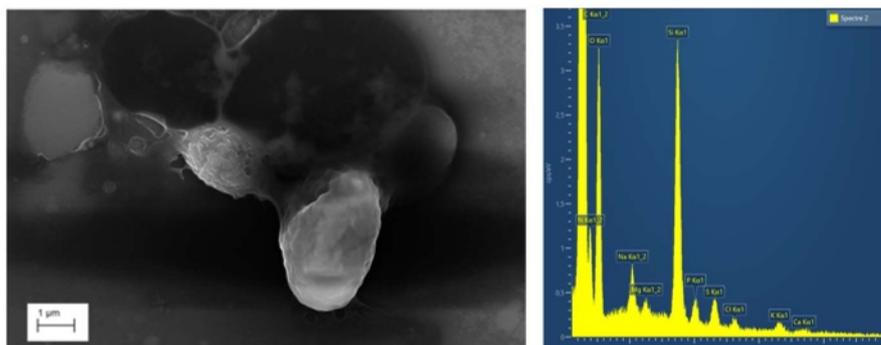


Figure 25: SEM image and EDX spectrum performed on the agglomerates of spherical particles outside the shell

The peaks relative of various element such as Mg $K\alpha$, K $K\alpha$, S $K\alpha$, Na $K\alpha$, P $K\alpha$, Cl $K\alpha$, Ca $K\alpha$, Ca $K\beta$, N $K\alpha$ rays and the oxygen O $K\alpha$ ray present on the EDX spectrum (Figure 25) are perfectly visible. The silicon Si $K\alpha$ peak comes from the substrate used for the deposition of the particles.

In order to confirm the chemical composition of the particles, EDX-mapping was carried out on the agglomerated particles (Figure 26).

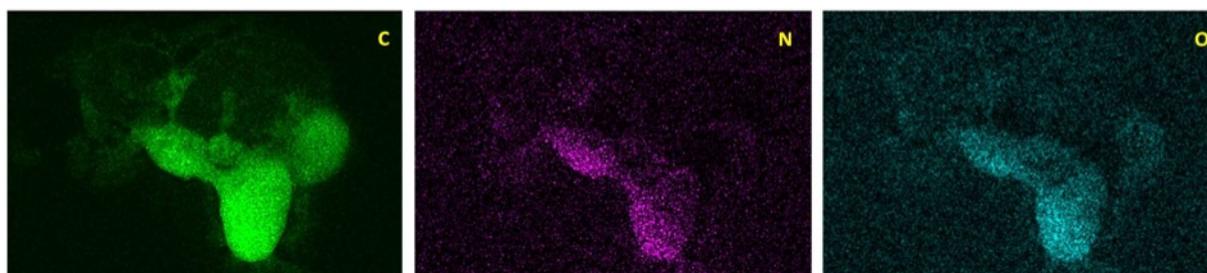


Figure 26: EDX mapping performed on the agglomerated particles in Figure 23

From the SEM images obtained (Figure 27), a set of spherical constituent particles was measured in order to construct a histogram of number size distribution.

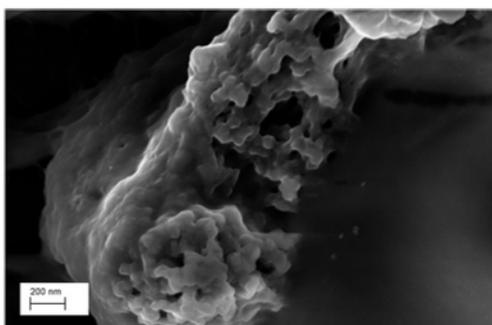


Figure 27: SEM image of constituent particles from [REDACTED]

Only the smallest dimension (min. Feret Diameter) of each constituent particle was measured as recommended by the European authorities. In order to ensure that the dimensional measurements are representative of the entire population studied, 100 constituent particles were analyzed by using Platypus software. For each set of data, the number size distribution was constructed (Figure 28) and different parameters were extracted (average size, size distribution, distribution mode, median) (Table 12).

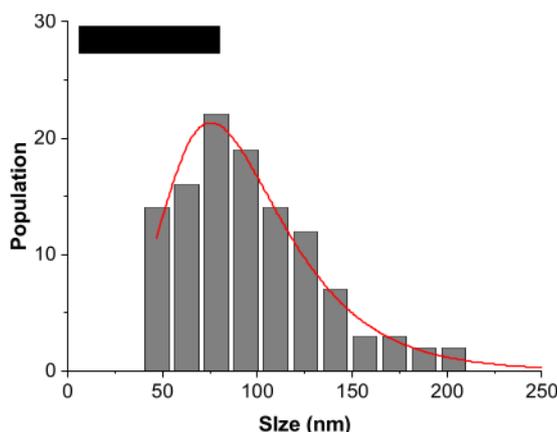


Figure 28: Number size distribution histogram of constituent particles (containing carbon, nitrogen and oxygen) extracted from [redacted]

The table 12 summarized the various parameters from this measurement.

Table 12: Parameters from the size distribution of the [redacted]

Mesurand	Value in nm
Average size	87.5
Size distribution (standard deviation)	40.2
Mode	65.6
Median (D50)	79.5

Mode: The mode of the distribution is the average size of the most common class.

D50 (Median size): the size which divides the distribution into two parts of equal area.

From the results of the histogram, **69%** by number of the constituent particles population containing mainly, carbon of [redacted] is **less than 100 nm**.

4.2.4 Sample reference: [redacted] Sample 29

[redacted]. The nano-capsules have been developed as herbicide carrier for 2-(2-chlorobenzyl)-4,4-diméthyl-1,2-oxazolidin-3-one (clomazone) in metazachlor solution, as active ingredient (Figure 29).

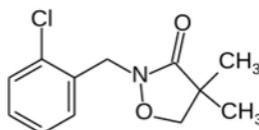


Figure 29: Chemical formula of the active substance

SEM images of particles are reported on Figure 30, corresponding to the static deposition without ultrasonication (Figure 30 a) and diluted suspension with step of washing, ultrasonication and spin coater deposition (Figure 30 b, Figure 30 c).

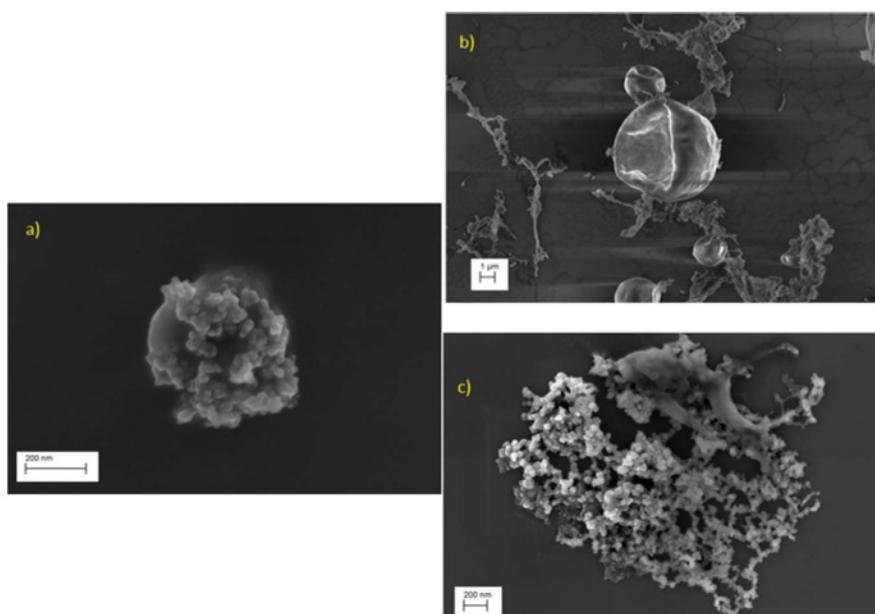


Figure 30: SEM images from sample [REDACTED] (a) static deposition without ultrasonication and (b, c) diluted suspension with step of washing, ultrasonication and spin coater deposition

To confirm the chemical nature of the observed particles (spherical), an elemental analysis was performed on the agglomerate/aggregate using the EDX technique (Figure 31).

