



# Biogeosystem Technique

Journal is being issued since 2014.  
E-ISSN 2413-7316  
2019. 6(2). Issued 2 times a year

## EDITORIAL BOARD

### Editors in Chief

**Cerdà Artemi** – University of Valencia, Spain

**Kalinitchenko Valery** – Institute of Soil Fertility of South Russia, Persianovsky, Russian Federation

### Deputy Editor in Chief

**Ghazaryan Karen** – Yerevan State University, Yerevan, Armenia

**Blagodatskaya Evgeniya** – Institute of Physical Chemical and Biological Problems of Soil Science of the Russian Academy of Sciences, Pushchino, Russian Federation

**Elizbarashvili Elizbar** – Iakob Gogebashvili Telavi State University, Telavi, Georgia

**Glazko Valery** – Moscow agricultural Academy named after K.A. Timiryazev, Russian Federation

**Lisetskii Fedor** – Belgorod State University, Russian Federation

**Minkina Tatiana** – Southern Federal University, Russian Federation

**Kızılkaya Ridvan** – Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Samsun, Turkey

**Okolelova Alla** – Volgograd State Technical University, Russian Federation

**Shein Evgeny** – Moscow State University named M.V. Lomonosov, Russian Federation

**Swidsinski Alexander** – Molecular Genetic Laboratory for Polymicrobial Infections und Biofilms, Charite University Hospital, Berlin, Germany

**Surai Peter** – Feed-Food.ltd, Scotland, UK

**Zhao Xionghu** – China University of Petroleum, Beijing, China

Journal is indexed by: **Cross Ref** (USA), **Electronic scientific library** (Russia), **MIAR** (Spain), **Open Academic Journals Index** (USA), **CiteFactor** – **Directory of International Research Journals** (Canada).

All manuscripts are peer reviewed by experts in the respective field. Authors of the manuscripts bear responsibility for their content, credibility and reliability.

Editorial board doesn't expect the manuscripts' authors to always agree with its opinion.

Postal Address: 1367/4, Stara Vajnorska  
str., Bratislava – Nove Mesto, Slovak  
Republic, 831 04

Release date 25.12.2019.  
Format 21 × 29,7/4.

Website: <http://ejournal19.com/en/index.html>  
E-mail: kalinitch@mail.ru

Headset Georgia.

Founder and Editor: Academic Publishing  
House Researcher s.r.o.

Order № B-16.

**Biogeosystem Technique**

2019

Is. 2

## CONTENTS

**Articles and Statements**

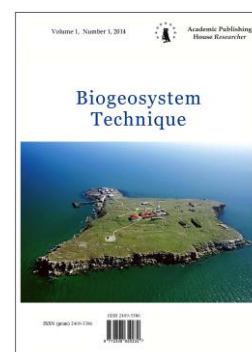
Sands of the Curonian Spit G.V. Kharitonova, N.V. Berdnikov, V.O. Krutikova, G. Sambuu, E.V. Kharitonov .....	67
Ranking of Areas of Barnaul for Air Pollution A.Yu. Krupinnikova, E.V. Pechatnova .....	83
Biodegradation of White Phosphorus – a Dangerous Industrial Contaminant A.Z. Mindubaev, A.D. Voloshina, N.V. Kulik, D.V. Ryzhikova, T.A. Barsukovaa, Y.A. Akosah, S.T. Minzanovaa, L.G. Mironova .....	91
The Effect of Culture Media Composition and Microorganism Species Affiliation on the Biological Destruction of White Phosphorus A.Z. Mindubaev, E.V. Babynin, E.K. Badeeva, S.T. Minzanova, L.G. Mironova .....	102
Elements in Rye and Wheat at Different Times and Different Places (Review) A.O. Nigten .....	114

Copyright © 2019 by Academic Publishing House Researcher s.r.o.



Published in the Slovak Republic  
Biogeosystem Technique  
Has been issued since 2014.  
E-ISSN: 2413-7316  
2019, 6(2): 67-82

DOI: 10.13187/bgt.2019.2.67  
[www.ejournal19.com](http://www.ejournal19.com)



## Sands of the Curonian Spit

Galina V. Kharitonova <sup>a, \*</sup>, Nikolai V. Berdnikov <sup>b</sup>, Valeria O. Krutikova <sup>a, b</sup>,  
Gantumur Sambuu <sup>c</sup>, Evgeny V. Kharitonov <sup>a</sup>

<sup>a</sup> Institute of Water and Ecological Problems, Far East Branch of the Russian Academy of Sciences, Khabarovsk, Russian Federation

<sup>b</sup> Institute for Tectonics and Geophysics, Far East Branch of the Russian Academy of Sciences, Khabarovsk, Russian Federation

<sup>c</sup> Mongolian State University of Science and Technology, Ulaanbaatar, Mongolia

Paper Review Summary:

Received: 2019, November 20

Received in revised form: 2019, December 24

Acceptance: 2019, December 26

### Abstract

The Curonian Spit, a massive sandy barrier separating the Curonian Lagoon from the Baltic Sea, is one of the unique places in Europe. It stretches as a narrow (ranging from 0.4 to 3.8 km in width) slightly concave arc for 98 km (46 km in Russia and 52 km in Lithuania) from the Peninsular of Kaliningrad to the city of Klaipeda. The main environmental problem of the Spit is the wind movement of the sands. The sand-fixing works were initiated in the second half of the XVIII and continues to this day, but the problem of sand fixing is still relevant. However the formation of relatively stable columnar and layered sand structures was observed on the lagoon and the sea coast. The task of this work was to determine the reasons for the formation of such structures, which is important for the continuation of work on strengthening the coastal zone of the Spit. The main methods used in this work were scanning electron microscopy and EDS analysis for determining the morphology and composition of particles, laser and x-ray diffractometry for determining the size distribution and the mineralogical composition of particles. The study was focused on sands of the coastal line, where wind activity is greatest. Sands of the sea and lagoon coast differ not only in the size of the predominant fraction and morphology of particles, but also in the type of relatively stable structures formed by them (layered structures of horizontal stratification on the sea coast and columnar sands on the lagoon coast respectively). The formation of sandy contact-aggregate structures (contacts of the edge-to-edge and face-to-face type, respectively) occurs with the participation of clay structural bridges, without them the sands remain incoherent. The use of lagoon marl with a high content of fine particles and CaCO<sub>3</sub> can be very promising for creating such clay-sand structures, fixing and stabilization of the sands.

**Keywords:** Sands, composition, mineralogy, morphology, properties, Curonian Spit

\* Corresponding author

E-mail addresses: [gkharitonova@mail.ru](mailto:gkharitonova@mail.ru) (G.V. Kharitonova)

## 1. Introduction

The Curonian Spit, a massive sandy barrier separating the Curonian Lagoon from the Baltic Sea, is one of the unique places in Europe in both environmental and geological terms. The spit belongs to the largest accumulative phenomena in the Baltic Sea (Łabuz et al., 2018), it stretches as a narrow (ranging from 0.4 to 3.8 km in width) slightly concave arc for 98 km (46 km in Russia and 52 km in Lithuania) from the Peninsular of Kaliningrad to the city of Klaipėda. It represents a typical erosional-accumulative body (Zenkovich, 1962; Boldyrev, 1998) related to the erosion of cliffs on the Sambian Peninsula and bottom sediments of the Baltic Sea.

The Curonian Spit is a young geological structure (an ephemeral in the geological time scale) that appeared in the Middle – Late Holocene as a result of sediment transport by coastal currents and wind (Kharin G., Kharin S., 2006; Zhukovskaya, Kharin, 2009). The formation of its core started 6–8 thousand years ago and is related to the end of the transgression of the Littorina Sea (Bitinas et al., 2001, 2002, 2005; Bitinas, Damušytė, 2004; Česnulevičius et al., 2017). The Spit assumed its present-day position and appearance approximately 3–5 thousand years ago at the Littorina and post-Littorina stages (Blazhchishin, 1998) and 2 thousand years ago it reached the continental coast (Kabailiene, 1967; Kunsikas, 1970; Starkel, 1977; Gudelis, 1979, 1998a, b; Kliewe and Janke, 1982; Mojski, 1988; Müller, 2004). Curonian barrier–lagoon conjugated system likely formed simultaneously during the Holocene optimum (Badyukova et al., 2008, 2011).

Geologic structure of the Spit is made up by eolian, marine and water-glacial Quaternary deposits of the contemporary and upper sections. The eolian complex composes the avandune, the upper layer of palve and the thick layer of the dune massifs. Beneath it there is the sea generation of sands with the stringers of loam, peat, silt and so on, that are underlain by moraine and inter-moraine loam of the Valdai Glaciation. According to Gudelis's model (Gudelis, 1954) widely accepted today, the Curonian Spit consists of sand dunes, including immobile dunes of first generation, mobile dunes of second generation, and avandunes. Their thickness (height) reaches 60 m.

Wind-blown sand movement is the main geomorphological geodynamic process that currently occurs in the Spit (Česnulevičius et al., 2017). The dune complexes are the main relief elements of the Curonian Spit. Its dunes are the highest dunes in Northern Europe and reach more than 30 m in many areas; the Vicekrugo dune (67 m height) is the highest dune form along Baltic Sea coast. All the biggest dune's massifs are forming so-called Great Dune Ridge that stretches along the entire lagoon coast of the Spit. The history of geological development of the Great Dune Ridge is poorly known except the fact that the Great Dune Ridge has been formed only starting from the XVI century due to extremely high aeolian activity influenced by destructive human practices – clearcutting of forests in the greater part of the Spit (Gudelis, 1998a; Bucas, 2001; Dobrotin et al., 2013; Bitinas et al., 2018).

Vegetation plays a key role in sand stabilization and relief stability. A sandy surface that is devoid of vegetation tends to be deflated (Łabuz et al., 2018). Starting in the beginning of XIX century, a substantial part of the Curonian dunes was artificially forested. It arrested some aeolian activity and protected the villages against sand invasion. At the same time, starting in 1805, the artificial foredune was formed along the entire length of the marine coast of the Curonian Spit. This foredune protected (as a barrier) the inner part of the Spit from the seashore sand drift. The sand-fixing works continues to this day. However, as proved by observations and demonstrated in many publications, sands of the Curonian Spit cannot withstand the destructive wave and wind activity. The problem of sand fixing is still relevant.

Since the middle of the 20<sup>th</sup> century, the Curonian Spit has become an object of comprehensive investigations (aeolian process, geological context, morphogenesis of dunes, granulometric composition of sand, age and composition of the lagoon marl, etc.). Whereas mineral and granulometric composition of sand and the outcrops of lagoon marl have been known for decades, their important features such as particle morphology, composition and form of manifestation of minerals, are overlooked. It should be noted that the latter can largely affect the physical properties of sand deposits, their fixing and stabilization. For example, the formation of relatively stable unusual columnar sand structures was observed on the lagoon coast and layered sand structures on the sea coast. The task of this work was to determine the reasons for the formation of such structures, which is important for the continuation of work on strengthening the coastal zone of the Spit.

## 2. Materials and methods

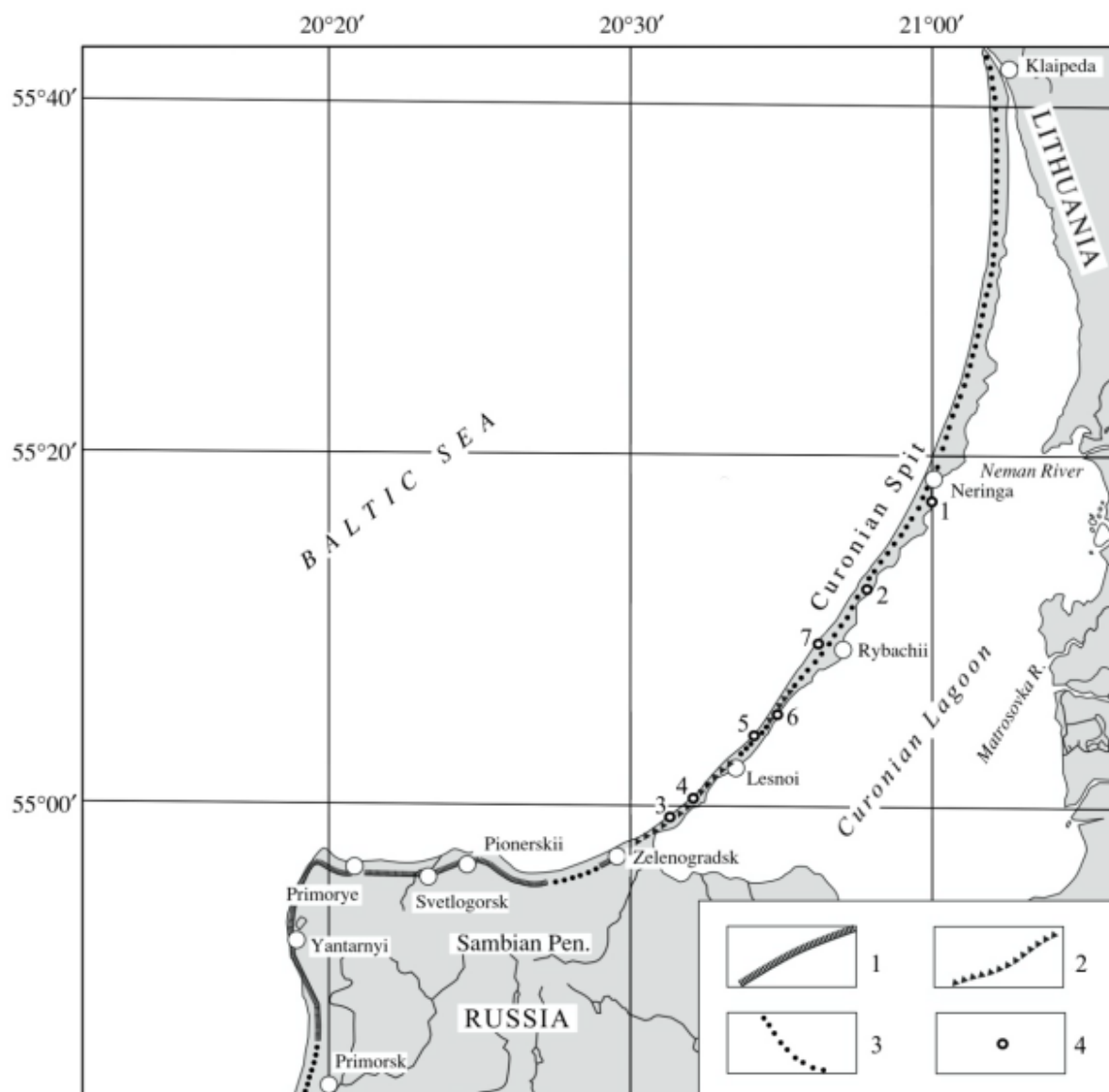
### *Study area and samples*

The climate of the Curonian Spit is maritime – sub-continental and is characterized by frequent and intensive changeability of weather, by mild winter and moderately warm summer (Orlyonok, 2002). The mean annual temperature in February is  $-4.1\text{ }^{\circ}\text{C}$  and in August  $17.3\text{ }^{\circ}\text{C}$  (Peyrat, 2007; HELCOM, 1996). The average annual air temperature is  $+7.0\text{ }^{\circ}\text{C}$ , with the absolute minimum of  $-26\text{ }^{\circ}\text{C}$  (January) and the absolute maximum of  $+31\text{ }^{\circ}\text{C}$  (June). The average annual precipitation is 660 mm, the maximum falls on the period from October till February. The height of the snow cover is up to 15–20 cm. Westerly and south-westerly winds from the Baltic Sea are prevailing on the Spit, their mean velocity being 5.5 m/s. The study area is located in a zone of high wind activity with a wind power up to 600–700 W/m<sup>2</sup>. Strong winds with a speed of 15 m/s and more (stormy) occur in the region in autumn and winter, on average up to 5–10 times a year. Storm winds sometimes reach hurricane force – up to 25–40 m/s. It influences the sand movements and causes a phenomenon called “drunk forest”, especially on the windward slopes and on the coastal line (UNESCO WHN, 1999; Kalinauskaite, Laaka-Lindberg, 2013).

The study was focused on sands of the coastal line, where wind activity is greatest. The most distinct morphology sampling sites and samples along onshore and offshore of the Curonian Spit were selected. The samples were taken to the depth 0–10 cm in June 2019. The sampling sites are briefly characterized in Table 1 and are shown on a schematic map (Figure 1) and photos (Figure 2).