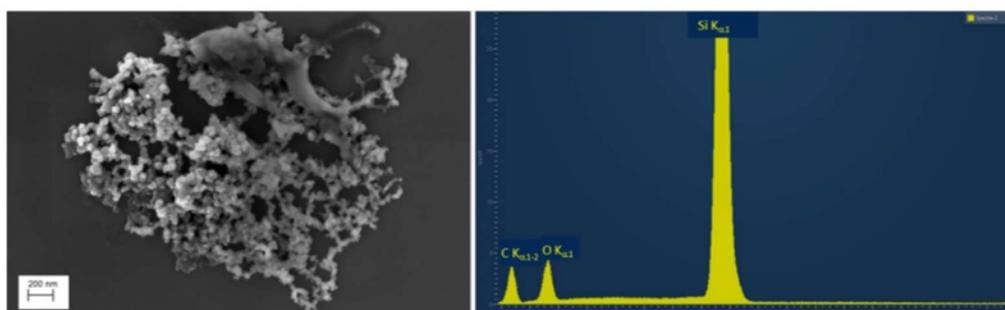


Figure 31: SEM image and EDX spectrum performed on the particle agglomerate/aggregate on spherical particles

The peaks relative to the C $K\alpha$ ray and the oxygen O $K\alpha$ ray present on the EDX spectrum above are perfectly visible on particles. The silicon Si $K\alpha$ peak comes from the substrate used for the deposition of the particles.

In order to confirm the chemical composition of the particles, EDX-mapping was carried out on the agglomerates/aggregates (Figure 32). Spherical particles are mainly made of carbon and oxygen.

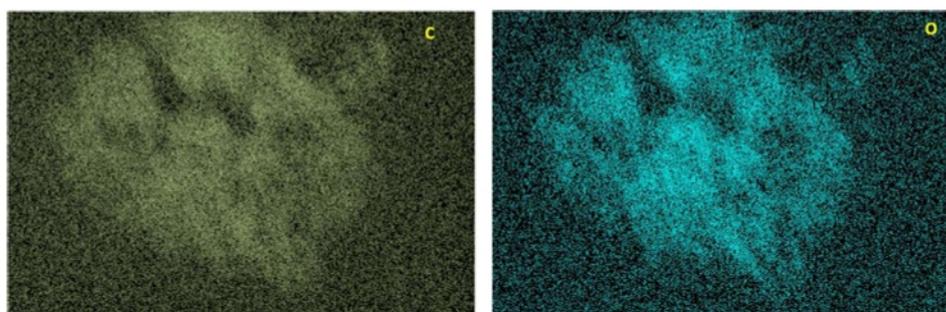


Figure 32: EDX mapping performed on the agglomerated/aggregated particles in Figure 31

From the SEM images obtained (Figure 33), a set of spherical constituent particles was measured in order to construct a histogram of number size distribution.

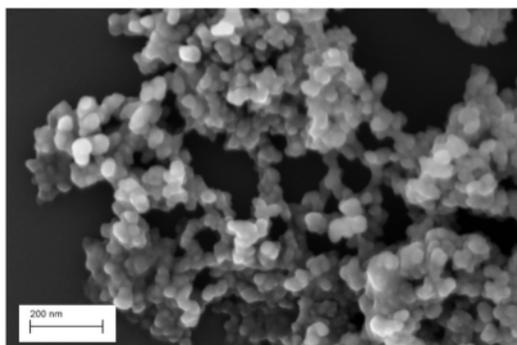


Figure 33: SEM image of constituent particles from [redacted]

Only the smallest dimension (min. Feret Diameter) of each constituent particle was measured as recommended by the European authorities. In order to ensure that the dimensional measurements are representative of the entire population studied, 100 constituent particles were analyzed by using Platypus software. For each set of data, the number-based particle size distribution was constructed (Figure 34) and different parameters were extracted (average size, size distribution, mode of the distribution, median) (Table 13).

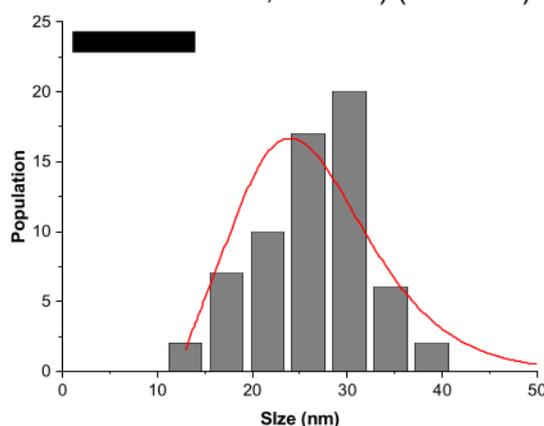


Figure 34: Number size distribution histogram of constituent particles from [redacted]

The table 13 summarized the various parameters from this measurement.

Table 13: Parameters from the size distribution of the [redacted]

Mesurand	Value in nm
Average size	26.4
Size distribution (standard deviation)	7.2
Mode	26.4
Median	26.4

*Mode: The mode of the distribution is the average size of the most common class.
D50 (Median size): the size which divides the distribution into two parts of equal area.*

From the results of the histogram, **100%** by **number of the constituent particles** population mainly carbon and oxygen of [redacted] is less than 100 nm.

4.2.5 Sample reference: [REDACTED] Sample 30

[REDACTED]. The nano-capsules suspensions have been developed as herbicide carrier for 2-(2-chlorobenzyl)-4,4-diméthyl-1,2-oxazolidin-3-one (Fluorochloridone), as active ingredient (Figure 35).

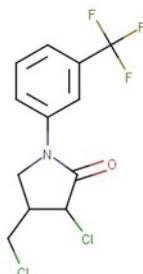


Figure 35: Chemical formula of the active substance

SEM images of particles with various shapes are reported on Figure 36, corresponding to the static deposition without ultrasonication (Figure 36 a) and diluted suspension with step of washing, ultrasonication and deposition by spin-coater (Figure 36 b, Figure 36 c). Isolated particles made of constituent particles are observed.

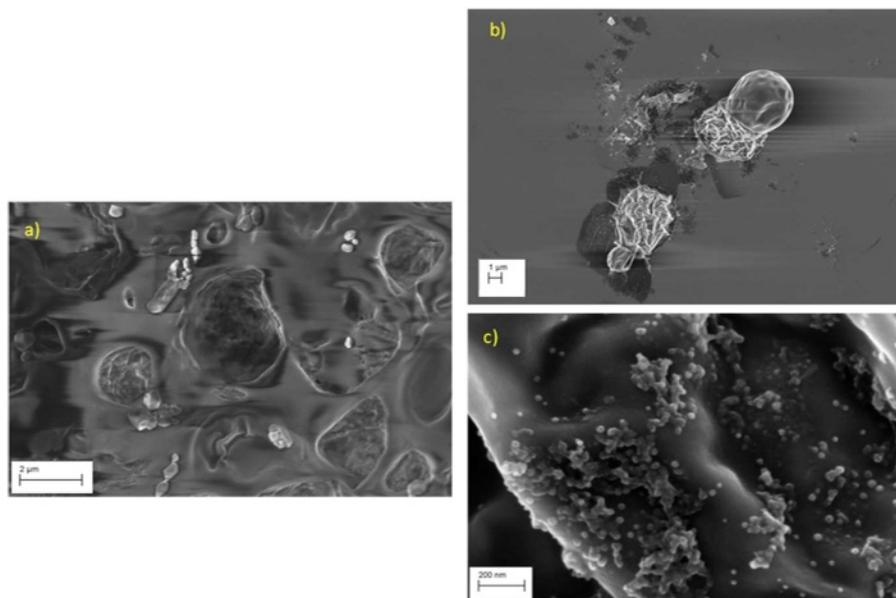


Figure 36: SEM images from sample [REDACTED] (a) static deposition without ultrasonication and (b, c) diluted suspension with step of washing, ultrasonication and spin coater deposition

To confirm the chemical nature of the observed spherical particles (outside the shell), an elemental analysis was performed on the agglomerate/aggregate using the EDX technique (Figure 37).

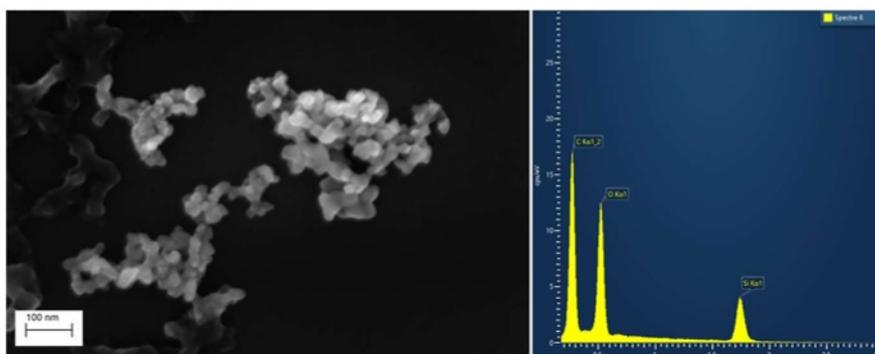


Figure 37: SEM image and EDX spectrum performed on the agglomerate of spherical particles outside the shell

The peaks relative F $K\alpha$ peak, the carbon C $K\alpha$ peak and the oxygen O $K\alpha$ ray present on the EDX spectrum (Figure 37) on spherical particles are perfectly visible and clearly indicate the presence of fluor (chemical element in active substance). The silicon Si $K\alpha$ peak comes from the substrate used for the deposition of the particles.

In order to confirm the chemical composition of the particles, EDX-mapping was carried out on the agglomerates/aggregates (Figure 38). Spherical particles are mainly made of carbon and oxygen.

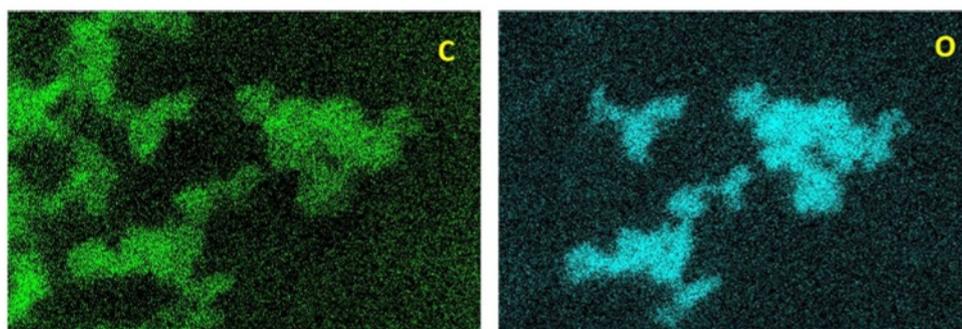


Figure 38: EDX mapping performed on the agglomerated particles in Figure 37

From the SEM images obtained (Figure 39), a set of spherical constituent particles was measured in order to construct a histogram of number size distribution.

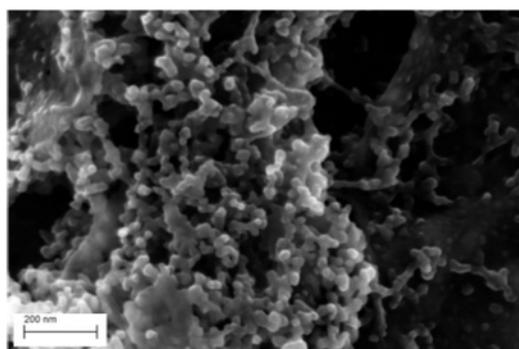


Figure 39: SEM image of constituent particles from [REDACTED]

Only the smallest dimension (min. Feret Diameter) of each constituent particle was measured as recommended by the European authorities. In order to ensure that the dimensional measurements are representative of the entire studied population, 100 constituent particles were analyzed by using Platypus software. For each set of data, the number size distribution

was constructed (Figure 40) and different parameters were extracted (average size, size distribution, mode of the distribution, median) (Table 14).

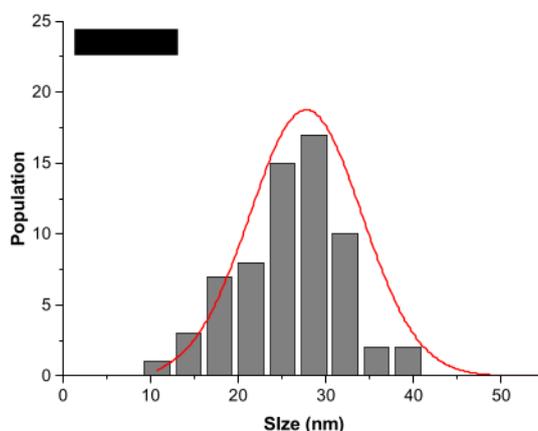


Figure 40: Number size distribution histogram of constituent particles from [REDACTED]

The table 14 summarized the various parameters from this measurement.

Table 14: Parameters from the size distribution of the [REDACTED]

Mesurand	Value in nm
Average size	24.2
Size distribution (standard deviation)	5.9
Mode	24.2
Median (D50)	24.2

*Mode: The mode of the distribution is the average size of the most common class.
D50 (Median size): the size which divides the distribution into two parts of equal area.*

From the results of the histogram, **100%** by number of the constituent particles population (mainly composed of carbon and oxygen) of [REDACTED] is less than 100 nm.

4.2.6 Sample reference: [REDACTED] Sample 31

[REDACTED]. The suspensions have been developed as fungicide carrier for cymoxanil and chlorothalonil, as active ingredients (Figure 41).

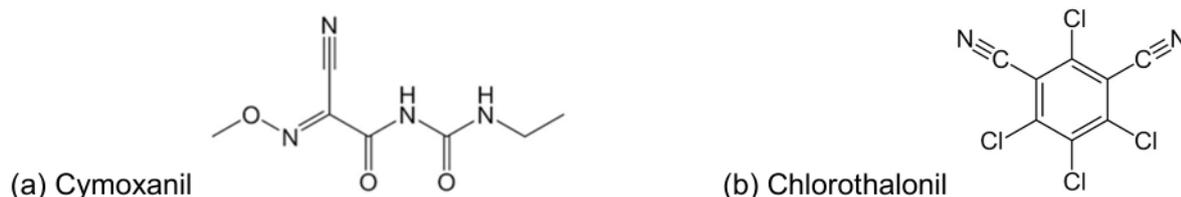


Figure 41: Chemical formula of the active substances

SEM images of suspension are reported on Figure 42 (a, b) corresponding to the static deposition without ultrasonication. Isolated particles with various shapes (fibrillar and spherical structure) and agglomerates composed of constituent particles are observed Figure 42 (c) with the diluted suspension and spin-coater deposition without ultrasonication and Figure 42 (d) after dilution, ultrasonication and washing step to extract particles.

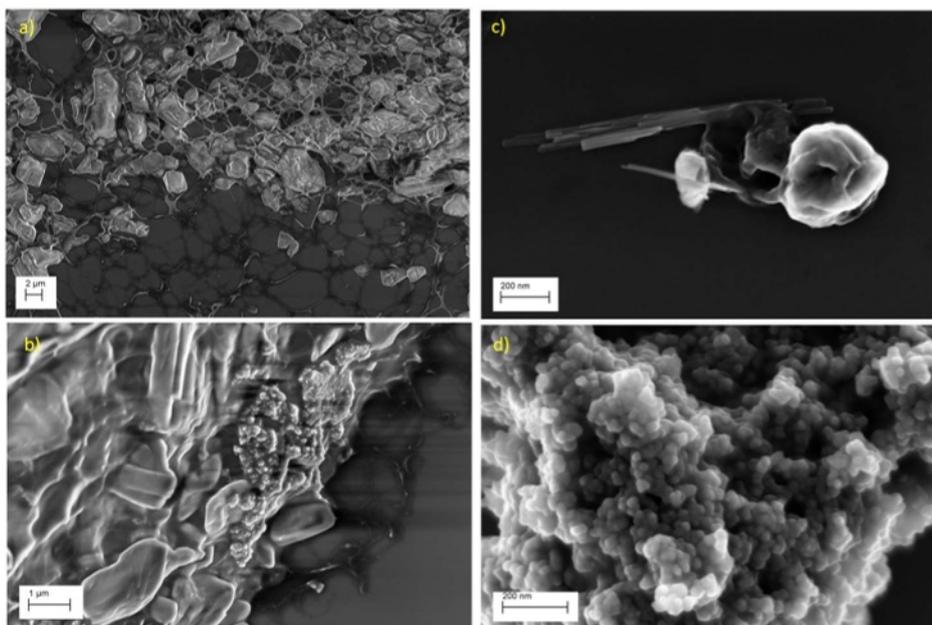


Figure 42: SEM images from sample [redacted] (a, b) static deposition without ultrasonication, (c) diluted suspension without ultrasonication with spin coater deposition and (d) diluted suspension with step of washing, ultrasonication and spin coater deposition

To confirm the chemical nature of the nanoparticles observed outside the shell (spherical and fibrillar structures), an elemental analysis was performed on the agglomerate/aggregate using the EDX technique (Figure 43).