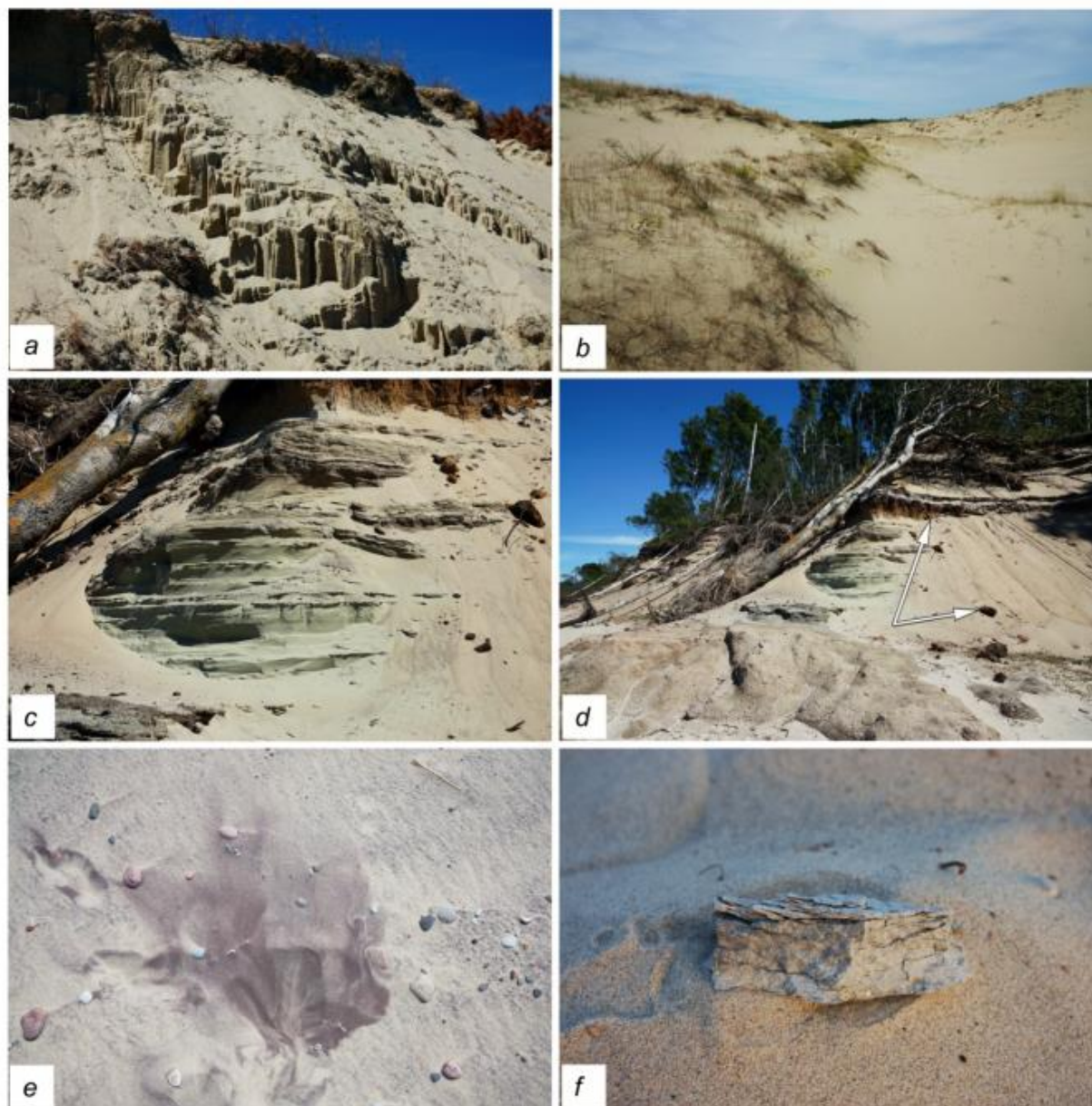
**Table 1.** Brief characteristics of the sampled sites in the coastal line of the Curonian Spit

No	Site	Morphology of sampling site and samples
1	Lagoon coast 55°17'33"N, 20°59'58"E	sandy cliff near Neringa, columnar sand 10x10 cm top face of the column, height up to 25 cm
2	Lagoon coast 55°12'01"N, 20°52'59"E	dunes, leeward side (wind shadow) of the dune, its foot
3	Sea coast 54°59'31"N, 20°33'36"E	the sandy cliff, grey layered sand at its base
4	Sea coast 54°59'53"N, 20°34'30"E	the sandy cliff, outcrop of buried podzolic paleosol, the fallen part of the illuvial horizon paleosol
5	Sea coast 55°02'23"N, 20°38'57"E	beach, dark crimson sand
6	Lagoon coast 55°02'40"N, 20°40'37"E	beach, dark crimson sand
7	Sea coast 55°09'48"N, 20°48'53"E	sand beach, piece of layered compacted clay 10x20x5cm in size with fine white inclusions



**Fig. 1.** Schematic map showing coastal sections characterized by the present-day processes: (1) abrasion, (2) destruction of avandunes, (3) accumulation (Kharin G., Kharin S., 2006) and sample site locations (4)





**Fig. 2.** Landscapes of the sampling sites: *a* – sand cliff of the lagoon coast, columnar sand (site 1); *b* – dune wind shadow of the lagoon coast (site 2); *c* – the sandy cliff of the sea coast (site 3); *d* – outcrop of buried podzolic paleosol, the fallen part of its illuvial horizon, arrows (site 4); *e* – dark crimson sand of the sea and lagoon beaches (sites 5 and 6); *f* – layered compacted clay of the sea beach (site 7)

### *Methodology*

The major methods were granulometric and gross analyses, optical (OM) and scanning electron microscopy (SEM). Optical studies were performed on a Discovery V.12 microscope with an AxioCam MRc5 camera (Carl Zeiss, Germany). The SEM analysis was carried out using VEGA 3 LMH (TESCAN, Czech Republic). For the analysis, the samples, after grinding and sieving through a 2-mm sieve, were prepared via pouring, Pt-spraying and magnification of up to 20,000. A backscattered electron detector (BSE detector) was used for the analysis of phases with a high atomic number. When images are acquired using a BSE detector, phases with a high average atomic number are reflected in contrast more vividly than those with a lower atomic number. The X-max 80 energy-dispersive spectrometer (Oxford Instruments, UK) was used to analyze the elemental composition of the most representative regions. The capture area of the microanalysis

was about 1  $\mu\text{m}$  in diameter. If a smaller object was scanned, the result was distorted due to the influence of the surrounding matrix or the carbon table of the device. The particle size composition (without decomposition of carbonates) from 0.01 to 2,000  $\mu\text{m}$  determined with the laser diffraction method on a particle size analyzer SALD-2300 (SHIMADZU, Japan). Before the analysis on the SALD-2300 (flow cell), a water suspension of the test sample ( $\sim 0.5$  to 1 g depending on the suspension absorption) was treated with ultrasound (built-in disperser for sample homogenization) (Wolform, 2011; Rawle, 2017; Kharitonova et al., 2017). The contents of selected chemical elements were determined via the X-ray fluorescence method (XRF) (Pioneer S4, Bruker AXS, Germany), using the silicate technique. Desktop X-ray diffractometer “MiniFlex II” (Rigaku Corporation, Japan) was used to determine mineralogical composition. X-ray diffraction patterns were recorded in Bragg–Brentano geometry, sample preparation and interpretation according to Moore and Reynolds recommendations (Moore, Reynolds, 1997).

The SEM, XRF and X-ray diffraction analyses were carried out in the Analytical Centre at the Institute for Tectonics and Geophysics, Khabarovsk, Far East Branch of the Russian Academy of Sciences.

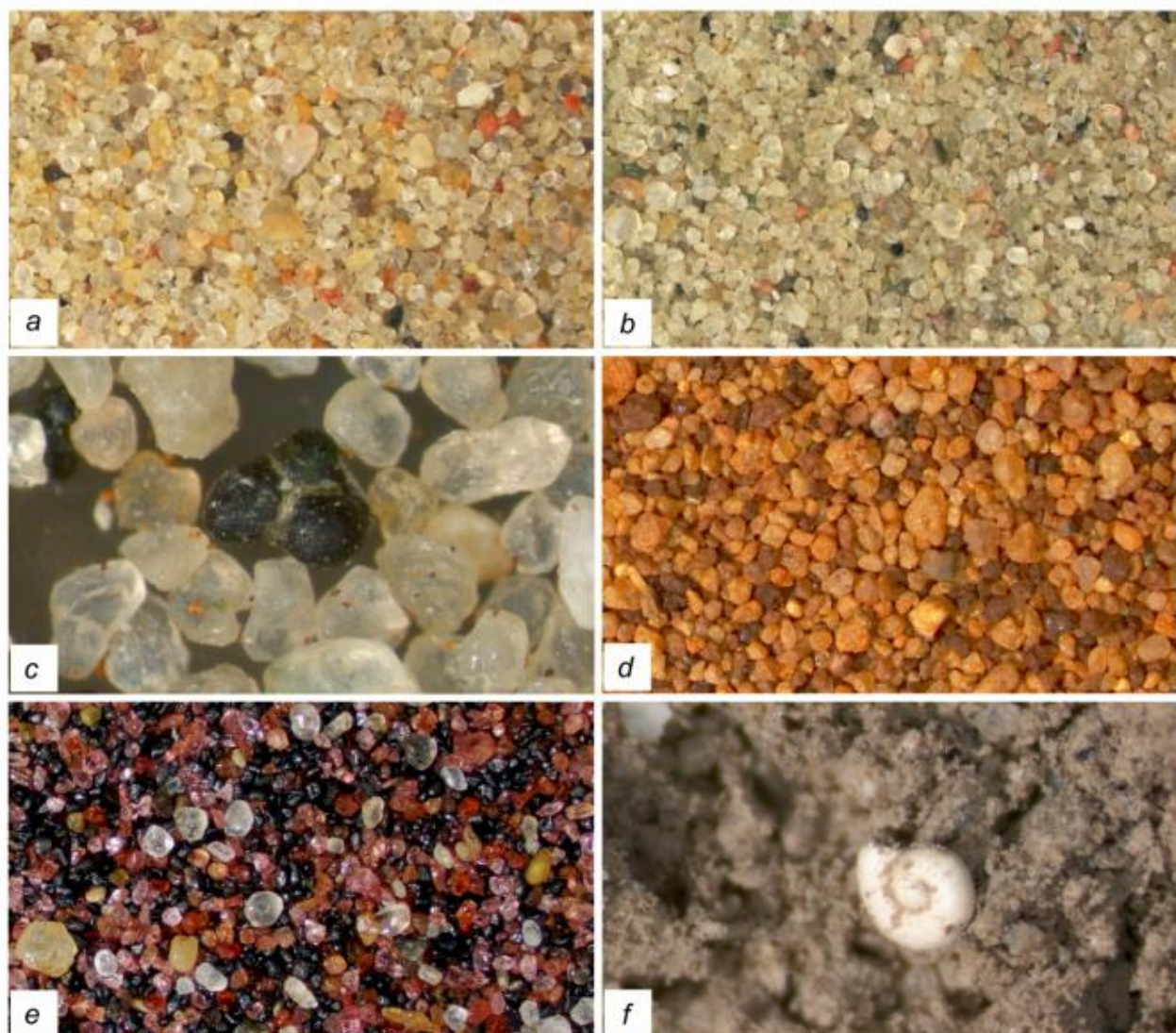
### 3. Results and discussion

Before characterizing sand and their structures observed on the coastal line, we introduced data on particle-size distribution (PSD), which is one of the fundamental features of sediments, in many ways determining their physical and chemical properties. Additionally, PSD is a source of important information about the origin of sediments (alluvial, marine, and eolian), their transport history and sedimentation conditions. According integral analysis PSD, samples of both the lagoon and the sea coast are coarse sand (particle size 200–2000  $\mu\text{m}$ ), the content of which is 90 % or more (Table 2). An exception is a sample of compact clay from the sea coast (Figure 3), the content of coarse sand is less than 10 %, main fraction is fine sand (particle size 50–200  $\mu\text{m}$ ).

**Table 2.** Selected physical and chemical properties of sandy samples

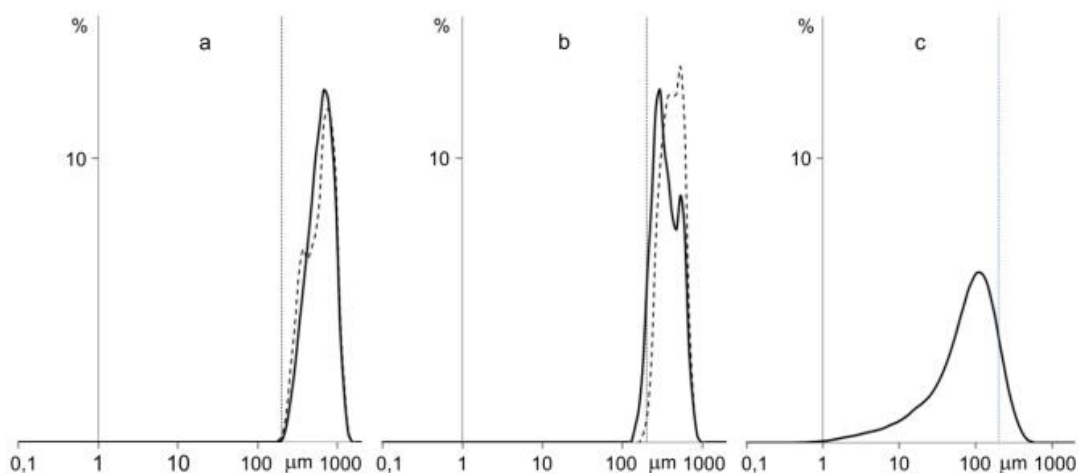
No	Particle size distribution, %			Gross composition, %									
	Particle size, $\mu\text{m}$			SiO <sub>2</sub>	TiO <sub>2</sub>	Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	MnO	CaO	MgO	Na <sub>2</sub> O	K <sub>2</sub> O	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>
	<50	50–200	200–2000										
1	0	0.1	99.9	95.7	0.1	1.4	1.0	0.0	0.3	0.2	0.4	0.5	0.1
2	0	0.3	99.7	96.4	0.0	1.1	1.0	0.0	0.2	0.2	0.4	0.4	0.1
3	0	9.6	90.4	93.0	0.1	2.6	1.5	0.0	0.4	0.4	0.6	1.1	0.2
4	0	1.1	98.9	92.9	0.1	2.5	2.2	0.0	0.3	0.3	0.6	0.8	0.2
5	0	10.8	89.2	33.4	19.2	5.6	17.4	0.9	2.3	1.4	0.7	0.1	0.4
6	0	7.2	92.8	28.2	23.6	4.8	17.6	0.9	2.0	1.3	0.8	0.1	0.5
7	31.8	59.0	9.2	34.4	0.5	3.5	5.4	0.2	26.1	1.7	0.7	1.3	0.2





**Fig. 3.** Photomicrographs of sandy samples: *a* – site 1; *b*, *c* – site 3 (arrow – kidney sepiolite microaggregate); *d* – site 4; *e* – site 5, 6; *f* – site 7. For other explanation see text

The sand of the sea and lagoon coasts differs significantly in the differential particle size distribution (Figure 4), which is associated with the wind and wave activity of the coasts (it is much higher on the sea coast). Thus, the most representative fraction of the lagoon coast sand (sites 1 and 2) is the coarse sand fraction 500–1000  $\mu\text{m}$  (Lozet, Mathieu, 1990). It is characterized by a peak in differential curves with a maximum of 700  $\mu\text{m}$  and an intensity of 12.4 %. For the sea coast sand (sites 3, 5), the peak of the differential curves falls on the medium-coarse sand fraction 200–500  $\mu\text{m}$  (290  $\mu\text{m}$  and 12.2–14.4 %, respectively). They differ also in the asymmetry of the peaks. If for the sands of the lagoon coast the asymmetry is left (Figure 4a), then for the sands of the sea coast it is right (Figure 4b). The shift of the maximum particle size peak for sample 4 appears to be related to the formation of cutanes from iron hydroxides and siderite on the surface of sand grains. Sample 7 is characterized by the smallest particle size, the maximum peak of the main fraction 113  $\mu\text{m}$  with an intensity of 6.0 % and left asymmetry (Figure 4c). Next we will return to the consideration of the properties and genesis of the latter.



**Fig. 4.** Particle-size distribution in samples, differential curves: *a* – lagoon sand, thick line – site 1, dashed line – site 2, thin vertical line – upper limit of fine sand size 200  $\mu\text{m}$ ; *b* – sea sand, thick line – site 3, 5, 6; dashed line – site 4; *c* – site 7

Light colored sands (samples 1–3, Figure 3) are represented by well sorted coarse-grained sand. Quartz prevails in their mineralogical composition (Figure 3a, b), their  $\text{SiO}_2$  content reaches 90 % or more (Table 2). Amount of feldspar and sepiolite (kidney shaped microaggregate – Figure 3c) is subordinate. Differing from them by a more brown color and weak sorting of particles, sample 4 (the illuvial horizon of the buried podzolic paleosol) contains significantly more oxides and hydroxides of iron, due to which the particles are cemented. Dark colored sands (samples 5 and 6, Figure 3e) differ significantly from light sands (samples 1–3). Their grains are more rolled, they contain significant amounts of heavy minerals (magnetite and ilmenite); the content of lightweight silicates (quartz and feldspar, mainly K-feldspar) in them is much smaller (Table 2). Sample 7 (sea coast, sand beach) is represented by fine-grained gray clay-clastogenic mass with rare grains of quartz, micro-flakes of clay minerals and shells of micromollusks (Figure 3f) and characterized by an abnormally high CaO content (>25 %).

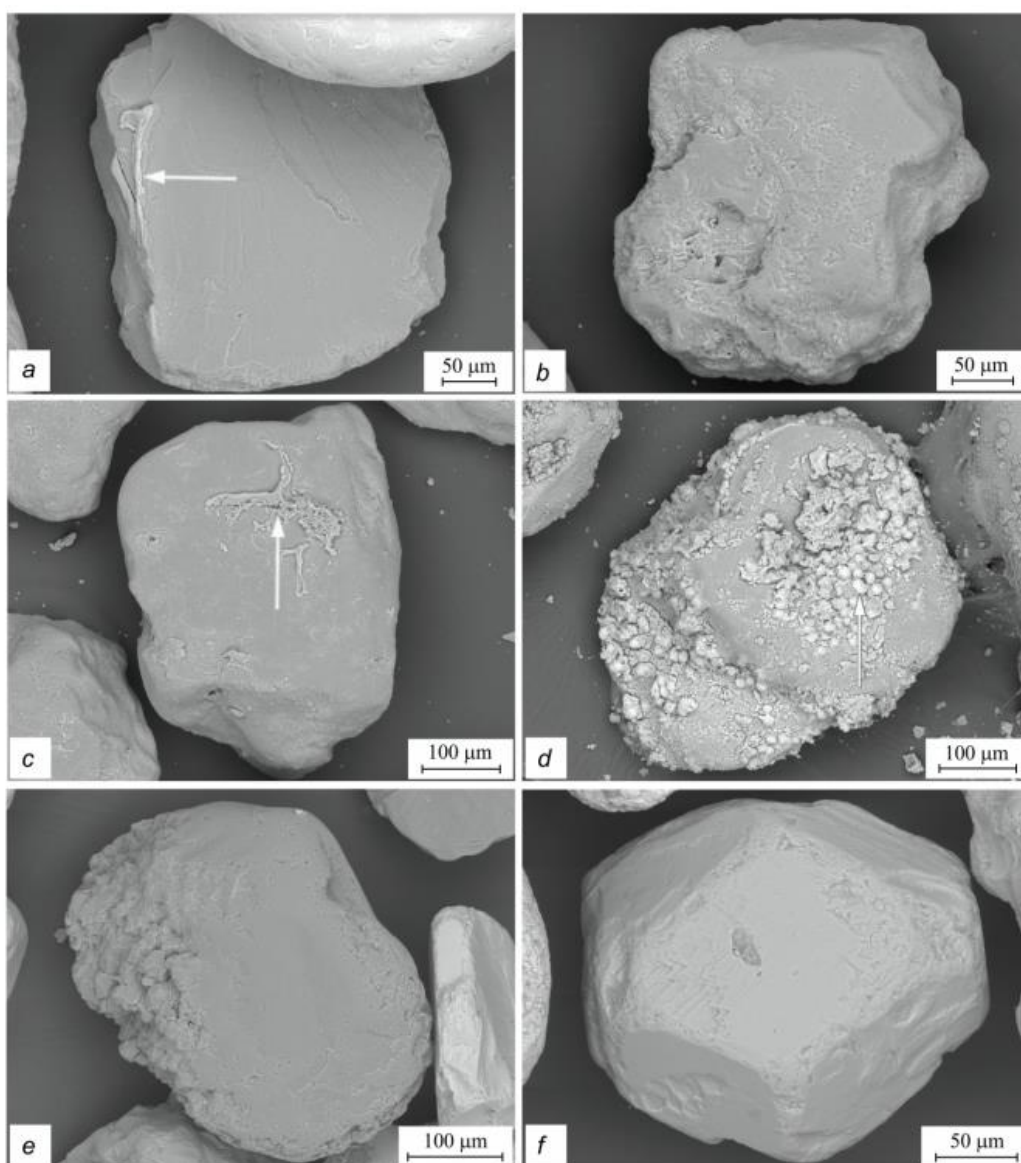
Thus, according to the basic methods of analysis (gross and granulometric analyses, optical microscopy), which characterize the properties of the sample as a whole, the proximity (similarity) of the physical and chemical properties of samples 1–4 (1<sup>st</sup> group, light colored sands), samples 5–6 (2<sup>nd</sup> group, dark colored sands) is clearly diagnosed. Lagoon and sea coast sands of the 1<sup>st</sup> group differ in granulometric composition and content of  $\text{Al}_2\text{O}_3$ , which is associated with wind activity coasts and participation in the composition of sands clay minerals. However, it is very difficult to explain why relatively stable (without external influence) columnar sands are formed in one case (site 1); in the other there is the formation of stable sand structures of horizontal stratification (site 3). Attempts to explain the stability of certain sand structures on the Curonian Spit have already been, and very interesting. Thus, Jarmalavičius and colleagues (Jarmalavičius et al., 2015) found that the height of the dune depends on the granulometric composition of the sand and the ratio of its individual fractions. But the authors used mainly a statistical approach for the explanation.

Without the involvement of new approaches and methods of analysis it is also difficult to explain the extremely high content of CaO (26 %) in sample 7 (layered compacted clay), in which the content of  $\text{SiO}_2$  is close to that in the sands of 2<sup>nd</sup> group (~30 %). The contribution of micromollusk shells to the content of CaO does not exceed 10–15 %. We suppose that the most relevant approach may be the use in this case of high-local analytical methods, such as scanning electron microscopy, XRF and X-ray diffraction analyses, in conjunction with standard physical and chemical methods.

SEM methods allow high resolution determination of the morphology of individual particles and their qualitative composition (at a "point" of ~  $1\mu\text{m}^2$  and selected fragments). The use of SEM and EDS-analysis revealed differences in the morphology and fine structure of the studied samples,



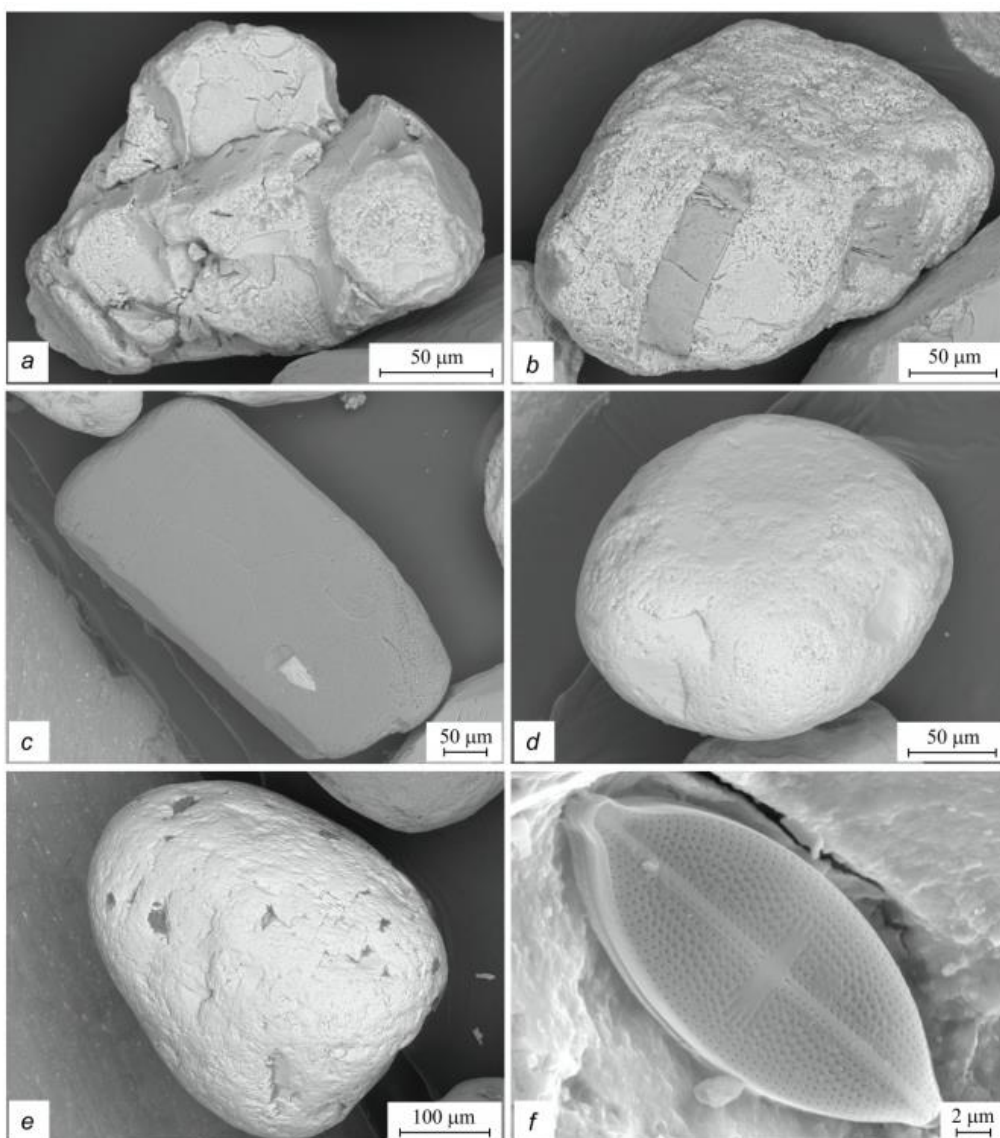
the characteristics of which were similar at standard methods of analysis. Thus, sample 1 (columnar sand, site1) is characterized by a significant number of grains with flat faces and relatively clear edges. Clay particles are concentrated on them, forming thin structural bridges (Figure 5a). The grains of grey layered sand (site 3) are also flat, but more rolled and smaller. In contrast to sample 1 clay particles is concentrated on flat surfaces of sand grains; herewith the area of the formed structural bridges is much larger (Figure 5c). Apparently, the formation of columnar structures (site 1) occurs due to clay structural bridges – separate contacts of edge-to-edge type – between sand grains (van Olphen, 1977; Osipov, 1989). The formation of stronger contacts of the face-to-face type leads to the formation of more stable sand structures of horizontal stratification (site 3). Since the strength of the structure is determined not only by the strength of the individual contact, but also by the number of contacts per unit surface area (Osipov, 1989). In turn, the overwhelming number of quartz grains of sample 2 (leeward side of the dune, the base) have large cavities, cavities and pits in place of the destroyed vacuoles and cracks of an annular nature. Allocation of clay bridges structure on them is not diagnosed (Figure 5b), so the formation of contact-aggregated structures does not occur.



**Fig. 5.** Micrographs of the quartz sand in sampling sites of the Curonian Spit: *a* – site 1, arrow – clay “bridge” on edge of the grain; *b* – site 2; *c* – site 3, arrow – clay “bridge” on the face of the grain; *d* – site 4; *e, f* – sites 5 and 6. SEM, BSE-detector, for other explanation see the text

The cemented neoformations (ortzands) found on the sea coast are the falls of the illuvial horizon of buried podzolic paleosol. Their high connectivity and hardness in the dry state is determined by the formation of a large number of ferrous organomineral contacts (bridges structure) on the surface of clastogenic grains, mainly quartz (Figure 5d). According to EDS-analysis, the carbon content in them reaches 40 at. % , iron and aluminum – up to 6 and 2 at. % respectively (Figure 5d, arrow).

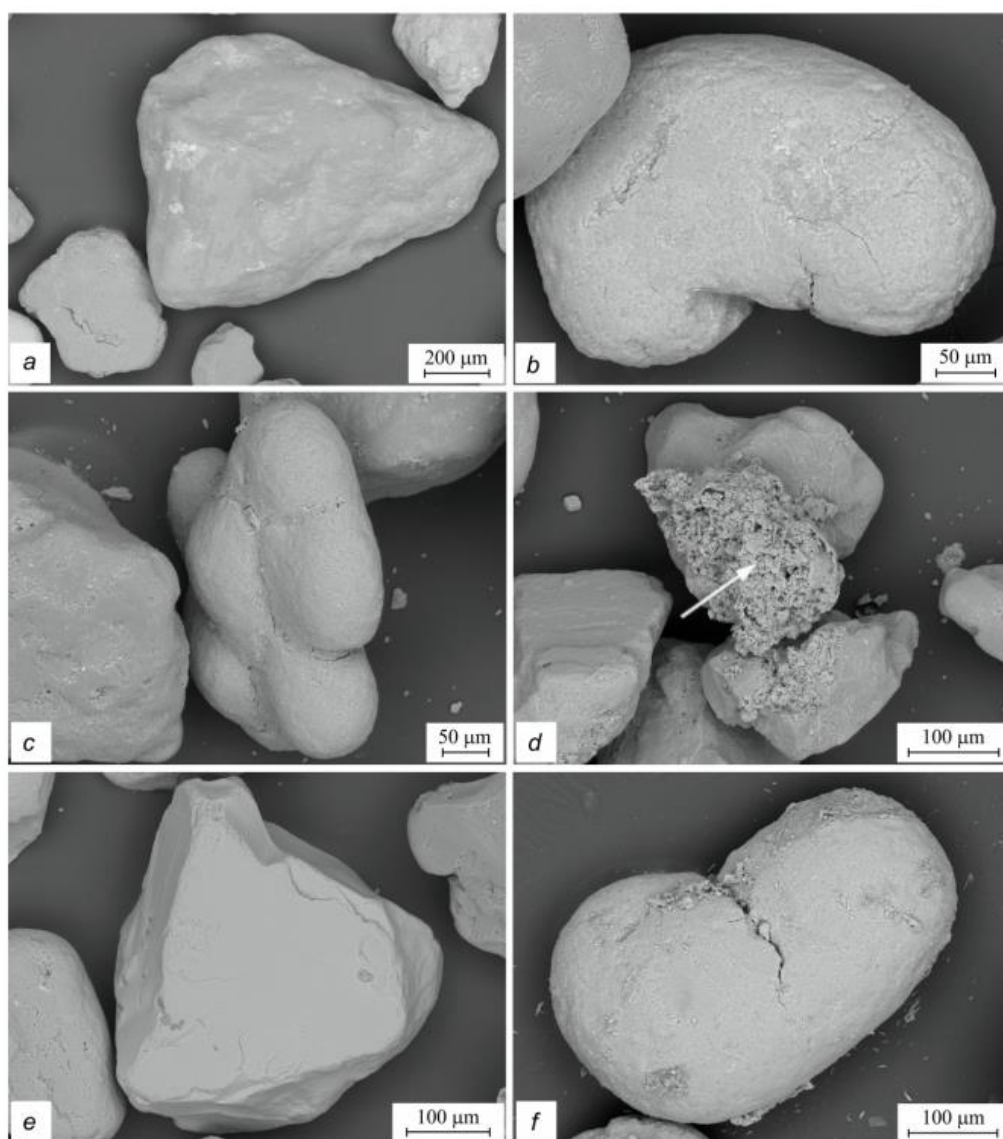
Due to the long-term influence of wind and wave activity the quartz grains of the dark sands (sites 5 and 6) compared to grains of the light sands are more rounded in shape and have small cavities and pits on the lateral surfaces (Figure 5e). Grains of diagnosed heavy minerals – garnet (Figure 5f), magnetite  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ , ilmenite  $\text{FeO}\cdot\text{TiO}_2$ , kyanite  $\text{Al}_2\text{SiO}_5$ , monazite  $(\text{Ce}, \text{La})\text{PO}_4$ , are also well rolled. Quite unusual rounded shape of the grains is observed for zircon  $\text{ZrSiO}_4$  (Figures 6a-e). It should be noted that the composition of the dark sands of the sea and lagoon coast is close (Table 2), except for the presence of freshwater diatoms in the composition of the latter (lagoon sands) (Figure 6f). According to gross analysis data, SEM and EDX-analysis, ilmenite  $\text{FeO}\cdot\text{TiO}_2$  predominates in heavy minerals. There is quite large size up to 400  $\mu\text{m}$  grains of monazite, containing in addition to the basic elements (La and Ce) Pr, Nd and Th.



**Fig. 6.** Micrographs of the heavy minerals in sand of the Curonian Spit (sampling sites 5 and 6): *a* – magnetite  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ; *b* – ilmenite  $\text{FeO}\cdot\text{TiO}_2$ , inclusion of apatite  $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{OH})$  in the center of the grain; *c* – kyanite  $\text{Al}_2\text{SiO}_5$ ; *d* – zircon  $\text{ZrSiO}_4$ ; *e* – monazite  $(\text{Ce}, \text{La})\text{PO}_4$ ; *f* – diatom on ilmenite grain. SEM, BSE-detector, for other explanation see the text

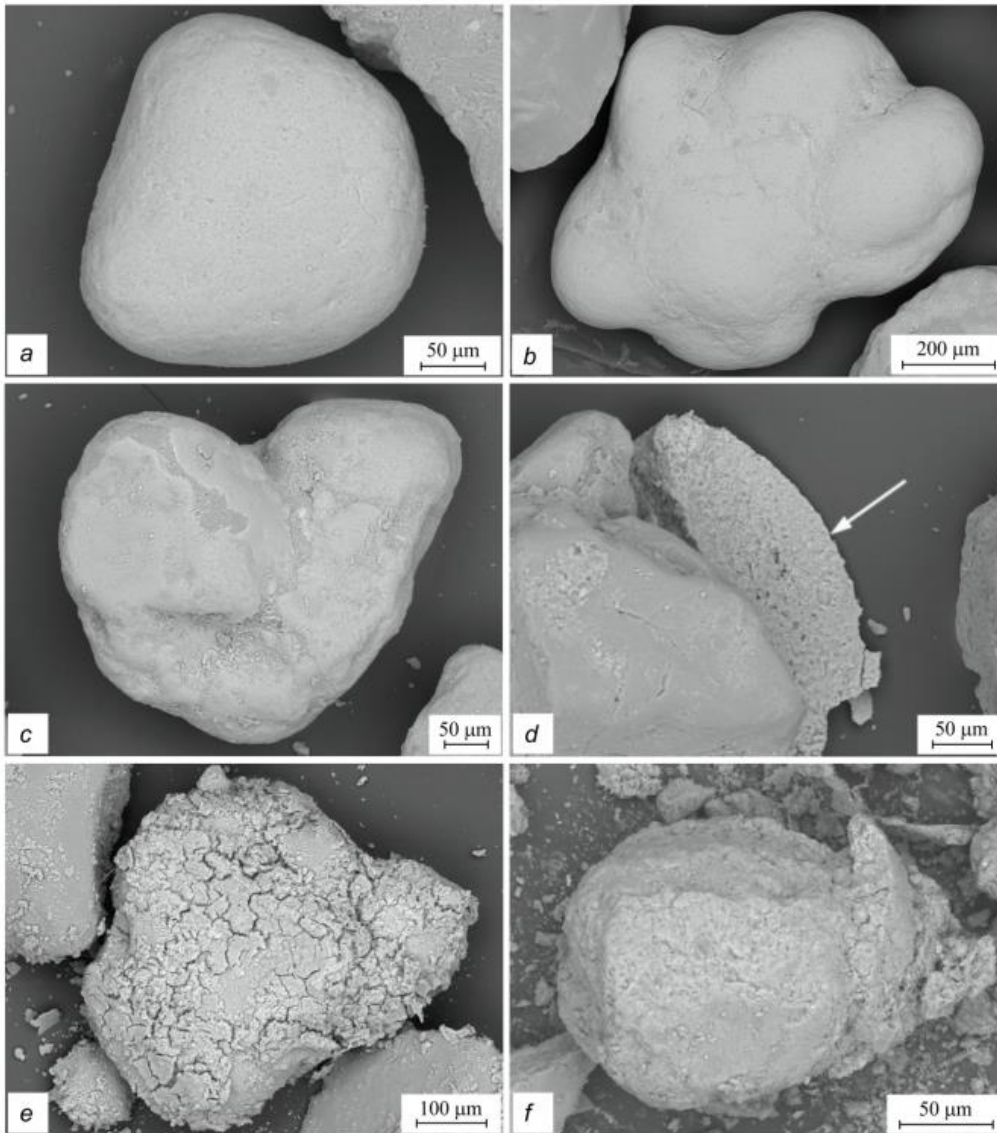
The similarity (with significant differences) of the mineralogical composition of sandy samples of the studied territory is that all of them, including the sample of layered compact clay, contain sepiolite and calcium phosphate (apatite). Sepiolite and apatite are diagnosed mainly in the form of rolled kidney shaped grains with a size of 300–1000  $\mu\text{m}$  (Figures 7, 8). Single microaggregates of fine weathered sepiolite (Figure 7d, arrow) and destroyed weathered grains of apatite (Figure 8d, arrow) were additionally diagnosed in the grey layered sand sample (site 3). The detection of fine sepiolite microaggregates can serve as an indirect confirmation of its participation (as fine sepiolite bridges) in the formation of layered sand structures.