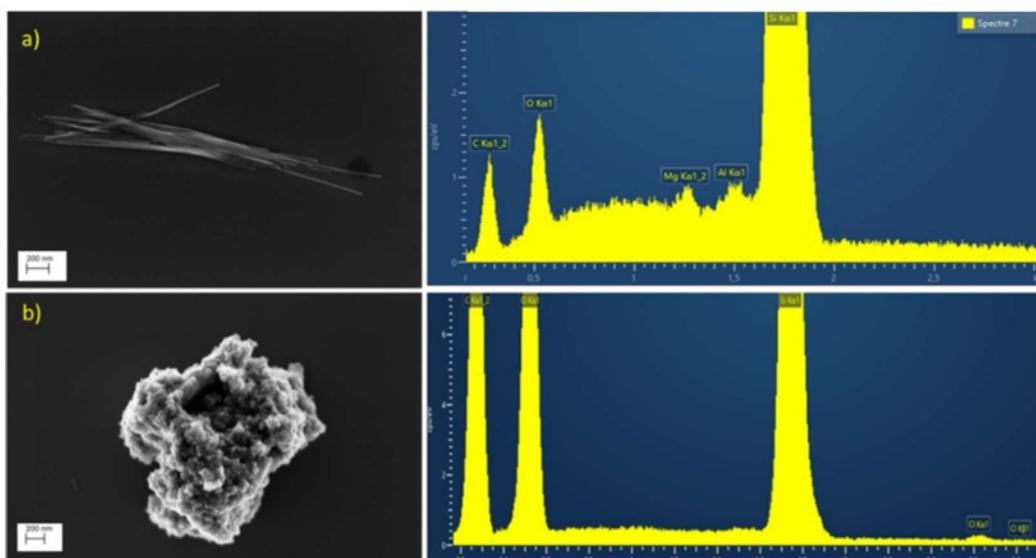


Figure 43: Sample [redacted] corresponding to diluted suspension with step of washing, ultrasonication and spin coater deposition a) SEM image and EDX spectrum performed on fibers observed outside the shell and b) SEM image and EDX spectrum performed on particles outside the shell

The peaks (Figure 43 a) relative to the Mg $K\alpha$, Al $L\alpha$ rays and the oxygen O $K\alpha$ ray present on the EDX spectrum are perfectly visible and clearly indicate the presence of a mixture of sepiolite and halloysite structure. The silicon Si $K\alpha$ peak comes on the one hand, from the substrate used for the deposition of the particles and on the other hand from the fibers. The presence of the chlorine (Cl $K\alpha$, Figure 43 b) is related to the active ingredient.

In order to confirm the chemical composition of the particles, EDX-mapping was carried out on the agglomerates/aggregates (Figure 44). Spherical particles are mainly made of carbon and oxygen.

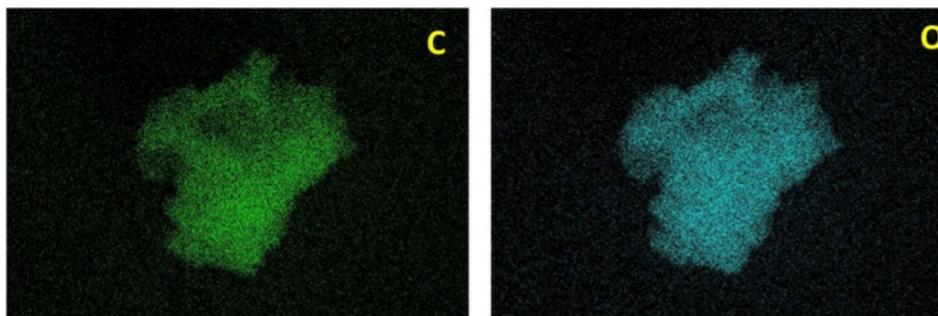


Figure 44: EDX mapping performed on the agglomerated particles in Figure 43 (b)

From the SEM images obtained (Figure 45), a set of spherical constituent particles was measured in order to construct a histogram of number size distribution.

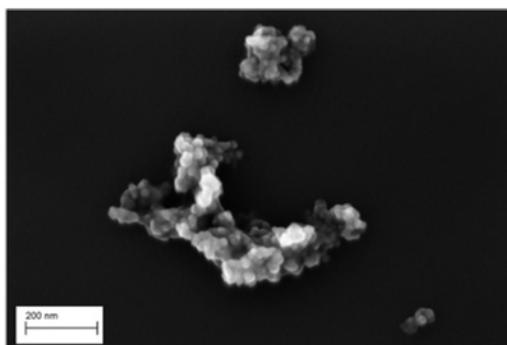


Figure 45: SEM image of constituent particles from [REDACTED]

Only the smallest dimension (min. Feret Diameter) of each constituent particle was measured as recommended by the European authorities. In order to ensure that the dimensional measurements are representative of the entire population studied, 100 constituent particles were analyzed by using Platypus software. For each set of data, the number size distribution was constructed (Figure 46) and different parameters were extracted (mean size, size distribution, mode of the distribution, median) (Table 15).

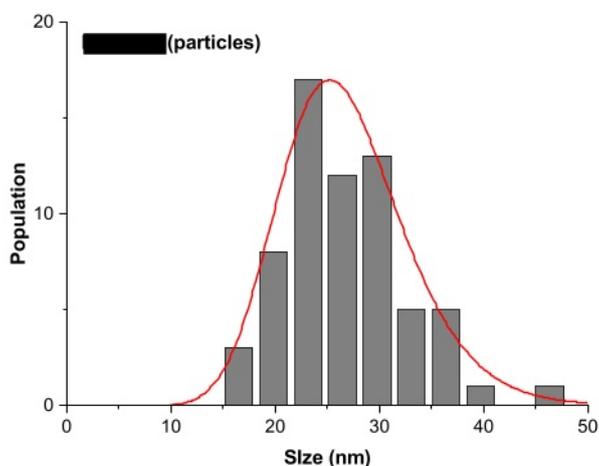


Figure 46: Number size distribution histogram of constituent particles extracted from [REDACTED]

The table 15 summarized the various parameters from this measurement.

Table 15: Parameters of the particle size distribution extracted from [REDACTED]

Mesurand	Value in nm
Average size	23.5
Size distribution (standard deviation)	6.5
Mode	21.1
Median (D50)	22.7

Mode: The mode of the distribution is the average size of the most common class.

D50 (Median size): the size which divides the distribution into two parts of equal area.

From the results of the histogram, **100% by number of the constituent** particles population (mainly composed of carbon and oxygen) of [REDACTED] is **less than 100 nm**.

From the SEM images obtained (Figure 47), a set of fibers was measured in order to construct a histogram of number size distribution.