It was not possible to detect sepiolite in sample 4 (the falls of the illuvial horizon of buried podzolic paleosol) by SEM and EDX-analysis methods, because the particles are covered with thick ferrous organomineral films. For the same reason it was not possible to find grains of apatite in this sample. However, phosphorus has been diagnosed in the ferrous organomineral films (Figure 8e). According to EDS-analysis its content in films reaches 1.2 at. %. In a sample of layered compact clay, P is fixed only in the composition of clay microaggregates (Figure 8f), its content reaches 2.5 at. %, and the atomic ratio of P and Ca in them is close to that in apatite.



**Fig. 7.** Micrographs of the sepiolite grains in the sands of the Curonian Spit: *a* – site 1; *b* – site 2; *c*, *d* – site 3, arrow – microaggregate of weathered sepiolite; *e* – site 5; *f* – site 7. SEM, BSE-detector, for other explanation – see the text



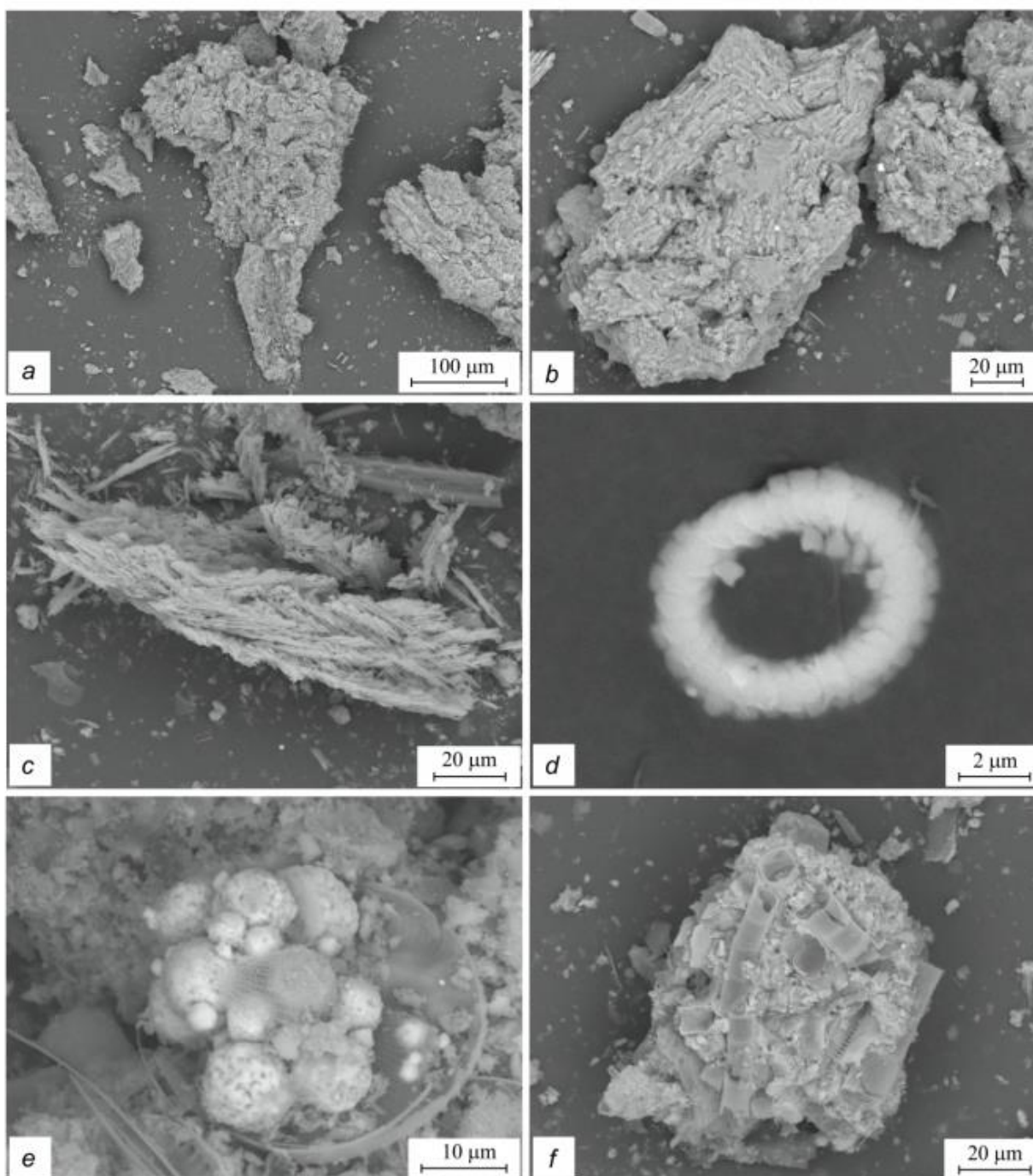


**Fig. 8.** Micrographs of the apatite grains in the sands of the Curonian Spit: *a* – site 1; *b* – site 2; *c*, *d* – site 3, arrow – weathered apatite grains; *e* – site 4; *f* – site 7. SEM, BSE-detector, for other explanation – see the text

It should be noted that the extremely high content of CaO in the sample of layered compact clay is associated not only with the presence of micromollusks, but also high-carbonate clay (sepiolite) microaggregates (Figure 9a), calcite microaggregates (Figure 9b), mesocrystals (Figure 9c) and multiple toroid-shaped microforms of  $\text{CaCO}_3$  (Figure 9d). These toroid-shaped microforms of  $\text{CaCO}_3$  are characterized with internal diameter of 8–10  $\mu\text{m}$  and cross-sectional radius of about 1  $\mu\text{m}$ . The formation of such microstructures was recorded for vaterite (the most soluble and unstable polymorphic modification of  $\text{CaCO}_3$ ) *ex situ* and *in situ* (Jiang et al., 2017; Kharitonova et al., 2018). X-ray diffraction data confirmed the presence of not only the calcite phase in the sample, but also the vaterite phase. According to the nonclassical mesocrystal concept (Cölfen, Antonietti, 2008), stability of vaterite *in situ* is explained by the formation of hierarchically organized superstructures from separate nanocrystallites under the influence of steric constraints. In these conditions, a framboidal pyrite also is formed (Figure 9e).

The most interesting result, from our point of view, should be considered the detection of freshwater diatoms in the sample of layered compact clay from the sea coast (Figure 9f). These data correlate well with the results of diatom analysis Kabailiene M. (Kabailiene, 1967, 1997) of the lagoon marl. Coupled with data from the study of 'dune tectonics' or extrusion of lagoon marl from beneath sand dunes (Buynevich et al., 2007, 2010; Bitinas et al., 2010; Sergeev et al., 2017), the

latter circumstance with a high degree of confidence allows us to assert that the sample of layered compact clay is relict lagoon marl from the sea-floor. Due to the contribution of river sediments, it is characterized by an increased content of potassium.



**Fig. 9.** Micrographs of layered compacted clayey sample (site 7): *a* – aggregate of  $\text{CaCO}_3$ -sepiolite; *b* – aggregate of  $\text{CaCO}_3$ ; *c* – mesocrystal of  $\text{CaCO}_3$ ; *d* – toroid-shaped microform of  $\text{CaCO}_3$ ; *e* – framboidal pyrite; *f* – microaggregate with freshwater diatoms. SEM, BSE-detector, for other explanation see the text

Note that calcium carbonates as well as clay minerals are important structuring agents of soils and sands. So the use of lagoon marl with a high content of fine particles and  $\text{CaCO}_3$  can be very promising for creating sandy contact-aggregated structures, fixing and stabilization of the sands.

#### 4. Conclusion

The paper presents data on particle size distribution, morphology, composition and manifestation of minerals in light and dark colored sands on the coastal line of the Curonian Spit, where wind activity is greatest. Samples of both the lagoon and the sea coast are well sorted coarse-grained sand (particle size 200–2000  $\mu\text{m}$ ), the content of which is 90 % or more. Quartz prevails in mineralogical composition of the light sands. The dark sands of the coastal line contain a significant amount of heavy minerals (ilmenite, magnetite, zircon, garnet and monazite) and are less susceptible to wind erosion. Grains of diagnosed heavy minerals are relatively well rolled, which is due to the long-term influence of wave activity. Quite unusual rounded shape of the grains is observed for zircon.

Light sands of the sea and lagoon coast differ not only in the size of the predominant fraction (200–500 and 500–1000  $\mu\text{m}$  respectively) and morphology of particles, but also in the type of relatively stable structures formed by them (layered structures of horizontal stratification on the sea coast and columnar sands on the lagoon coast respectively). The formation of sandy contact-aggregate structures (contacts of the edge-to-edge and face-to-face type, respectively) occurs with the participation of clay structural bridges, without them the sands remain incoherent.

In turn, the lagoon marl is characterized by a high content of clay and silt particles and calcium carbonates, which are important structuring agents of the sands. So use of the lagoon marl can be very promising for creating clay-sand contact-aggregated structures, fixing and stabilizing of the sands.

#### References

- [Badyukova et al., 2008](#) – *Badyukova E.N., Zhindarev L.A., Lukyanova S.A., Solovieva G.D.* (2008). Razvitie bar'erno-lagunnykh sistem yugo-vostochnoi Baltiki [Development of barrier-lagoon systems in the South-Eastern Baltic Sea]. *Oceanology*. 48(4): 641-647. DOI: 10.1134/S0001437008040140 [in Russian]
- [Badyukova et al., 2011](#) – *Badyukova E.N., Zhindarev L.A., Lukyanova S.A., Solovieva G.D.* (2011). Sovremennye akkumulativnye protsessy poberezh'ya laguny Kurshskoi kosy, yugo-vostok Baltiiskogo morya [Modern accretive processes along lagoon coast of the Curonian Spit, South-East of the Baltic Sea]. *Stroitel'stvo iskusstvennykh zemel' v pribrezhnykh i morskikh raionakh. Mat-ly Mezhdunar. konf. Novosibirsk, SO RAN*: 80-85. [in Russian]
- [Bitinas et al., 2001](#) – *Bitinas A., Damušytė A., Hütt G., Jaek I., Kabailienė M.* (2001). Application of the OSL dating for stratigraphic correlation of Late Weichselian and Holocene sediments in the Lithuanian Maritime Region. *Quaternary Sci. Rev.* 20: 767-772.
- [Bitinas et al., 2002](#) – *Bitinas A., Damušytė A., Stančikaitė M., Aleksa P.* (2002). Geological development of the Nemunas River Delta and adjacent areas, West Lithuania. *Geol. Q.*, 46: 375-389.
- [Bitinas et al., 2005](#) – *Bitinas A., Žaromskis R., Gulbinskas S., Damušytė A., Žilinskas G., Jarmalavičius D.* (2005). The results of integrated investigations of the Lithuanian coast of the Baltic Sea: geology, geomorphology, dynamics and human impact. *Geol. Q.* 49: 355-362.
- [Bitinas et al., 2017](#) – *Bitinas A., Mažeika J., Buynevich I. V., Damušyte A., Molodkov A., Grigiene A.* (2017). Constraints of radiocarbon dating in southeastern Baltic lagoons: assessing the vital effects. In Harff J., Furmanczyk K., Storch, H. (eds.): *Coastline Changes of the Baltic Sea from South to East - Past and Future Projection*. Springer, Berlin.
- [Bitinas et al., 2018](#) – *Bitinas A., Dobrotin N., Buynevich I. V., Molodkov A., Damušytė A., Pupienis D.* (2018). Coastal dune dynamics along the northern Curonian Spit, Lithuania: toward an integrated database. *Geological Quarterly*, 62(3): 553-562. DOI: 10.7306/gq.v62i3.25920
- [Bitinas, Damušytė, 2004](#) – *Bitinas A., Damušytė A.* (2004). The Littorina Sea at the Lithuanian maritime region. *Polish Geological Institute Special Papers*. 11: 37-46.
- [Blazhchishin, 1998](#) – *Blazhchishin A.I.* (1998). Paleogeografiya i evolyutsiya pozdnechetvertichnogo osadkonakopleniya v Baltiiskom more [Paleogeography and evolution of late quaternary sedimentation in the Baltic sea]. Kaliningrad: Yantarnyi skaz, 160 p. [in Russian]
- [Boldyrev, 1998](#) – *Boldyrev V.L.* (1998). Kurshskaya Kosa: sostoyanie beregovoi zony i voprosy beregozashchity [The Curonian Spit: state of coastline and problems of coast protection]. *Problemy izucheniya i okhrany prirody Kurshskoi kosy*. Kaliningrad: GP “KGT”. Pp. 87-99. [in Russian]



- [Bucas, 2001](#) – *Bucas J.* (2001). Curonian Spit National Park. Vilnius: Savastis [in Lithuanian]
- [Buynevich et al., 2007](#) – *Buynevich I.V., Bitinas A., Pupienis D.* (2007). Lithological anomalies in a relict coastal dune: geophysical and paleoenvironmental markers. *Geophysical Research Letters*. 34: L09707. DOI: 10.1029/2007GL029767
- [Buynevich et al., 2010](#) – *Buynevich I.V., Bitinas A., Damušytė A., Pupienis, D.* (2010). Unique Baltic outcrops reveal millennia of ecological changes. *Eos, Transactions American Geophysical Union*. 91: 101-102.
- [Česnulevičius et al., 2017](#) – *Česnulevičius A., Morkūnaitė R., Baurėnas A., Bevainis L., Ovodas D.* (2017). Intensity of geodynamic processes in the Lithuanian part of the Curonian Spit. *Earth Syst. Dynam.* 8:419-428. DOI: 10.5194/esd-8-419-2017
- [Cölfen, Antonietti, 2008](#) – *Cölfen H., Antonietti M.* (2008). Mesocrystals and nonclassical crystallization. New York: John Wiley&Sons, 288 p.
- [Dobrotin et al., 2013](#) – *Dobrotin N., Bitinas A., Michelevicius D., Damušyte A., Mazeika J.* (2013). Reconstruction of the Dead (Grey) Dune evolution along the Curonian Spit, Southeastern. *Baltic Bulletin of the Geological Society of Finland*. 85: 49-60.
- [Gudelis, 1954](#) – *Gudelis V.K.* (1954). Nekotorye dannye o stroenii i razvitii peresypi Kurshyu-Neringa [Some data on the structure and evolution of the Curonian Spit]. *Tr. Inst. Okeanol. Akad. Nauk SSSR (Moscow)*, 10: 62-69. [in Russian]
- [Gudelis, 1979](#) – *Gudelis V.* (1979). The Quaternary History of the Baltic. *Acta Universitatis Upsaliensis*. 1: 159-173.
- [Gudelis, 1998a](#) – *Gudelis V.* (1998a). The Lithuanian offshore and coast of the Baltic Sea. Lithuanian Academy of Sciences, Vilnius. [in Lithuanian]
- [Gudelis, 1998b](#) – *Gudelis V.* (1998b). A Catastrophic Dune Forest Fire on the Kuršiu Nerija Spit (Lithuanian Coast) and its Impact on the Coastal Population in the Late Neolithic Time. *Pact*. 54: 45-50.
- [HELCOM, 1996](#) – HELCOM (1996). Integrated Coastal Zone Management Plan for the Curonian Lagoon. HELCOM PITF MLW Curonian Lagoon Area Task Team, Lithuanian Ministry of Environmental Protection, Kaliningrad Regional Committee for Environment and Protection of Natural Resources. 234 p.
- [Jarmalavičius et al., 2015](#) – *Jarmalavičius D., Pupienis D., Buynevich I.V., Žilinskas G., Fedorovič J.* (2015). Aeolian sand differentiation along the Curonian Spit coast, Baltic Sea, Lithuania. Conference Paper. *Coastal Sediments*. DOI: 10.1142/9789814689977\_0045
- [Jiang et al., 2017](#) – *Jiang W., Pacella M.S., Athanasiadou D., Nelea V., Vali H., Hazen R.M., Gray J.J., McKee M.D.* (2017). Chiral acidic amino acids induce chiral hierarchical structure in calcium carbonate. *Nature Communications*. 8: 15066. DOI: 10.1038/ncomms15066
- [Kabailiene, 1967](#) – *Kabailiene M.* (1967). Evolution of the Curonian Spit, Nemunas Delta and surrounding swamps. *Proceedings of Geological Institute 5*, Vilnius, Lithuania, 181-207.
- [Kabailienė, 1997](#) – *Kabailienė M.* (1997). Lagoon marl (clayey gyttja) exposure at the Kursiu z Nerija Spit. The Fifth Marine Geological Conference “The Baltic”, October 6-11, 1997, Vilnius, Lithuanian Institute of Geology Lithuania: 143-148.
- [Kalinauskaitė, Laaka-Lindberg, 2013](#) – *Kalinauskaitė N., Laaka-Lindberg S.* (2013). Grey dune ground layer vegetation in the Curonian Spit nature reserve, Lithuania. *Arctoa*. 22: 1-6.
- [Kharin, Kharin, 2006](#) – *Kharin G.S, Kharin S.G.* (2006). Geologicheskoe stroenie i sostav Kurshskoi kosy [Geological Structure and Composition of the Curonian Spit (Baltic Sea)]. *Litologiya i poleznye iskopaemye*. 4: 354-361. DOI: 10.1134/S002449020604002X [in Russian]
- [Kharitonova et al., 2017](#) – *Kharitonova G. V., E. V. Shein E.V., Shesterkin V.P., Yudina A.V., Dembovetskii A.V., Ostroukhov A.V., Berdnikov N.V., Yakubovskaya A.Ya.* (2006). Granulometricheskii sostav donnykh otlozhenii r. Burei raiona Nizhne-Bureiskoi GES [Texture of the Bureya River bottom sediments in the area of the Lower Bureya HPP]. *Vestnik Moskovskogo universiteta. Ser. 17. Pochvovedenie*. 1: 24-34. [in Russian]
- [Kharitonova et al., 2018](#) – *Kharitonova G.V., Shein E.V., Krutikova V.O., Ostrouhov A.V.* (2018). Calcium Carbonate Formations in Edaphic Components of Ecosystems. *Biogeosystem Technique*. 5(2): 197-212. DOI: 10.13187/bgt.2018.2.197
- [Kliewe, Janke, 1982](#) – *Kliewe H., Janke W.* (1982). Der Holozane Wasserspiegelanstieg der Ostsee im Nordostlichen Küstengebiet der DDR. *Petermanns Geographische Mitteilungen*. 2: 62-74.

- [Kunskas, 1970](#) – *Kunskas R.* (1970). On the evolution of Curonian Lagoon, Nemunas Delta and coastal marshes. *History of Lakes*, Vilnius, Lithuania, 391-411.
- [Łabuz et al., 2018](#) – *Łabuz T.A., Grunewald R., Bobykina V., Chubarenko B., Česnulevičius A., Bautreñas A., Morkūnaitė R., Tõnisson H.* (2018). Coastal dunes of the Baltic sea shores: a review. *Quaestiones geographicae*. 37(1): 47-71. DOI: 10.2478/quageo-2018-0005
- [Lozet, Mathieu, 1990](#) – *Lozet J., Msthieu C.* (1990). Dictionnaire de Science du Sol. Technique et Documentation – Lavoisier, Paris.
- [Mojski, 1988](#) – *Mojski E.* (1988). Development of the Vistula River Delta and evolution of the Baltic Sea: An attempt at chronological correlation. *Geological Survey of Finland*. 6: 39-51.
- [Moore, Reynolds, 1997](#) – *Moore D.M., Reynolds Jr., R.C.* (1997). X-ray diffraction and the identification and analysis of clay minerals. Oxford. 378 p.
- [Müller, 2004](#) – *Müller A.* (2004). Late and Postglacial Sea-Level Change and Paleoenvironments in the Oder Estuary, Southern Baltic Sea. *Quaternary Res.* 55: 86-96. DOI: 10.1006/qres.2000.2189
- [Orlenok, 2002](#) – *Orlenok V.V.* (2002). Geograficheskii atlas Kaliningradskoi oblasti [Geographical Atlas of Kaliningrad Region]. Kaliningrad: Izd-vo KGU; TsNIT. [in Russian]
- [Osipov, 1989](#) – *Osipov V. I., Sokolov V. N., Rumyantseva N. A.* (1989). Mikrostruktura glinistyykh porod [Microstructure of argillaceous rock]. M.: Nedra, 211 p. [in Russian]
- [Peyrat, 2007](#) – *Peyrat J.* (2007). Development, properties and classification of dune soils in the Curonian Spit National Park, Russian part. *Geologija*. 59: 59-64.
- [Rawle, 2017](#) – *Rawle A.* (2017). Basic principles of particle size analysis. Malvern Instruments Technical Paper MRK034. [Electronic resource]. URL: www.malvern.co.uk
- [Sergeev et al., 2017](#) – *Sergeev A.Y., Zhamoida V.A., Ryabchuk D.V., Buynevich I.V., Sivkov V.V., Dorokhov D.V., Bitinas A., Pupienis D.* (2017). Genesis, distribution and dynamics of lagoon marl extrusions along the Curonian Spit, southeast Baltic Coast. *Boreas*. 46: 69-82. DOI: 10.1111/bor.12177
- [Starkel, 1977](#) – *Starkel L.* (1977). Paleogeografia holocenu (Holocene palaeogeography). Warszawa, PWN: 362 p. [in Polish]
- [UNESCO WHN, 1999](#) – UNESCO World Heritage Nomination (1999), Curonian Spit (Eds. Danilov-Daniljan V.I., Lygis D).
- [van Olphen, 1977](#) – *van Olphe A.* (1977). An introduction to clay colloid chemistry New York, London, Sydney, Toronto: John Willey&Sons 318 p.
- [Wolform, 2011](#) – *Wolform R.L.* (2011). Basic principles of particle size analysis. *J. GXP Compliance*. 15(2): 10-20.
- [Zenkovich, 1962](#) – *Zenkovich V.P.* (1962). Osnovy ucheniya o razvitii morskikh beregov [Fundamentals of the theory of seashore evolution]. M.: Nedra, 709 p. [in Russian]
- [Zhukovskaya, Kharin, 2009](#) – *Zhukovskaya I.P., Kharin G.S.* (2009). Kurshskaya kosa – geologicheskii fenomen [The Curonian spit – a geological phenomenon]. *Samarskaya Luka: problemy regional'noi i global'noi ekologii*. 18(4): 60-69. [in Russian]



Copyright © 2019 by Academic Publishing House Researcher s.r.o.



Published in the Slovak Republic  
Biogeosystem Technique  
Has been issued since 2014.  
E-ISSN: 2413-7316  
2019, 6(2): 83-90

DOI: 10.13187/bgt.2019.2.83  
[www.ejournal19.com](http://www.ejournal19.com)



## Ranking of Areas of Barnaul for Air Pollution

Anna Yu. Krupinnikova <sup>a</sup>, Elena V. Pechatnova <sup>a,\*</sup>

<sup>a</sup> Altai State University, Barnaul, Russian Federation

Paper Review Summary:

Received: 2019, April 20

Received in revised form: 2019, July 24

Acceptance: 2019, July 29

### Abstract

The article is devoted to the problem of air pollution in large cities and the need for its research, taking into account territorial features (zoning of the city). Much attention is given to studies of Russian and foreign scientists in this area. The aim of the investigation is to study the influence of the territorial features of the districts of the capital of the Altai Territory – the city of Barnaul on the air environment by calculating a generalized indicator that could be used as a basis for improving quantitative environmental assessment procedures. The analysis of the state of atmospheric air in the city of Barnaul for the winter period: December-February 2019 was carried out to calculate the generalized indicator. The main source of information was the daily data of the Altai Center for Hydrometeorology and Environmental Monitoring on exceeding the maximum permissible concentration in each of the five districts of the city for six pollutants: carbon monoxide, suspended solids, nitrogen dioxide, carbon (soot), phenol, formaldehyde. Using the method of two-stage ranking, the integrated indicator of the level of air pollution in each district was calculated based on the rating of the regions. The calculation method can be applied for similar purposes in a comparative assessment of the ecological state of the districts of any cities. The results of the study are presented on a city map using the color scale. Areas with the most complex and most favorable environmental conditions have been identified. The analysis of the causes has been carried out, among the leading factors of air pollution in the city the following are highlighted: the main characteristics of the transport network in the district, the presence of industrial enterprises and the peculiarities of wind rose in the period under review. In conclusion, options for improving the situation are proposed, among which the leading one is to change the path of movement of transit transport, currently following through the regional capital.

**Keywords:** environmental situation, air pollution, environmental impact, ranking method, MPC excess, ecological zoning, mathematical methods in ecology, solving environmental problems.

### 1. Введение

Одной из значимых проблем современного общества является уровень экологической безопасности. Традиционно рассматриваются следующие составляющие экологической обстановки: загрязнение атмосферы, литосферы и гидросферы. По каждому направлению

\* Corresponding author

E-mail addresses: [phukcia@yandex.ru](mailto:phukcia@yandex.ru) (E. Pechatnova)

проводятся научные исследования и предлагаются рекомендации по улучшению состояния. Однако для повышения эффективности таких мероприятий необходим учет территориальных особенностей мест, где анализируется проблема. Это связано с наличием уникальных характеристик, в том числе климатических особенностей у различных городов и других территорий.

В последнее время все большее внимание привлекает проблема загрязнения воздушной среды. Это связано со следующими причинами: прежде всего, опасен повышающийся уровень урбанизации, который ведёт к концентрации производственных и жилых объектов на ограниченной площади, что обуславливает повышение уровня загрязняющих веществ. Рост автомобилизации ведет к дополнительным проблемам в виде повышения выбросов от автомобильного транспорта (Рябец, 2018). Исследование воздушной среды в городах в настоящее время является важной задачей.

Анализ результатов исследований воздушной среды городов различными исследователями

Вопросы анализа воздушной среды обсуждались в различных работах. В исследовании, выполненном в Афганистане (Насими, Соловьева, 2017), на основе анализа воздушной среды Кабула получена регрессионная модель, отражающая зависимость концентрации взвешенных веществ от трех метеорологических параметров: температуры воздуха, влажности и скорости ветра. Однако авторам не удалось получить универсальную формулу для всех месяцев года. В работе (Помеляйко, Лопатина, 2015) авторы опровергли заключение о том, что один из городов-курортов (Кисловодск) не имеет значительных проблем с экологической нагрузкой. Авторы указали на необходимость создания систем экологического мониторинга и экологической безопасности в местах возведения и функционирования строительных комплексов и сооружений, транспортных сетей. В исследовании (Щербатюк, 2017) приведена оценка воздушной среды в Забайкальском крае и Чите, сформирован рейтинг федеральных округов по экологической безопасности воздушной среды. Оценка воздушной среды Красноярска на основе комплекса биоиндикационных (визуальных, морфометрических, биохимических) исследований, с последующим сравнением показателей, полученных на городских и фоновых участках произрастания ели, показала существенное загрязнение воздушной среды города (Степень, Соболева 2017). В работе (Бикбулатов и др., 2012) представлен анализ воздушной среды Стерлитамака, выделены основные причины загрязненности воздуха, которыми являются производственная деятельность предприятий различной направленности, рост числа автомобилей, использование низкокачественного топлива на предприятиях энергетики и в малых котельных. Работа (Звягинцева и др., 2018) посвящена анализу выбросов в Воронеже. Показана прямая связь уровня заболеваемости населения и загрязнения городской среды, представлены данные о распределении выбросов по районам города, однако, к сожалению, авторы не раскрыли деталей математического аппарата, использованного ими для количественной оценки установленной взаимосвязи.

Целью работы украинских исследователей (Rusakova, Biliaiev, 2013) стало создание математической модели для прогноза уровня загрязнения атмосферы на улицах микрорайона, находящихся вдоль автомагистралей. В результате нее возможны расчеты вероятных выбросов с учетом наличия зданий и их взаимное расположение в микрорайоне города, скорости и направления ветра, атмосферной диффузии.

В качестве методов оценки экологического состояния интерес вызывает патент российских ученых об оценке степени деградации техноландшафта при химическом загрязнении, основанный на трех этапах: нормировании загрязнения изучаемой территории и сопряженной территории, незагрязненной химическим загрязнителем; определение соотношения норм изучаемой и сопряженной территории и определение степени деградации по соотношению этих норм (Минкина и др., 2014). Многими зарубежными исследователями с целью оценки экологического состояния используется метод ранжирования: анализ воздушной среды городской местности проведен с помощью ранжирование территорий на основе метода принятия решений PROMETHEE (Nikolić et al., 2009); ранжирование регионов для выявления причин экологических проблем приведено в (Setton et al., 2015), в исследовании (Giusti et al., 2018) оценка концентраций используемых в

настоящее время пестицидов в атмосферном воздухе также проведена с использованием метода ранжирования.

Изучение состояния экосферы, в частности, оценка воздушной среды актуальна. Однако работ, посвященных анализу атмосферного воздуха в городах на основе объективных данных, полученных с использованием математических методов, и с учетом территориальных особенностей их районов загрязнения, пока по нашему мнению недостаточно. Перспективным направлением является оценка экологического состояния с использованием методов ранжирования.

Целью настоящей работы стало выделение влияния территориальных особенностей районов Барнаула на состояние воздушной среды с помощью ранжирования на основе разработанного нами в целях усовершенствования процедур количественной экологической оценки обобщенного показателя.

## 2. Материалы и методы

В основу исследования положена ежесуточная информация Алтайского ЦГМС о превышении ПДК по следующим шести загрязняющим веществам: оксид углерода (CO), взвешенные вещества, диоксид азота (NO<sub>2</sub>), углерод-сажа (C<sub>n</sub>), фенол (C<sub>6</sub>H<sub>6</sub>O), формальдегид (CH<sub>2</sub>O). ПДК примесей в атмосферном воздухе населенных мест, принятые согласно гигиеническим нормативам ГН 2.1.6.1338-03 Минздрава России, представлены в [Таблице 1 \(АЦГМС, 2019\)](#).

**Таблица 1.** ПДК наблюдаемых загрязняющих веществ

Загрязняющее вещество	ПДК, мг/м <sup>3</sup>	
	Максимальная разовая доза	Среднесуточная доза
Взвешенные вещества	0,5	0,15
Оксид углерода	5,0	3,0
Диоксид азота	0,2	0,04
Фенол	0,01	0,006
Формальдегид	0,050	0,010
Сажа	0,15	0,10

Для проведения исследований выбрано зимнее время 2018-2019 года. В качестве объектов исследования использованы пять районов Барнаула ([Таблица 2](#)).

**Таблица 2.** Районы города Барнаула

Районы	Площадь, км <sup>2</sup>
Октябрьский	69,4
Центральный	145
Ленинский	125,6
Индустриальный	129,9
Железнодорожный	15,5

В процессе выполнения исследования сформирована таблица, отражающая ежедневное превышение ПДК по каждому из загрязняющих веществ по каждому району. Фрагмент данных представлен в [Таблице 3](#).

**Таблица 3.** Ежедневное превышение ПДК оксида углерода в районах города Барнаула (фрагмент собственной базы данных)

Районы\дата	11.02.2019	12.02.2019	13.02.2019
Октябрьский	1,2	1	–
Центральный	1,5	1,3	–
Ленинский	1,7	1,2	–
Индустриальный	1,2	1	–
Железнодорожный	–	–	–

Для определения влияния территориальных особенностей нами составлена методика на основе ранжирования интегральных показателей. Выбранный метод подходит для решения поставленной задачи в связи с тем, что ранги удобны для сравнения объектов, выявления проблем и их причин и постановки задач дальнейших исследований; интегральный показатель на основе рангов позволяет решить многокритериальную задачу сравнения районов по нескольким показателям (загрязняющим веществам). Для его расчета произведены следующие вычисления: просуммированы ежедневные ( $g$ ) превышения ПДК по каждому загрязняющему веществу ( $i$ ) по районам ( $j$ ) –  $a_{ijg}$ . В результате получен интегральный  $j$ -ый районный показатель по  $i$ -ому загрязняющему веществу:

$$A_{ji} = \sum a_{ijg} \quad (1)$$

На основании выполненного согласно уравнению (1) расчёта проведено ранжирование районов по уровню загрязнения исследованными веществами ( $R_{ji}$ ). Итоговый ранг загрязнения района выражен в виде ранга (функция  $rank$ ) от суммы частных рангов по индивидуальным загрязнителям:

$$R_j = rank \sum R_{ij} \quad (2)$$

Таким образом, получены обобщенные показатели экологического состояния района, которые могут применяться для сравнения территорий.

### 3. Обсуждение

В результате расчета интегрального показателя для каждого района города получен суммарный ранг загрязнения ( $R_i$ ). На [Рисунке 1](#) представлена карта районов Барнаула, на которой отображены результаты ранжирования с использованием черно-белой шкалы (наиболее безопасные территории отмечены белым фоном).

Наиболее неблагоприятная экологическая ситуация с загрязнением воздуха в зимний период, сложилась в Центральном, а наиболее благополучная – в Ленинском районе. Новые результаты в целом согласуются с полученными ранее в ходе предварительных исследований, выполненных коллегами ([Рябец, Щербаклова, 2015](#)).