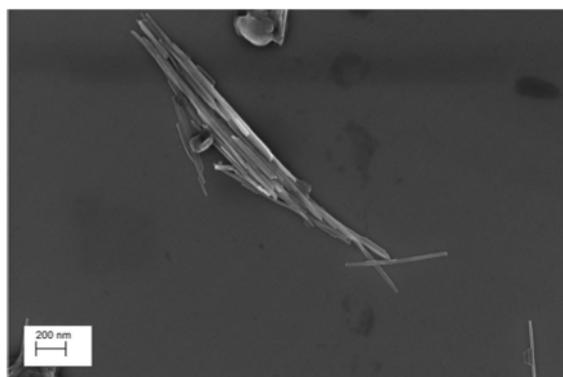


Figure 47: SEM image of fibers from [REDACTED]

Only the smallest dimension (min. Feret Diameter) of each constituent particle was measured as recommended by the European authorities. In order to ensure that the dimensional measurements are representative of the entire population studied, around 150 constituent fibers were analyzed by using Platypus software. For each set of data, the number size distribution was constructed (Figure 48) and different parameters were extracted (mean size, size distribution, mode of the distribution, median) (Table 16).

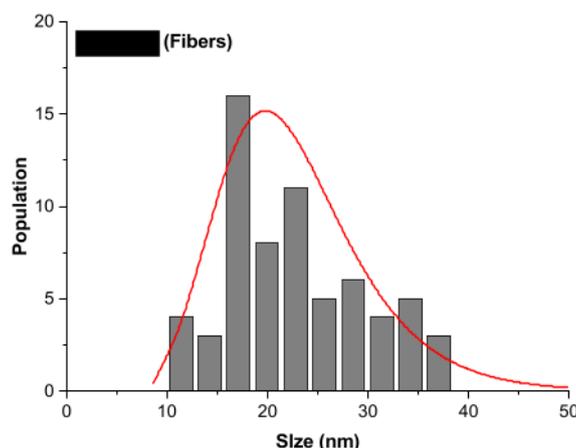


Figure 48: Number size distribution histogram of fibers from [REDACTED]

The table 16 summarized the various parameters from this measurement.

Mesurand	Value in nm
Average size (D Feret Min)	20.4
Size distribution (standard deviation)	7.8
Mode	16.7
Median	19.1

Mode: The mode of the distribution is the average size of the most common class.

D50 (Median size): the size which divides the distribution into two parts of equal area.

From the results of the histogram, **100%** by number of the **Min Feret Diameter** from fibers (likely composed of halloysite and sepiolite) of [REDACTED] is **less than 100 nm**.

4.2.7 Sample reference: [REDACTED] Sample 32

[REDACTED]. The suspensions have been developed as herbicide carrier for chlortoluron, as active ingredients (Figure 49).

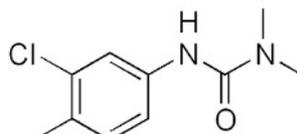


Figure 49: Chemical formula of the active substance

SEM images of suspension are reported on Figure 50 (a, b) corresponding to the static deposition. Isolated particles of various shapes (fibrillar and spherical structure) and agglomerates/aggregates are observed Figure 50 (d) with the diluted suspension and spin-coater deposition and Figure 50 (c) after dilution and washing step to extract particles.

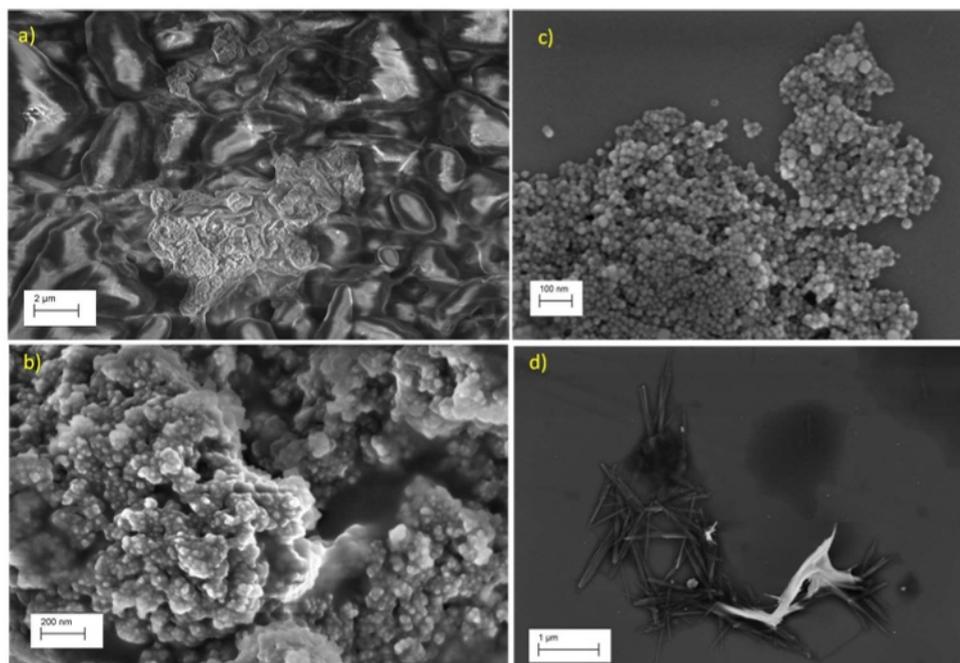


Figure 50: SEM images from sample [REDACTED] (a, b) static deposition without ultrasonication, (c) diluted suspension with step of washing, ultrasonication and spin coater deposition and (d) diluted suspension with spin coater deposition

To confirm the chemical nature of the observed particles (spherical and fibrillar structure), an elemental analysis was performed on the agglomerate/aggregate using the EDX technique (Figure 51).

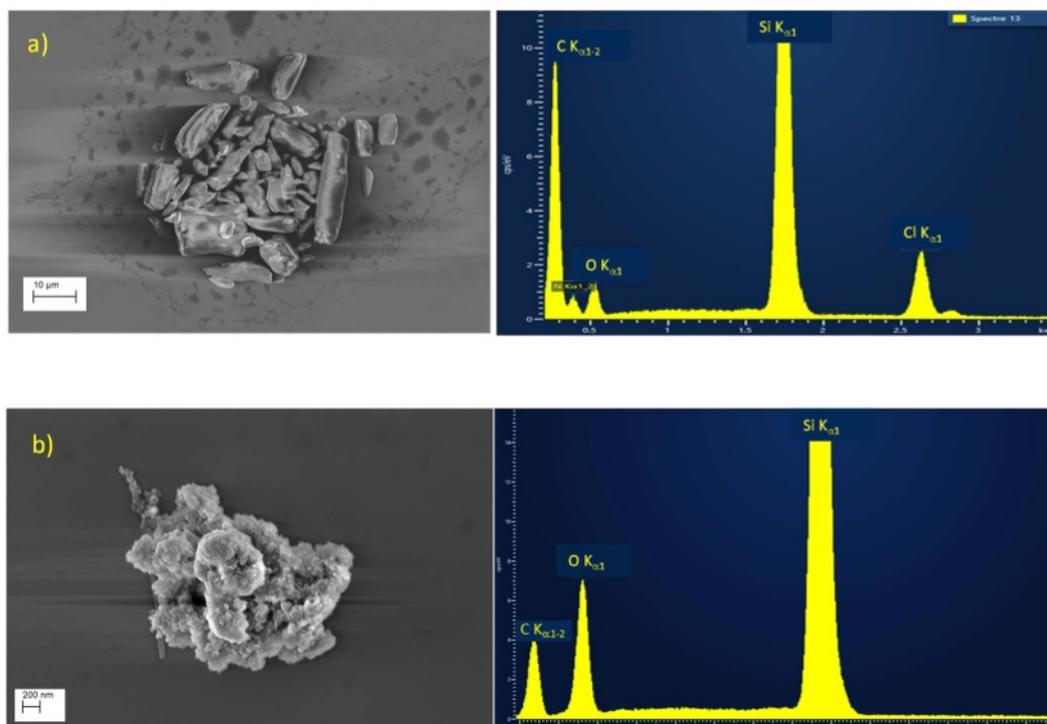


Figure 51: Sample [redacted] a) SEM image and EDX spectrum performed on diluted suspension without ultrasonication and spin coater deposition and b) SEM image and EDX spectrum performed on particles on diluted suspension with step of washing, ultrasonication and spin coater deposition

The peaks (Figure 51 a) relative to the Cl $K\alpha$, N $L\alpha$ rays and the oxygen O $K\alpha$ ray present on the EDX spectrum are perfectly visible and clearly related to the active ingredient structure. The silicon Si $K\alpha$ peak comes from the substrate used for the deposition of the particles. The carbon C $K\alpha$ peak and the oxygen O $K\alpha$ ray (Figure 51 b) are related to spherical nanoparticles.

The particle from Figure 51a show microscale size and are not analyzed.

In order to confirm the chemical composition of the particles (Figure 51 b), EDX-mapping was carried out on the agglomerate/aggregate (Figure 52). Spherical particles are mainly made of carbon and oxygen.

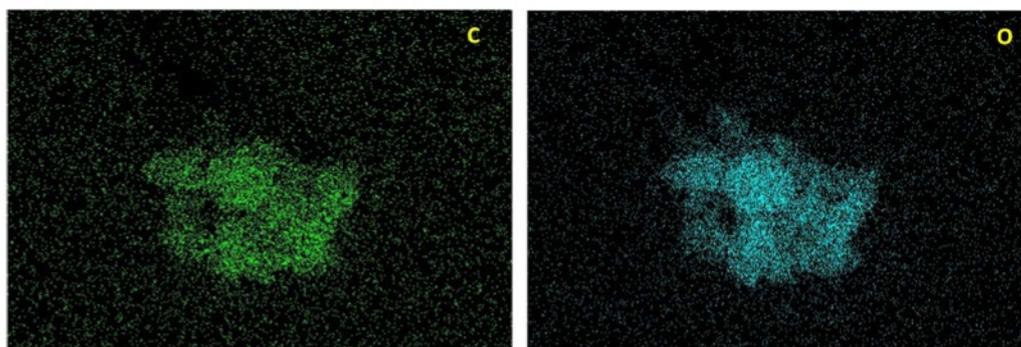


Figure 52: EDX mapping performed on the agglomerated particles in Figure 51 (b)

From the SEM images obtained (Figure 53), a set of spherical constituent particles was measured in order to construct a histogram of number size distribution.

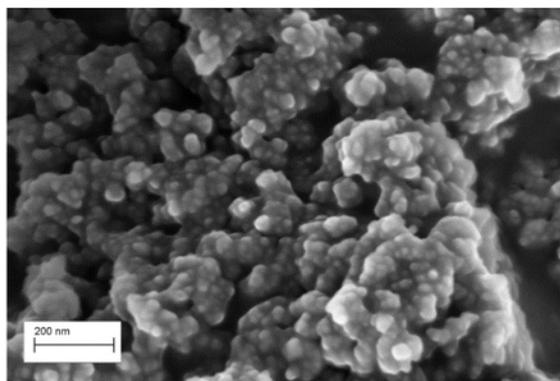


Figure 53: SEM image of constituent particles from [REDACTED] (magnification of figure 51 b)

Only the smallest dimension (Min. Feret Diameter) of each constituent particle was measured as recommended by the European authorities. In order to ensure that the dimensional measurements are representative of the entire population studied, 100 constituent particles were analyzed by using Platypus software. For each set of data, the number size distribution was constructed (Figure 54) and different parameters were extracted (mean size, size distribution, mode of the distribution, median) (Table 17).

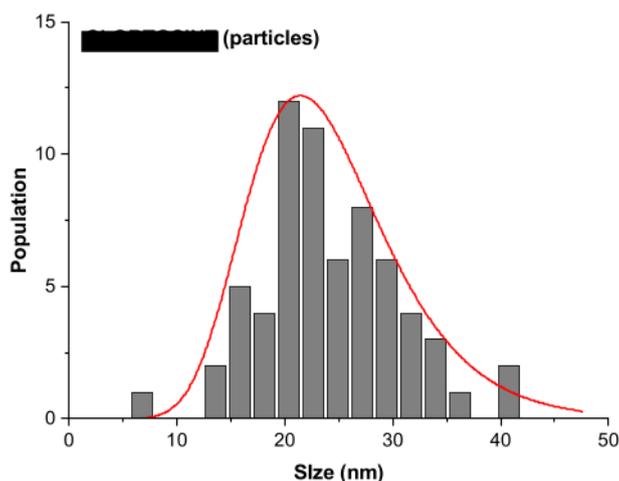


Figure 54: Number size distribution histogram of constituent particles observed in Figure 53 (mainly composed of carbon and oxygen) extracted from sample [REDACTED]

The table 17 summarized the various parameters from this measurement.

Table 17: Parameters of the particle size distribution extracted from [REDACTED]

Mesurand	Value in nm
Average size	19.0
Size distribution (standard deviation)	6.2
Mode	16.4
Median	18.1

Mode: The mode of the distribution is the average size of the most common class.

D50 (Median size): the size which divides the distribution into two parts of equal area.

From the results of the histogram, **100%** by number of the constituent particles (mainly composed of carbon and oxygen) population of [REDACTED] is less than 100 nm.

From the SEM images obtained (Figure 55), a set of fibers was measured in order to construct a histogram of number size distribution.

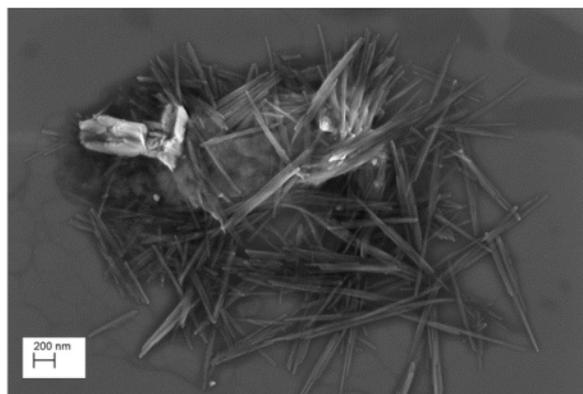


Figure 55: SEM image of fibers from [redacted]

Only the smallest dimension (min. Feret Diameter) of each constituent particle was measured as recommended by the European authorities. In order to ensure that the dimensional measurements are representative of the entire population studied, around 150 constituent fibers were analyzed by using Platypus software (Figure 56).

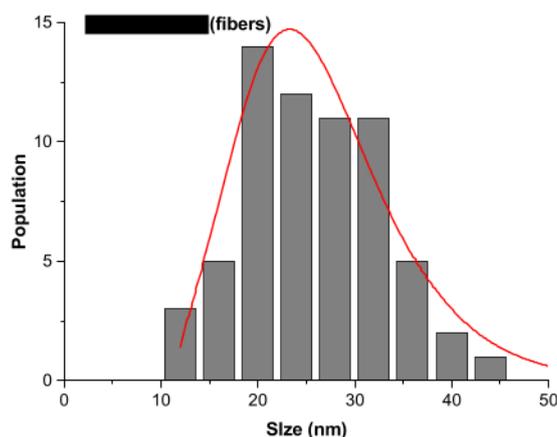


Figure 56: Number size distribution histogram of fibers from [redacted]

The table 18 summarized the various parameters from this measurement.

Mesurand	Value in nm
Average size (D Feret Min)	24.7
Size distribution (standard deviation)	8.2
Mode	21.1
Median (D50)	23.4

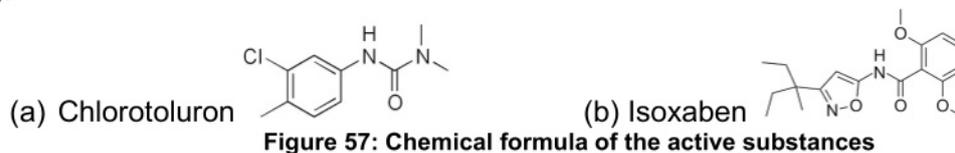
Mode: The mode of the distribution is the average size of the most common class.

D50 (Median size): the size which divides the distribution into two parts of equal area.

From the results of the histogram, **100%** by number of the **D Feret Min** from fibers (no identified) of [redacted] is less than 100 nm.

4.2.8 Sample reference: [REDACTED] Sample 33

[REDACTED]. The suspensions have been developed as herbicide carrier for chlorotoluron and isoxaben, as active ingredients (Figure 57).