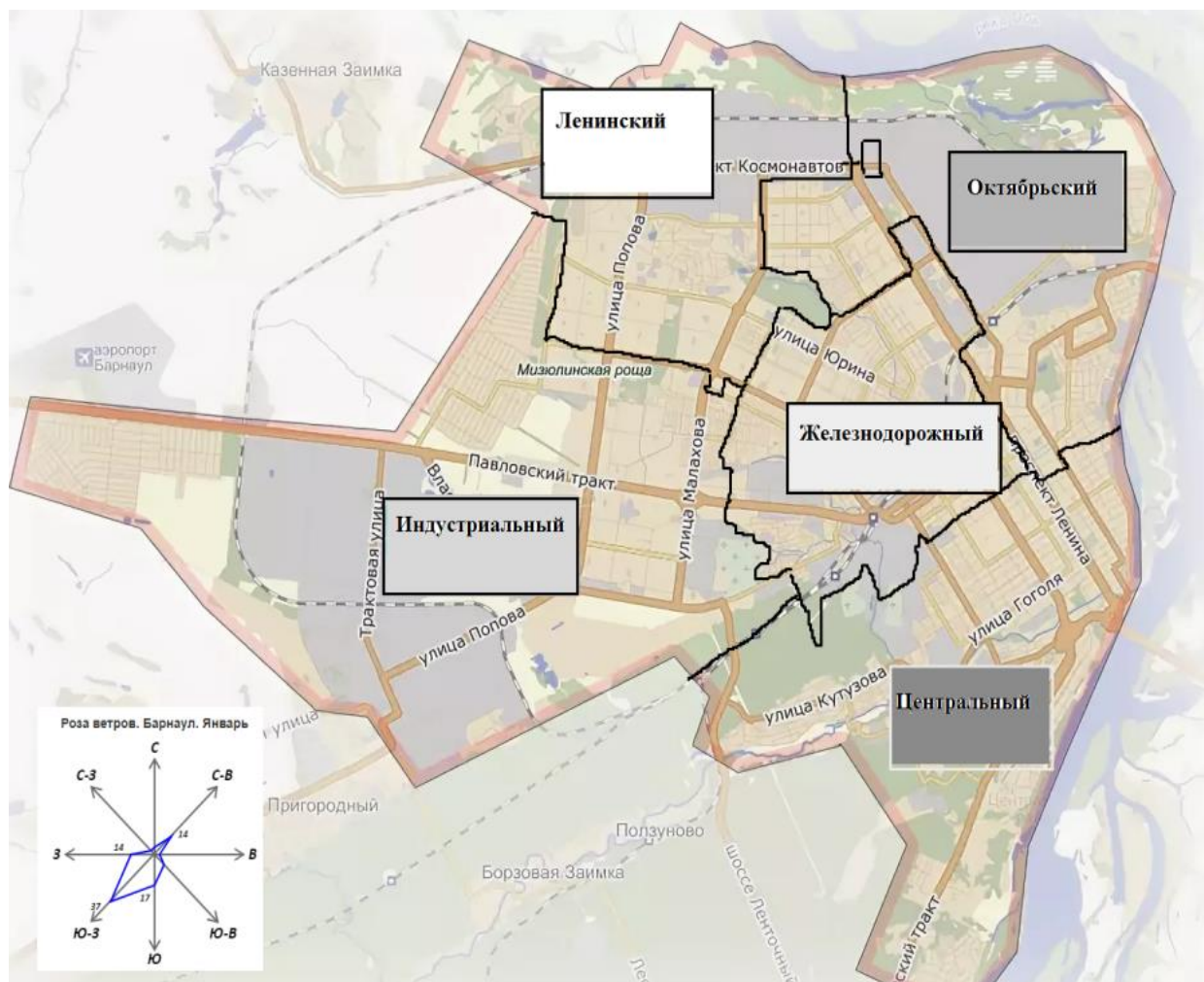
Обращаясь к анализу частных рангов ( $R_{i1}$  где 1 – индекс Центрального района), прослеживается следующая особенность: район занимает первые места (наименее благополучные) по всем загрязняющим веществам кроме фенола. Это свидетельствует о справедливости вывода об общей неблагоприятной экологической обстановке в сфере атмосферного воздуха на рассматриваемой территории краевой столицы.

Центральный район Барнаула отличается большой долей территории, занятой частной застройкой и наличием промышленных объектов. Кроме того, по территории этого района проходит загруженная автомобильная дорога – Змеиногорский тракт. Основной особенностью тракта являются транспортные заторы и большое количество транзитного грузового транспорта, следующего из приграничных государств (Республики Казахстан, Кыргызстана и др.), в крупные города западной Сибири: Новосибирск, Новокузнецк, Томск, Бийск и в обратном направлении. Несмотря на наличие лесной полосы вдоль дороги, она не в состоянии осадить загрязнения, которые несёт воздушный поток с автодороги, поскольку количество выбросов от проходящего транспорта очень велико, а конструкция и ширина лесополосы неприемлема для решения задачи защиты сопряженной с нею территории.

Наиболее благоприятная обстановка отмечается в Ленинском районе: согласно анализу итогового ранга, а также частных рангов района по загрязняющим веществам ( $R_{i5}$  где 5 – индекс Ленинского района), территория занимает последние (наиболее



благоприятные) места по всем изучаемым загрязняющим веществам. Несмотря на наличие в районе промышленных предприятий и движение грузового транспорта, положительную роль в формировании экологической обстановки играет роза ветров (выбросы идут из города). Также благоприятно играют особенности транспортной сети: на магистралях в Ленинском районе практически не фиксируются транспортные заторы.



**Рис. 1.** Результаты ранжирования районов Барнаула

Перспектива дальнейшего исследования связана с увеличением объема данных и проведением анализа состояния атмосферы Барнаула в летний и весенне-осенний период.

#### 4. Заключение

Выполнен расчет интегрального показателя загрязнения атмосферы Барнаула, проведено ранжирование районов города по рейтингу загрязнения. Наиболее неблагоприятная экологическая обстановка сложилась в Центральном районе, что скорее всего связано с высоким уровнем трафика транзитного грузового автотранспорта. Проблема загрязнения воздуха Барнаула может быть решена путем строительства транспортного обхода города, проект которого в настоящее время разрабатывается. Реализация этого решения позволит не только повысить экологическую безопасность города, связанную с загрязнением атмосферы, но также позволит снизить число ДТП.

Предложенный метод оценки экологической обстановки может служить основой усовершенствования процедур количественной экологической оценки.



## Литература

**АЦГМС, 2019** – Алтайский центр по гидрометеорологии и мониторингу окружающей среды – филиал ФГБУ «Западно-Сибирское управление по гидрометеорологии и мониторингу окружающей среды» [Электронный ресурс]. URL: <http://meteo22.ru/poleznaya-informatsiya/> (дата обращения: 06.05.2019).

**Бикбулатов и др., 2012** – Бикбулатов И.Х., Хайбуллин А.Ф., Асфандиярова Л.Р., Панченко А.А. Влияние антропогенных факторов, на состояние воздушного бассейна г. Стерлитамака // *Экология и промышленность России*. 2012. 4: 54-55.

**Звягинцева и др., 2018** – Звягинцева А.В., Петрыкин А.А., Пригородова О.А. Анализ выбросов стационарных источников и их влияние на уровень заболеваемости в районах города Воронежа // *Научно-медицинский вестник Центрального Черноземья*. 2018. 73: 59-66.

**Минкина и др., 2014** – Минкина Т.М., Манджиева С.С., Федоров Ю.А., Сушкова С.Н., Бурачевская М.В., Невидомская Д.Г., Антоненко Е.М., Калинин В.П., Ендовицкий А.П., Ильин В.Б., Черненко В.В., Бакоев С.Ю. Патент RU № 2521362 С2. Способ оценки степени деградации техноландшафта при химическом загрязнении. МПК С01В (2006.01), Е02В13/00, G01N33/24. Зарегистрировано в Государственном реестре изобретений Российской Федерации 30 апреля 2014 г. Заявка № 2012101597/20(002163) от 17.01.12. Опубликовано 27.06.2014. Бюл. № 18. 7 с.

**Насими, Соловьева, 2017** – Насими М.Х., Соловьева Т.В. О загрязнении мелкодисперсной пылью рм10 атмосферного воздуха города Кабул // *Инженерный вестник Дона*. 2017. 2 (45): 43.

**Помеляйко, Лопатина, 2015** – Помеляйко И.С., Лопатина Т.Н. Сравнительный анализ экологического состояния крупных промышленных городов РФ и курорта федерального значения // *Социология города*. 2015. 2: 55-75.

**Рябец, 2018** – Рябец О.П. Оценка транспортной системы Сибирского ФО с точки зрения автомобилизации / *Транспортные и транспортно-технологические системы: Материалы Международной научно-технической конференции*. 2018. Тюмень. С. 268-270.

**Рябец, Щербакова, 2015** – Рябец О.П., Щербакова Л.В. Охрана воздушного бассейна города Барнаула // *Труды молодых ученых Алтайского государственного университета*. 2015. Барнаул. 2, 12. С. 122-124.

**Степень, Соболева, 2017** – Степень Р.А., Соболева С.В. (2017). Оценка приоритетного экологического состояния городской территории // *Системы. Методы. Технологии*. 2017. 1 (33): 152-156.

**Щербатюк, 2017** – Щербатюк А.П. Сравнительная оценка экологической безопасности воздушной среды федеральных округов Российской Федерации // *Вестник Забайкальского государственного университета*. 2017. 23, 9: 53-66.

**Giusti et al., 2018** – Giusti A., Pirard C., Charlier C., Petit J.C.J., Crevecœur S., Remy S. Selection and ranking method for currently used pesticides (CUPs) monitoring in ambient air // *Air Quality, Atmosphere & Health*. 2018. 11(4), 385-396. DOI: 10.1007/s11869-017-0516-6

**Nikolić et al., 2009** – Nikolić D., Milošević N., Mihajlović I., Živković Ž., Tasić V., Kovačević R., Petrović N. Multi-criteria Analysis of Air Pollution with SO<sub>2</sub> and PM<sub>10</sub> in Urban Area Around the Copper Smelter in Bor, Serbia // *Water, Air, and Soil Pollution*. 2009. 206(1-4): 369–383. DOI: 10.1007/s11270-009-0113-x

**Rusakova, Biliaiev, 2013** – Rusakova T.I., Biliaiev M.M. CFD modeling of the air pollution circulation in micro districts // *Вісник Вінницького політехнічного інституту*. 2013. 6 (111): 25-30.

**Setton et al., 2015** – Setton E.M., Veerman B., Erickson A. et al. Identifying potential exposure reduction priorities using regional rankings based on emissions of known and suspected carcinogens to outdoor air in Canada // *Environmental Health*. 2015. 14: 69. DOI: 10.1186/s12940-015-0055-2

## References

**ACHEM, 2019** – Altaiskii tsentr po gidrometeorologii i monitoringu okruzhayushchei sredy – filial FGBU «Zapadno-Sibirskoe upravlenie po gidrometeorologii i monitoringu okruzhayushchei sredy» [Altai Center for Hydrometeorology and Environmental Monitoring – branch of the West Siberian Administration for Hydrometeorology and Environmental Monitoring]. [Electronic

resource]. URL: <http://meteo22.ru/poleznaya-informatsiya/> (date of access 2019-05-06). [in Russian]

**Bikbulatov et al., 2012** – *Bikbulatov I.Kh., Khaibullin A.F., Asfandiyarova L.R., Panchenko A.A.* (2012). Vliyanie antropogennykh faktorov, na sostoyanie vozdušnogo basseina g. Sterlitamaka [The influence of anthropogenic factors on the state of the air basin of Sterlitamak]. *Ekologiya i promyshlennost' Rossii*. 4: 54-55. [in Russian]

**Giusti et al., 2018** – *Giusti A., Pirard C., Charlier C., Petit J.C.J., Crevecoeur S., Remy S.* (2018). Selection and ranking method for currently used pesticides (CUPs) monitoring in ambient air. *Air Quality, Atmosphere & Health*. 11(4), 385-396. DOI: 10.1007/s11869-017-0516-6

**Minkina et al., 2013** – *Minkina T.M., Mandzhiyeva S.S., Fedorov Yu.A., Sushkova S.N., Burachevskaya M.V., Nevidomskaya D.G., Antonenko E.M., Kalinichenko V.P., Endovitsky A.P., Il'in V.B., Chernenko V.V., Bakoev S.Yu.* (2013). Patent RU № 2521362 C2. Sposob otsenki stepeni degradatsii tekhnolandshafta pri khimicheskom zagryaznenii. MPK C01B (2006.01), E02B13/00, G01N33/24. Zaregistrovano v Gosudarstvennom reestre izobretenii Rossiiskoi Federatsii 30 aprelya 2014 g. Zayavka № 2012101597/20(002163) ot 17.01.12. Opublikovano 27.06.2014. Byul. № 18. 7 p. [Patent RU № 2521362 C2. A method for assessing the degree of degradation of the techno-landscape during chemical pollution. IPC C01B (2006.01), E02B13 / 00, G01N33 / 24. Registered in the State Register of Inventions of the Russian Federation on April 30, 2014. Application No. 2012101597/20 (002163) of 01/17/12. Published 06/27/2014. Bul. No. 18. 7 p]. [in Russian]

**Nasimi, Solovieva, 2017** – *Nasimi M.Kh., Solovieva T.V.* (2017). O zagryaznenii melkodispersnoi pyl'yu rm10 atmosfernogo vozdukh goroda Kabul [About pollution with fine dust PM10 of atmospheric air in the city of Kabul]. *Inzhenernyi vestnik Dona*, 2 (45): 43. [in Russian]

**Nikolić et al., 2009** – *Nikolić D., Milošević N., Mihajlović I., Živković Ž., Tasić V., Kovačević R., Petrović N.* (2009). Multi-criteria Analysis of Air Pollution with SO<sub>2</sub> and PM<sub>10</sub> in Urban Area Around the Copper Smelter in Bor, Serbia. *Water, Air, and Soil Pollution*. 206(1-4): 369-383. DOI: 10.1007/s11270-009-0113-x

**Pomelyayko, Lopatin, 2015** – *Pomelyayko I.S., Lopatin T.N.* (2015). Sravnitel'nyi analiz ekologicheskogo sostoyaniya krupnykh promyshlennykh gorodov RF i kurorta federal'nogo znacheniya [A comparative analysis of the ecological state of large industrial cities of the Russian Federation and a resort of federal significance]. *Sotsiologiya goroda*. 2: 55-75. [in Russian]

**Rusakova, Biliaiev, 2013** – *Rusakova T.I., Biliaiev M.M.* CFD modeling of the air pollution circulation in micro districts. *Visnik Vinnits'kogo politekhnichnogo institute*. 6(111): 25-30.

**Ryabets, 2018** – *Ryabets O.P.* (2018). Otsenka transportnoi sistemy Sibirskogo FO s tochki zreniya avtomobilizatsii [Evaluation of the transport system of the Siberian Federal District from the point of view of motorization]. *Transportnye i transportno-tekhnologicheskie sistemy: Materialy Mezhdunarodnoi nauchno-tekhnicheskoi konferentsii. Tyumen'*. Pp. 268-270. [in Russian]

**Ryabets, Scherbakova, 2015** -- *Ryabets O.P., Scherbakova L.V.* (2015). Okhrana vozdušnogo basseina goroda Barnaula [Air protection in the city of Barnaul]. *Trudy molodykh uchenykh Altaiskogo gosudarstvennogo universiteta*. Barnaul. 2, 12. Pp. 122-124. [in Russian]

**Setton et al., 2015** – *Setton E.M., Veerman B., Erickson A. et al.* (2015). Identifying potential exposure reduction priorities using regional rankings based on emissions of known and suspected carcinogens to outdoor air in Canada. *Environmental Health*. 14: 69. DOI: 10.1186/s12940-015-0055-2

**Shcherbatyuk, 2017** – *Shcherbatyuk A.P.* (2017). Sravnitel'naya otsenka ekologicheskoi bezopasnosti vozdušnnoi sredy federal'nykh okrugov Rossiiskoi Federatsii [Comparative assessment of environmental safety of the air environment of the federal districts of the Russian Federation]. *Vestnik Zabaikal'skogo gosudarstvennogo universiteta*. 23(9): 53-66. [in Russian]

**Stepen'. Soboleva 2017** – *Stepen' R.A., Soboleva S.V.* (2017). Otsenka prioritetnogo ekologicheskogo sostoyaniya gorodskoi territorii [Assessment of the priority ecological state of the urban area]. *Sistemy. Metody. Tekhnologii*. 1(33): 152-156. [in Russian]

**Zvyagintseva et al., 2018** – *Zvyagintseva A.V., Petrykin A.A., Prigorodova O.A.* (2018). Analiz vybrosov statsionarnykh istochnikov i ikh vliyanie na uroven' zabolevaemosti v raionakh goroda Voronezha [Analysis of emissions of stationary sources and their impact on the incidence

rate in the areas of the city of Voronezh]. *Nauchno-meditsinskii vestnik Tsentral'nogo Chernozem'ya*. 73: 59-66. [in Russian]

### **Ранжирование районов города Барнаула по условиям загрязненности воздуха**

Анна Юрьевна Крупинникова <sup>a</sup>, Елена Владимировна Печатнова <sup>a, \*</sup>

<sup>a</sup> Алтайский государственный университет, Барнаул, Российская Федерация

**Аннотация.** В статье показана актуальность проблемы загрязнений воздуха в крупных городах и необходимость его исследования с учетом территориальных особенностей (районирования города). Рассмотрены отдельные работы российских и зарубежных ученых по данному направлению. Поставлена цель изучить влияние территориальных особенностей районов столицы Алтайского края – города Барнаула на воздушную среду с помощью расчета обобщенного показателя, который мог бы использоваться как основа при усовершенствовании процедур количественной экологической оценки. Для его расчета проведен анализ состояния атмосферного воздуха в городе Барнауле за зимний период: декабрь-февраль 2019 года. Основным источником информации выступили ежедневные данные Алтайского ЦГМС о превышении предельно-допустимой концентрации (ПДК) в каждом из пяти районов города по шести загрязняющим веществам: оксиду углерода, взвешенным веществам, диоксиду азота, углероду (саже), фенолу, формальдегиду. С помощью метода двухэтапного ранжирования рассчитан интегральный комплексный показатель уровня загрязнения атмосферного воздуха в каждом районе на основе получен рейтинга районов. Методика расчета может быть применена для аналогичных задач по сравнительной оценке экологического состояния районов любых городов. Для большей наглядности результаты нанесены на карту города с помощью использования цветовой шкалы. Выделены районы с наиболее сложной и наиболее благоприятной экологической обстановкой. Проведен анализ причин, среди ведущих факторов загрязнения атмосферного воздуха города выделены: основные характеристики транспортной сети на территории района, наличие промышленных предприятий и особенности розы ветров в рассматриваемый период. В заключение предложены варианты улучшения ситуации, среди которых ведущей является изменение пути движения транзитного транспорта, следующего в настоящее время через краевую столицу.

**Ключевые слова:** экологическая ситуация, загрязнение атмосферного воздуха, влияние транспорта на окружающую среду, метод ранжирования, превышение ПДК, экологическое районирование, математические методы в экологии, решение экологических проблем.