SEM images of suspension are reported on Figure 58 (a) corresponding to the static deposition. Isolated particles of spherical shape and agglomerates/aggregates are observed Figure 58 (b) with the diluted suspension and deposition by spin-coater.

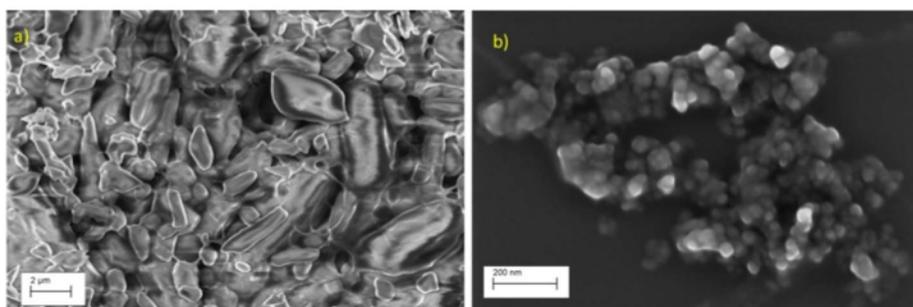


Figure 58: SEM images from sample [REDACTED] (a) static deposition without ultrasonication and (b) diluted suspension with spin coater deposition without ultrasonication

To confirm the chemical nature of the observed particles with spherical structure, an elemental analysis was performed on the agglomerate/aggregate using the EDX technique (Figure 59).

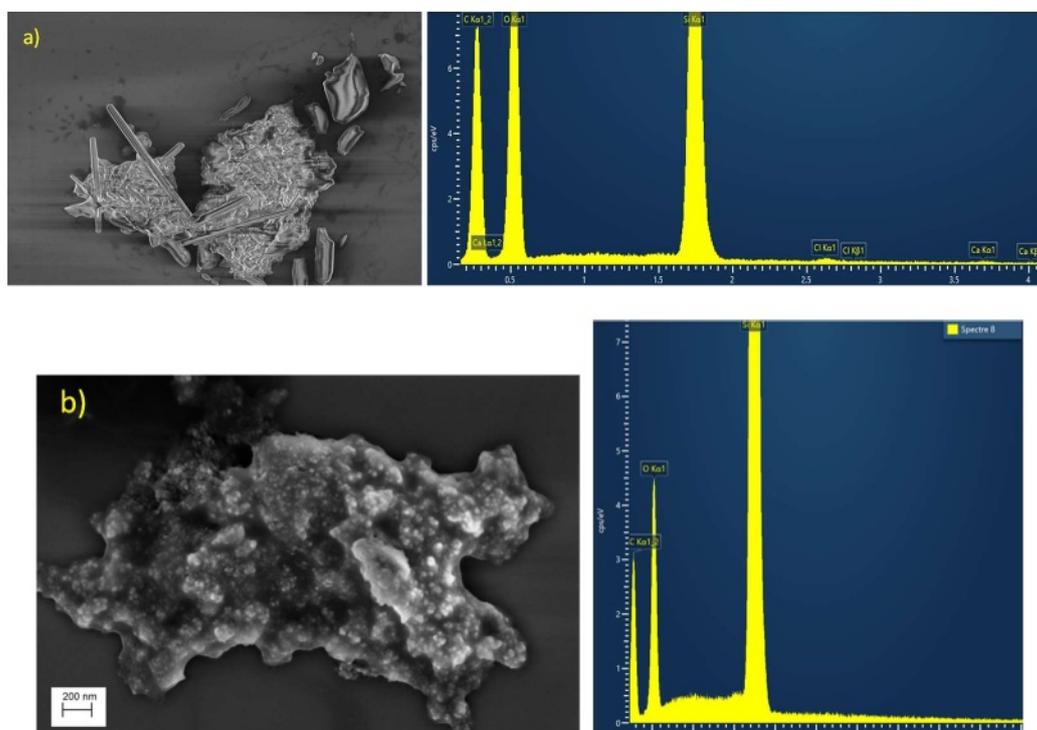


Figure 59: Sample [REDACTED] performed on diluted suspension and spin coater deposition without ultrasonication a) SEM image and EDX spectrum on active substance and b) SEM image and EDX spectrum performed on particles

The peaks relative to the oxygen O $K\alpha$ ray and the carbon C $K\alpha$ peak present on the EDX spectrum from particles are perfectly visible (Figure 59 a). The silicon Si $K\alpha$ peak comes from the substrate used for the deposition of the particles. The presence of the chlorine (Cl $K\alpha$) (Figure 59 b) is related to the active ingredient. The Ca $K\alpha$ peak from Figure 59 b should be macronutrient included in the suspension.

The particles from Figure 59 a show microscale size and are not analyzed.

In order to confirm the chemical composition of the particles (Figure 59 b), EDX-mapping was carried out on the agglomerates/aggregates (Figure 60). Spherical particles are mainly made of carbon and oxygen.

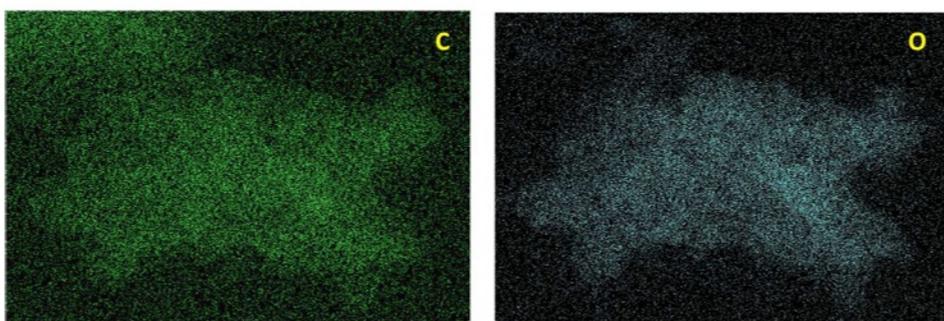


Figure 60: EDX mapping performed on the agglomerated/aggregated particles in Figure 59 (b)

From the SEM images obtained (Figure 61), a set of spherical constituent particles was measured in order to construct a histogram of number size distribution.

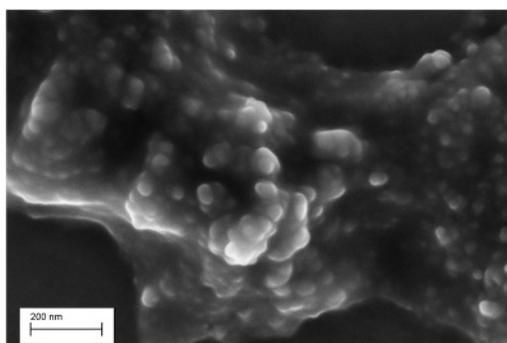


Figure 61: SEM image of constituent particles from [REDACTED]

Only the smallest dimension (min. Feret Diameter) of each constituent particle was measured as recommended by the European authorities. In order to ensure that the dimensional measurements are representative of the entire population studied, 100 constituent particles were analyzed by using Platypus software. For each set of data, the number size distribution was constructed (Figure 62) and different parameters were extracted (average size, size distribution, mode of the distribution, median) (Table 19).

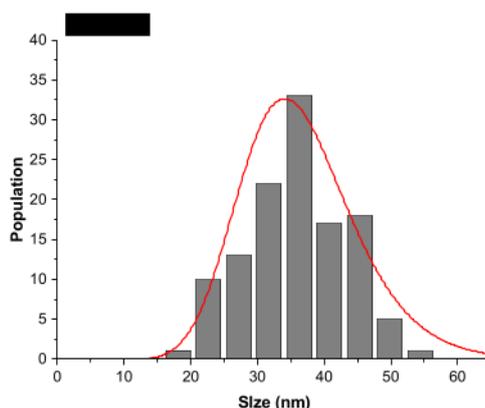


Figure 62: Number size distribution histogram of constituent particles extracted from sample

The table 19 summarized the various parameters from this measurement.

Table 19: Parameters from the size distribution of

Mesurand	Value in nm
Average size	34.3
Size distribution (standard deviation)	8.3
Mode	31.5
Median	33.3

Mode: The mode of the distribution is the average size of the most common class.