---

\* Корреспондирующий автор

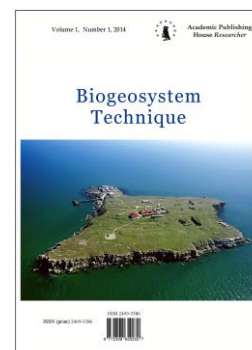
Адреса электронной почты: [phukcia@yandex.ru](mailto:phukcia@yandex.ru) (Е.В. Печатнова)

Copyright © 2019 by Academic Publishing House Researcher s.r.o.



Published in the Slovak Republic  
Biogeosystem Technique  
Has been issued since 2014.  
E-ISSN: 2413-7316  
2019, 6(2): 91-101

DOI: 10.13187/bgt.2019.2.91  
[www.ejournal19.com](http://www.ejournal19.com)



## Biodegradation of White Phosphorus – a Dangerous Industrial Contaminant

Anton Z. Mindubaev<sup>a,\*</sup>, Alexandra D. Voloshina<sup>a</sup>, Natalia V. Kulik<sup>a</sup>, Dmitry V. Ryzhikov<sup>a</sup>,  
Tatiana A. Barsukova<sup>a</sup>, Yaw A. Akosah<sup>b</sup>, Salima T. Minzanova<sup>a</sup>, Lubov' G. Mironova<sup>a</sup>

<sup>a</sup> A.E. Arbuzov Institute of Organic and Physical Chemistry, FRC Kazan Scientific Center  
of Russian Academy of Sciences, Russian Federation

<sup>b</sup> Kazan (Volga Region) Federal University, Russian Federation

Paper Review Summary:

Received: 2019, August 16

Received in revised form: 2019, September 28

Acceptance: 2019, September 29

### Abstract

Possibility of white phosphorus degradation under the effect of waste water sludge (WWS) of waste-water treatment facilities is shown for the first time. White phosphorus to suppress the microorganisms growth not immediately after application, but in several days or even weeks. It means that toxic effect is conditions by the presence of intermediate products of degradation, which are accumulated in substrates. Considering the change in evolved gaseous products composition one can make a conclusion about greater stability of eubacteria to white phosphorus compared to that of methanogens. Microorganisms cultures are obtained, growing on substrata with white phosphorus content 0.01 and even 0.1 %. The P<sub>4</sub> concentration decrease in media is in inverse proportion to the duration of microflora growth lag-phase, as it was demonstrated by GCMS method. This fact indicates at the white phosphorus biodegradation process. Besides, in the present work the research work is presented, devoted to the search for the white phosphorus metabolites, and the probable way of the phosphorus metabolism is proposed for the first time. Inoculation of stable bacteria on synthetic medium, containing white phosphorus as a unique source of phosphorus, has demonstrated the possibility of their growth in such conditions.

**Keywords:** detoxication, white phosphorus, sewage sludge, anaerobic conditions, gas secretion kinetics, gas chromatography-mass spectrometry, metabolic pathway, nuclear magnetic resonance.

### 1. Введение

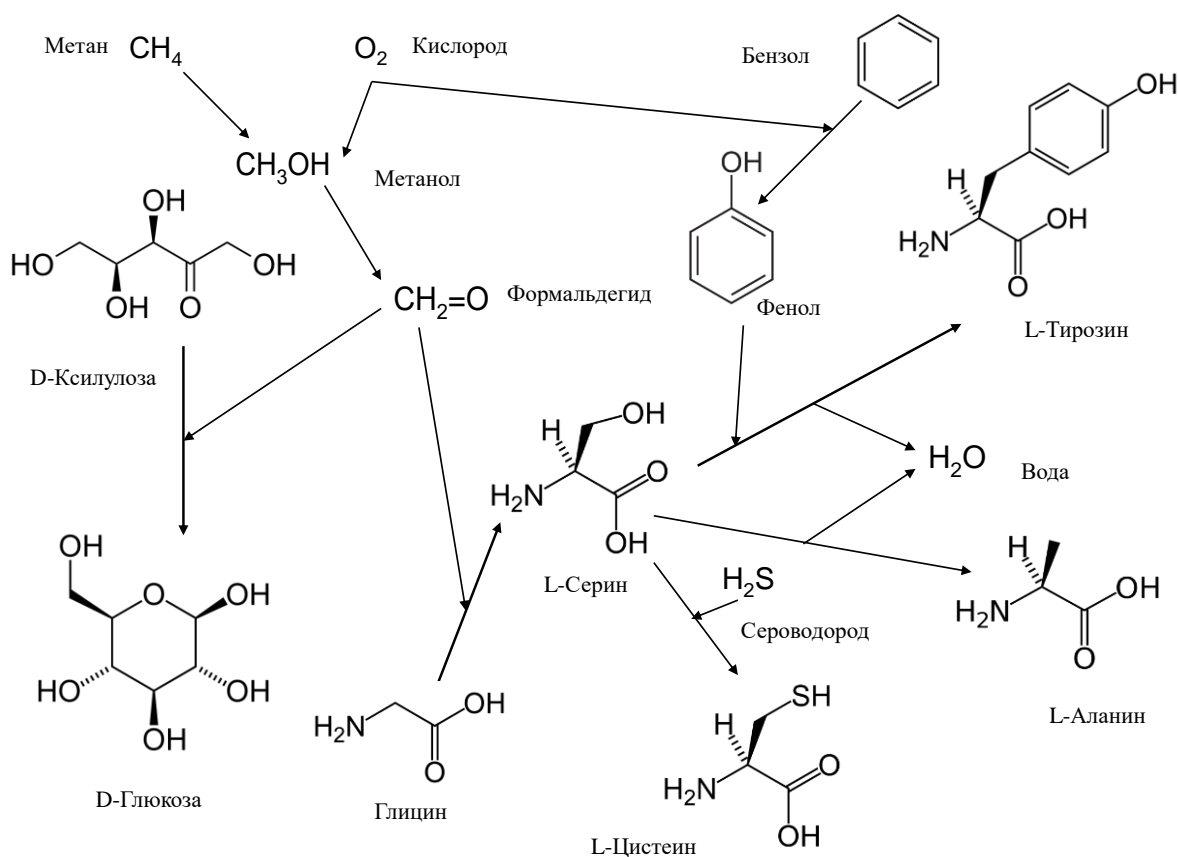
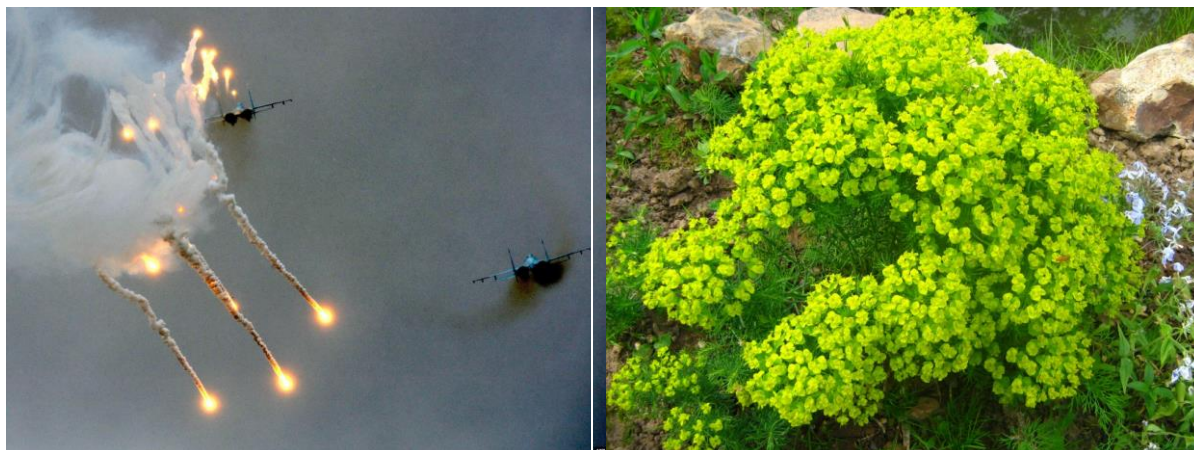
Наш проект направлен на разработку научных основ детоксикации белого фосфора – опасного промышленного загрязнителя окружающей среды. Белый фосфор широко применяется в химической промышленности и при производстве красного фосфора, в свою очередь, используемого в спичечной промышленности, в цветной металлургии, в бумажной промышленности, в производстве пластмасс (Gleason, 2007). Кроме того, белый фосфор применяется в военных целях (Рисунок 1, вверху слева) (Касаткин и др., 2017; Davis, 2002).

\* Corresponding author

E-mail addresses: [mindubaev-az@yandex.ru](mailto:mindubaev-az@yandex.ru) (A.Z. Mindubaev)



Поэтому проблема утечек фосфора в окружающую среду актуальна. Приемлемые способы детоксикации белого фосфора до сих пор не созданы, хотя работы в данном направлении ведутся. Предлагаемый метод основан на том, что бактерии окисляют токсичные фосфорсодержащие соединения до нетоксичных фосфатов, не представляющих угрозу для окружающей среды (Рисунок 1, вверху справа).



**Рис. 1.** Вверху. Многообразие форм фосфора. Слева вверху: взрывы фосфорных боеприпасов (изображение с сайта <https://free-news.su>). Справа вверху: предельно окисленная форма фосфора – фосфат – является подкормкой для растений и играет важнейшую роль в существовании абсолютно всех форм жизни. Изображение с сайта <http://samdizajner.ru> Внизу. Пример того, как два или три ядовитых вещества превращаются в одно полезное. Включение формальдегида и фенола (или бензола) в состав сахаров и аминокислот – блестящий пример биодетоксикации. Синтез метанола из метана осуществляется метанотрофными бактериями, серина и трехуглеродных сахаров из метанола – некоторыми метилотрофными бактериями и дрожжами, глюкозы из трехуглеродных сахаров – высшими организмами, аланина из серина – *Escherichia coli* и

*Clostridium difficile*, цистеина из серина – рядом микроорганизмов, тирозина из фенола – *Escherichia intermedia*, фенола из бензола – метанмонооксигеназой бактерий и грибов. Включение формальдегида, фенола и бензола в состав сахаров и аминокислот – убедительный пример биодеградаци. Рисунок А.З. Миндубаева

Содержание основного загрязнителя в сточных водах с предприятий, производящих или потребляющих белый фосфор, не должно превышать двух частей на миллион (Barber, 1996). По названным выше причинам приобрели актуальность разработки методов детоксикации  $P_4$  – недорогих и без использования токсичных реагентов.

Биодегградация является одним из наиболее часто применяемых на практике методов обезвреживания промышленных стоков, обогащенных неприродными веществами самых разнообразных классов, в том числе очень токсичными (Meckenstock et al., 2015). Главное преимущество биодегградации, по сравнению с другими многочисленными методами обезвреживания стоков, заключается в том, что при ее использовании в окружающую среду не вносятся новые химические загрязняющие агенты. На Рисунок 1 внизу продемонстрирована показательная схема усвоения сразу нескольких токсичных веществ в едином метаболическом пути, демонстрирующая совершенство биохимии микроорганизмов и изображенная на основе литературных источников (Klein et al., 2019; Ettwig et al., 2010; Ro et al., 1997; Chung et al., 2015; Stover et al., 1992; Asojo et al., 2014; Skaugen et al., 1994; Jastrzębowska et al., 2015; Fuganti et al., 1974; Hofrichter, Ullrich, 2014; Busch et al., 2016). Включение нескольких токсичных ксенобиотиков (метан, бензол или фенол, индол) в состав сахаров и аминокислот, является, пожалуй, наиболее показательным примером биодегградации.

Это является весомым фундаментальным аргументом в пользу возможности биодегградации даже такого ксенобиотика, как белый фосфор. Целью проведенного нами исследования являлась переработка при помощи микроорганизмов, населяющих осадки канализационных стоков, белого фосфора – одного из самых опасных веществ, применяемых в крупнотоннажном химическом производстве (Duerksen-Hughes et al., 1997). В литературных источниках не найдено сведений о доказанных примерах биологической дегградации белого фосфора.

Десять лет назад возник наш проект переработки белого фосфора. Работы с этим веществом в нашем институте ведутся длительное время, и до сих пор в литературных источниках не были найдены сведения о его биодегградации, т.е. работа обладает новизной, а также значительным научным и практическим потенциалом. В результате проделанной работы впервые показана возможность дегградации белого фосфора под действием осадка сточных вод (ОСВ) водоочистных сооружений. Главное преимущество нашего метода – экологическая безопасность. Реализация метода внесет вклад в развитие зеленой химии в целом, поскольку проект направлен в новое для нее направление – поиск биологических катализаторов, ферментов, с новой, не изученной в настоящее время, активностью. Следует также учитывать параллельный вклад в фундаментальное научное знание, поскольку метаболизм белого фосфора до сих пор практически не изучен.

Предыдущие работы нашего коллектива (Миндубаев и др., 2011; Миндубаев и др., 2014; Миндубаев и др., 2017) позволили пролить свет на вопрос токсичности белого фосфора для микроорганизмов. Точно также не найдена информация о путях метаболизма белого фосфора в присутствии микробиоты или в тканях высших организмов. В изданной литературе идет речь исключительно об абиогенных путях дегградации и детоксикации белого фосфора. В свете этого, количественные данные о зависимости между скоростью исчезновения белого фосфора в субстрате и интенсивностью микробного метаболизма в нем, без преувеличения, являются уникальными. Получая их, мы опирались не на изданные ранее работы, а исключительно на результаты собственных исследований.

## 2. Методология

При проведении экспериментов использовали смесь уплотненного и обезвоженного осадка сточных вод (ОСВ) Муниципального унитарного предприятия Водоканал г. Казани. В качестве дополнительного пищевого субстрата, позволяющего сокращать лаг-фазу роста микрофлоры активного ила, в контроль и опыт добавлялась растительная биомасса –

зеленая масса растения амарант (*Amaranthus cruentus* L) (Миндубаев и др., 2009). Фитомасса смешивалась с ОСВ в соотношении 1:1 на сухой вес. В одном из экспериментов фитомасса амаранта перед внесением в субстрат была измельчена до состояния порошка на ручном блендере Philips HR 1370. Белый фосфор перед внесением в субстрат был эмульгирован в воде при помощи ультразвуковой ванны “Сапфир” при температуре 50°C в инертной атмосфере (азот) до образования однородной эмульсии. Далее эмульсия  $P_4$  вносилась в субстраты пипеткой при перемешивании: ее объем соответствовал рассчитанной конечной концентрации белого фосфора в субстрате.

Анаэробная переработка сырья осуществлялась в реакторах лабораторного масштаба, непрерывно термостатированных при 38 °C. Загрузка реактора составляла 150–300 г субстрата, в зависимости от объема реактора (200–400 мл). В эксперименте с измельченной фитомассой во все повторы было добавлено по 60 г инокулята, после чего объемы субстратов достигли 360 мл, а концентрация  $P_4$  в сериях опытов снизилась с 0,01 до 0,008.

Для контроля переработки  $P_4$  были использованы ЯМР спектрометр высокого разрешения Avance 400 (Bruker) и газовый хроматомасс-спектрометр Shimadzu GCMS-QP2010Ultra (Япония). Для поиска белого фосфора спектры  $^{31}P$  ЯМР снимались с экстрактов ОСВ в органическом растворителе (диэтиловый эфир), для поиска метаболитов – с отфильтрованной водной фазы ОСВ.

Микробиологический посев из субстрата с исходным содержанием белого фосфора 0,1 % производился после окончания анаэробной переработки. Посевы «газоном» осуществляли под плотную питательную среду МПА в чашке Петри. Посев из субстратов с исходным содержанием  $P_4$  0,01 % проводился на крахмало–аммиачный агар.

Нами впервые проведен посев устойчивой микрофлоры в искусственную культуральную среду, содержащую в качестве единственного источника фосфора белый фосфор, и наблюдался рост в этой среде. Посев чистой культуры *Bacillus subtilis* из субстрата с исходным содержанием белого фосфора 0,1 % производился в модифицированную среду Придхем-Готлиба. Наша модификация включает глюкозу, но не содержит источники фосфора (в качестве такового выступает белый фосфор). Среды разлиты в 200 мл склянки по 100 мл. Культивирование продолжалось 19 суток при температуре 37°C.