D50 (Median size): the size which divides the distribution into two parts of equal area.

From the results of the histogram, **100%** by number of the constituent particles population (mainly composed of carbon and oxygen) of is less than 100 nm.

5. CONCLUSIONS

For the characterization of phytopharmaceutical DP, WP and biocide samples in the aerosol phase, a dust disperser was coupled to two spectrometers respectively called Scanning Mobility Particle Sizer (SMPS) and Aerodynamic Particle Sizer (APS) to measure average normalized particle number size distribution (PNSD) for 20 nm – 570 nm and 1 µm – 20 µm size ranges respectively without associated chemical analysis.

Sub-groups were identified in order to classify PNSD and to reach understandable comparisons. For each average normalized PNSD, an analysis of associated statistical diameters was presented :

- For phytopharmaceutical WP samples (references 1 to 11), for which two groups were identified and characterized by average SMPS median diameters (d_{median}) of 197 nm ± 32 nm and 290 nm ± 27 nm, only three samples (n°2, 10 and 11) were characterized by bimodal PNSD with an APS d_{median} of 1.70 µm ± 0.05 µm, 2.60 µm ± 0.05 µm and 2.20 µm ± 0.05 µm respectively ;
- For phytopharmaceutical DP samples (references 12 to 15), one group of sample was identified and characterized by an average SMPS d_{median} of 143 nm ± 52 nm. Two samples (n°12 and 15) were characterized by APS d_{median} of 2.7 µm ± 0.2 µm and 2.1 µm ± 0.1 µm respectively ;
- For biocide samples (references 16 to 25), three groups were identified and characterized by average SMPS d_{median} of 236 nm ± 34 nm, 157 nm ± 10 nm and 159 nm ± 28 nm respectively. For group n°1, 2 and 3 average APS d_{median} of 2.0 µm ± 0.3 µm ; 3.2 µm ± 1.9 µm and 1.8 µm ± 0.4 µm were characterized for all the samples of each group.

In terms of particulate contribution, all the sample references were characterized in the aerosol phase by aggregates and agglomerates contributions < 100 nm below 50% in the 17 nm – 570 nm SMPS measurement size range.

Highlight:

For phytopharmaceutical DP, WP and biocides samples, it is important to mention that complementary measurements by SEM are needed in order to better understand the PNSD representativity of the generated aerosols using the involved dust disperser for this study. Indeed, such PNSD measurements in aerosol phase are associated to aggregates/agglomerates measurements, and not to primary particles.

About phytopharmaceutical CoS and CaS samples, results for particle size distribution characterization by SEM and chemical identification by EDX are summarized below.

a) Phytopharmaceutical capsules suspensions (CaS) samples:

All samples have been prepared (dilution, drying and ultrasonication) before measurements, except for static deposition. Note that the phase of sample preparation can generate modifications like opening shell.

It should be remembered that the study consists in only targeting particles smaller than 100 nm, identifying them and then measuring their size distribution.

- [REDACTED]: Sample 26 :

- The **presence of particles and fibers is confirmed.**
- Agglomerates/aggregates made of constituent particles with an **isotropic shape** are observed. Titanium dioxide (TiO₂) and particles containing Iron (Fe) are identified.
 - i. Particles containing iron and titanium dioxide are observed.*
 - Particles containing Iron present a $D_{\text{Feret min}}$ smaller than 100 nm, even if concentration is too low to obtain a size distribution.
 - Titanium dioxide particles present 100% by number of the constituent particle population greater than 100 nm.
 - ii. Fibers likely corresponding to sepiolite and halloysite structure are observed.*
 - The diameter ($D_{\text{Feret Min}}$) of the fibers is **23.4 nm.**
 - The median size (D50) of the fibers is 22.1 nm.
 - **100 %** by number of fibers have D_{MinFeret} lower than 100 nm. (*i.e.* 100 % of fibers are nanofibers).

- [REDACTED]: **Sample 27 :**

- The **presence of particles is confirmed**.
- Agglomerates/aggregates made of constituent particles with an **isotropic shape** are observed.
 - *Particles likely corresponding to CaCO₃ are observed.*
 - The average size of the particles is **25.9 nm**.
 - The median size (D50) of the particles is 24.9 nm.
 - **100 %** by number of constituent particles is less than 100 nm. (*i.e.* 100 % of particles are nanoparticles).

- [REDACTED]: **Sample 28 :**

- The **presence of particles is confirmed**.
- Agglomerates/aggregates made of constituent particles with an **isotropic shape** are observed. Carbon, nitrogen and oxygen are identified.
 - *Particles containing carbon, nitrogen and oxygen are observed.*
 - The average size of the particles is **87.5 nm**.
 - The median size (D50) of the particles is 79.5 nm.
 - **69 %** by number of constituent particles is smaller than 100 nm. (*i.e.* 69 % of particles are nanoparticles).

- [REDACTED]: **Sample 29 :**

- The **presence of particles is confirmed**.
- Agglomerates/aggregates made of constituent particles with an **isotropic shape** are observed. Carbon and oxygen are identified.
 - *Particles containing carbon and oxygen are observed.*
 - The average size of the particles is **26.4 nm**.
 - The median size (D50) of the particles is 26.4 nm.
 - **100 %** of constituent particles are lower than 100 nm. (*i.e.* 100 % of particles are nanoparticles).

- [REDACTED]: **Sample 30 :**

- The **presence of particles is confirmed**.
- Agglomerates/aggregates made of constituent particles with an **isotropic shape** are observed.
 - *Particles containing carbon and oxygen are observed.*
 - The average size of the particles is **24.2 nm**.
 - The median size (D50) of the particles is 24.2 nm.
 - **100 %** by number of constituent particles is smaller than 100 nm. (*i.e.* 100 % of particles are nanoparticles).

b) Phytopharmaceutical concentrated suspensions (CoS) samples:

- [REDACTED]: Sample 31 :

- The **presence of particles and fibers is confirmed.**
- Agglomerates/aggregates made of constituent particles with an **isotropic shape** are observed.
 - i. Particles containing carbon and oxygen are observed.*
 - The average size of the particles is **23.5 nm**.
 - The median size (D50) of the particles is 22.7 nm.
 - **100 %** by number of constituent particles by number is less than 100 nm. (*i.e.* 100 % of particles are nanoparticles).
 - ii. Fibers likely corresponding to sepiolite and halloysite structure are observed.*
 - The diameter ($D_{\text{Ferret Min}}$) of the fibers is **20.4 nm**.
 - The median size (D50) of the fibers is 19.1 nm.
 - **100 %** by number of fibers have $D_{\text{Min Feret}}$ lower than 100 nm. (*i.e.* 100 % of fibers are nanofibers).

- [REDACTED]: Sample 32 :

- The **presence of particles and fibers is confirmed.**
- Agglomerates/aggregates made of constituent particles with an **isotropic shape** are observed.
 - i. Particles containing carbon and oxygen are observed.*
 - The average size of the particles is **19 nm**.
 - The median size (D50) of the particles is 18.1 nm.
 - **100 %** by number of constituent particles is less than 100 nm. (*i.e.* 100 % of particles are nanoparticles).
 - ii. Fibers are observed and structure is not identified.*
 - The diameter ($D_{\text{Ferret Min}}$) of the fibers is **24.7 nm**.
 - The median size (D50) of the fibers is 23.4 nm.
 - **100 %** by number of fibers have $D_{\text{Min Feret}}$ lower than 100 nm. (*i.e.* 100 % of fibers diameter are nanofibers).

- [REDACTED]: Sample 33 :

- The **presence of particles is confirmed.**
- Agglomerates/aggregates made of constituent particles with an **isotropic shape** are observed.
 - *Particles containing carbon and oxygen are observed.*
 - The average size of the particles is **34.3 nm**.
 - The median size (D50) of the particles is 33.3 nm.
 - **100 %** by number of constituent particles is smaller than 100 nm. (*i.e.* 100 % of particles are nanoparticles).

Paris, January 26, 2021

**Head of the « Gas and
Aerosol Metrology »
department**



Tatiana Macé



**Leader of the « Aerosol
Metrology » activity**



François Gaie-Levrel