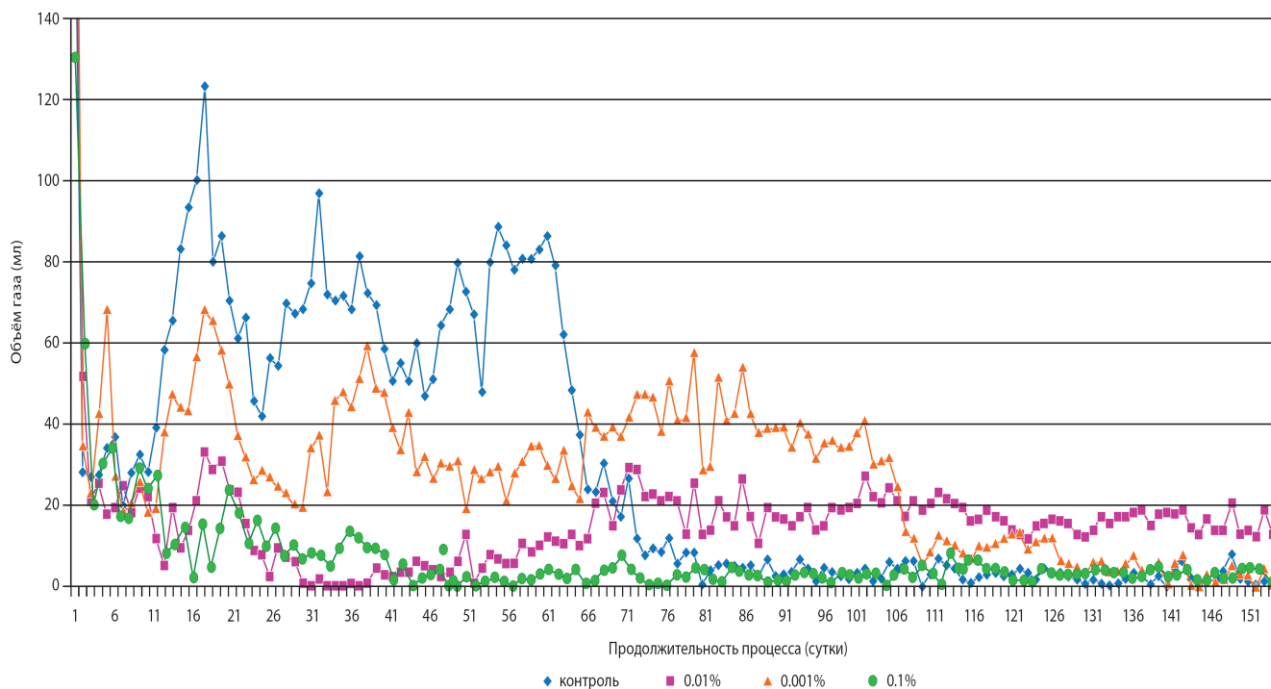
### 3. Результаты и обсуждение

#### 3.1. Условия биodeградации

При содержании белого фосфора в субстрате 0,1 % по массе, наблюдалось необратимое угнетение жизнедеятельности микрофлоры по сравнению с контролем, выражающееся в снижении выделения газообразных продуктов жизнедеятельности. Тем не менее, даже при такой концентрации токсичного вещества не наблюдалась полная гибель микроорганизмов. При содержании  $P_4$  в иле 0,01% по массе, наблюдалось значительное угнетение, вплоть до полного прекращения выделения газа (Рисунок 2).

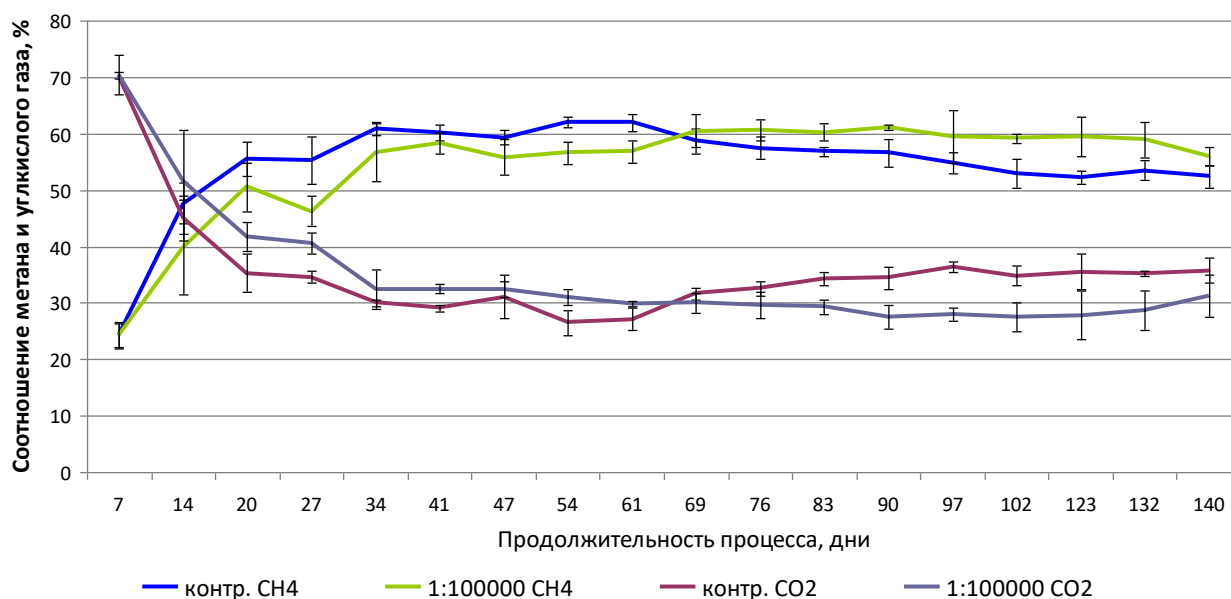
#### 3.2. Мониторинг биodeградации

Из осадков с концентрацией  $P_4$  0,01% первая проба для  $^{31}P$  ЯМР анализа была взята на 35 день. Спектры продемонстрировали наличие одного сигнала, соответствующего белому фосфору. Значит, срок в 35 дней недостаточен для переработки  $P_4$  ОСВ. Вторая проба была отобрана на 63 день. Спектр показал отсутствие сигналов фосфорных соединений, в том числе  $P_4$  (кислоты фосфора в эфирную фракцию не переходят). Таким образом, срок продолжительностью 63 суток оказался достаточным для переработки белого фосфора в концентрации 0,01 %.



**Рис. 2.** Кинетика выделения газа в зависимости от концентрации белого фосфора. Удельные выходы газа составили 30,5 мл газа/мл субстрата в контроле, 28,3 мл газа/мл субстрата при концентрации 0,001 %, 16,0 мл газа/мл субстрата при концентрации 0,01 % и 5,8 мл газа/мл субстрата при концентрации 0,1 %, соответственно. Все точки на диаграммах усреднены из трех повторов. Продолжительность эксперимента 148 суток

На содержание углекислого газа белый фосфор оказывал менее заметное угнетающее воздействие, чем на содержание метана (Рисунок 3). Из этого следует, что метаногенные археобактерии более чувствительны к отравлению этим веществом по сравнению с другими представителями микрофлоры активного ила – эубактериями, продуцирующими углекислый газ (Миндубаев и др., 2014).



**Рис. 3.** Зависимость кинетики изменения состава газа от концентрации белого фосфора в осадках (0,001 % белого фосфора). В опытах содержание метана растет медленнее, чем в контролях, а на содержание  $\text{CO}_2$  присутствие белого фосфора почти не влияет



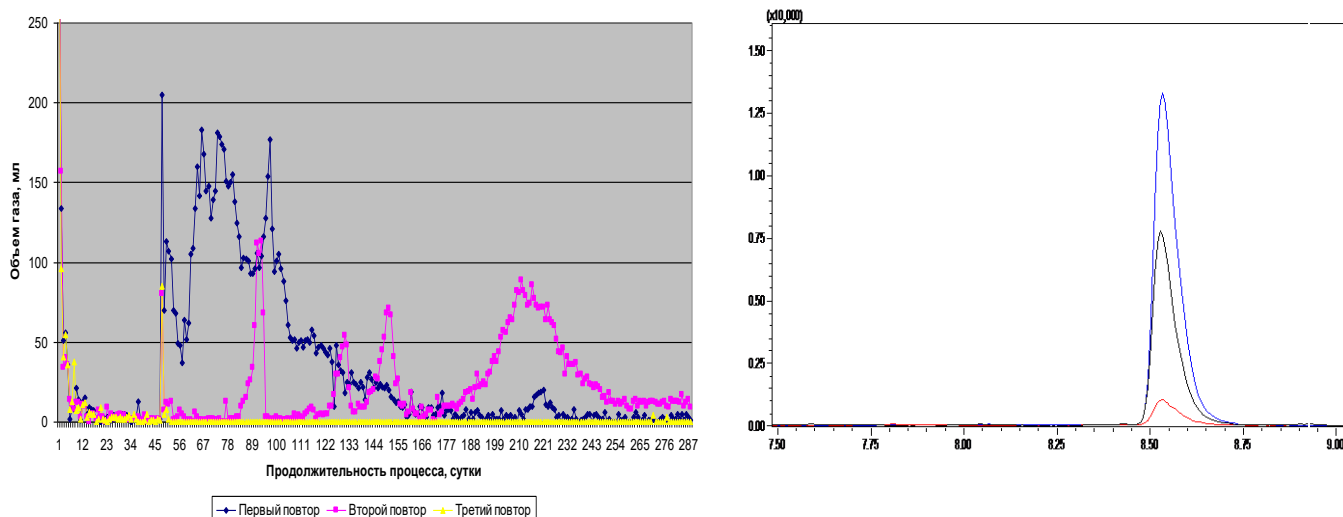
### 3.3. Устойчивые микроорганизмы

Следует отметить, что на поверхности осадков с добавлением  $P_4$  0,01% наблюдался рост колоний микроорганизмов. В контрольных образцах без белого фосфора рост микроорганизмов не наблюдался. Выделенные микроорганизмы идентифицировали как представителей рода *Streptomyces*. При одинаковом разведении из опытного (с  $P_4$ ) субстрата с содержанием белого фосфора 0,1 %, на МПА выросло больше колоний бактерий, чем из контрольного. Плотность клеточной суспензии в контроле составляла  $2,5 \times 10^8$  клеток/мл субстрата, а в опыте –  $1,5 \times 10^{10}$  клеток/мл субстрата, т.е. на два порядка больше. Выращенные бактерии были идентифицированы как представители рода *Bacillus* (Миндубаев и др., 2011). Итак, во всех случаях мы наблюдаем сходное явление – отсутствие или ослабление роста микроорганизмов в контрольных субстратах после прекращения выделения газа. Вероятно, это различие вызвано тем, что охарактеризованные микроорганизмы лучше адаптируются к присутствию белого фосфора. В контрольных субстратах они угнетены присутствием других групп микроорганизмов.

1.4. Связь активности микробного метаболизма и разложения белого фосфора. Отличие эксперимента, описанного в работе (Миндубаев и др., 2014), состоит в том, что вносимая в субстраты фитомасса амаранта (Рисунок 4) была измельчена до состояния порошка. Это резко активировало метаболические процессы в первые сутки эксперимента, как в контроле, так и в опытах. При этом интенсивно выделялся сероводород, образующийся при анаэробном разложении белковых веществ амаранта. Накопление сероводорода привело к постепенному прекращению выделения газообразных продуктов во всех образцах. Токсичное влияние  $P_4$  в опытах в этот период не наблюдалось: характер затухания метаболических процессов в контролях и опытах был одинаковым. По этой причине на 48 день эксперимента во все субстраты был добавлен инокулят, представляющий собой ОСВ той же партии. После его внесения микрофлора субстратов активировалась, но не одновременно в разных повторах. В одном из трех повторов, включая контроль, жизнедеятельность микрофлоры восстановилась сразу после внесения инокулята. Кинетика второго повтора имеет выраженную лаг-фазу. Третий повтор не активировался (Рисунок 5, слева). Результат эксперимента однозначно свидетельствует о биологической деградации  $P_4$ : разложение ксенобиотика начинается только после преодоления микрофлорой интоксикации сероводородом. Анализ ГХМС показал, что концентрация белого фосфора обратно пропорциональна активности микробного метаболизма в них (Рисунок 5, справа). Это означает четкую зависимость между скоростью исчезновения белого фосфора в субстрате и интенсивностью микробного метаболизма в нем.



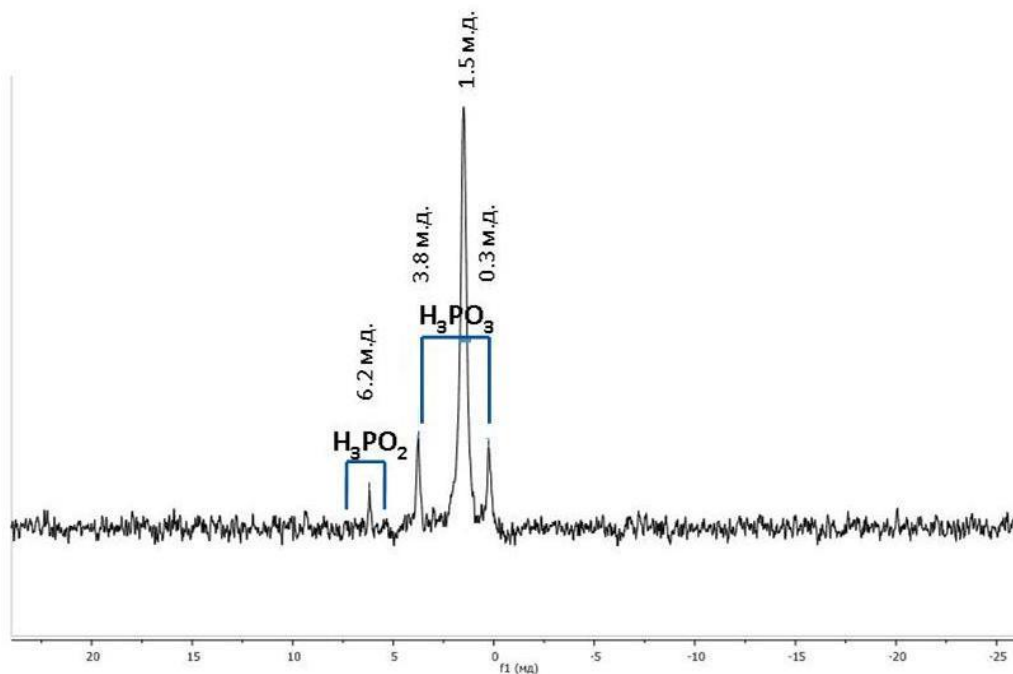
Рис. 4. Амарантовое поле. Изображение с сайта <https://wallpaperscraft.ru>



**Рис. 5.** Различия интенсивности сигнала ГХМС белого фосфора для повторов опыта (наименее интенсивный сигнал – первого повтора, средний по интенсивности – второго, наиболее интенсивный – третьего). Слева: Кинетика выделения газа в опыте с содержанием  $P_4$  0.01% (три повтора). Удельная продуктивность первого, второго и третьего повторов 27.3, 17.2 и 2.4 мл газа/ мл субстрата за 288 суток, соответственно. Справа: Спектр ГХМС для трех повторов, снятый на 223 сутки эксперимента. Для большей наглядности нужно сравнить с диаграммами на рис. слева

### 3.5. Метаболические превращения белого фосфора

В опытном спектре  $^{31}P$  ЯМР, снятом с водной фазы, проявились сигналы, соответствующие фосфиту и гипофосфиту (Миндубаев и др., 2017) (Рисунок 6). Таким образом, он является подтверждением предполагаемого нами метаболического пути.



**Рис. 6.**  $^{31}P$  ЯМР спектр водной фазы опыта с содержанием  $P_4$  в ОСВ 0,1 %. Продолжительность эксперимента 153 сут. Сигналы в области 0,3 и 3,8 ppm соответствуют фосфиту. Сигнал в области 6,2 ppm относится к гипофосфиту. Оба вещества рассматривались как возможные метаболиты белого фосфора. Сигнал в области 1,5 ppm относится к фосфату

### 3.6. Искусственные культуральные среды с белым фосфором

Бациллы растут очень интенсивно в синтетической среде, содержащей фосфат. В среде без источников фосфора признаки жизнедеятельности вообще не наблюдаются, среда прозрачна, отсутствует показатель брожения глюкозы – выделение газа. Самый интересный результат демонстрирует среда с белым фосфором. В ней присутствуют отдельные мелкие колонии. Наблюдалось выделение газа. Значит, бациллы смогли расти, хоть и очень медленно, на продуктах окисления белого фосфора, включающие незначительные количества фосфата и фосфита! Рост в культуральных средах с белым фосфором наблюдался нами впервые.

## 4. Заключение

Впервые показана возможность деградации белого фосфора ( $P_4$ ) под действием осадка сточных вод (ОСВ) водоочистных сооружений. Показано, что белый фосфор угнетает рост микроорганизмов за счет образования токсичных промежуточных продуктов его деградации. Доказано, что снижение концентрации  $P_4$  обратно пропорционально продолжительности лаг-фазы роста и прямо пропорционально активности метаболических процессов микрофлоры. Проведен поиск метаболитов белого фосфора и предложен путь его метаболизма.

Установлено, что белый фосфор проявляет выраженное токсическое действие на микрофлору активного ила, подавляя рост микроорганизмов. Однако использованная в данной работе концентрация белого фосфора (от 0,1 до 0,01 % включительно) не привела к гибели микрофлоры, а в концентрации 0,001 % он практически не оказывает влияние на удельную продуктивность газообразования. Последующая адаптация микрофлоры к действию токсиканта приводит к полной биодеградации и переработке белого фосфора в нетоксичные продукты с сохранением исходной метаболической активности. Между жизнедеятельностью микрофлоры и скоростью разложения в субстрате белого фосфора есть прямая связь, что свидетельствует в пользу именно биологической деградации  $P_4$ . Методом  $^{31}P$  ЯМР обнаружены предполагаемые метаболиты  $P_4$ . Выделены и охарактеризованы микроорганизмы, способные расти в субстратах, содержащих белый фосфор в концентрации до 0,1 % по массе. Посев устойчивых бактерий в синтетическую среду, содержащую белый фосфор в качестве единственного источника фосфора, продемонстрировал возможность их роста в таких условиях. Полученные нашим коллективом результаты открывают перспективы практического применения биодеградации белого фосфора.

## 4. Благодарности

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант 14-08-31091 мол\_а).

## Литература

Касаткин и др., 2017 – Касаткин А.В., Ватутин Н.М., Колтунов В.В., Малинин С.Е. Особенности фосфоросодержащих боеприпасов специального назначения и методы их утилизации. *Вестник технологического университета*, 2017. 20(5): 39-43.

Миндубаев и др., 2009 – Миндубаев А.З., Минзанова С.Т., Скворцов Е.В., Миронов В.Ф., Зобов В.В., Ахмадуллина Ф.Ю., Миронова Л.Г., Белостоцкий Д.Е., Коновалов А.И. Стимулирующее влияние сухой фитомассы амаранта *Amaranthus cruentus* на биометаногенез в трудноферментируемых субстратах. *Вестник Казанского технологического университета*. 2009. 4: 220-226.

Миндубаев и др., 2011 – Миндубаев А.З., Акосах Й.А., Алимова Ф.К., Афордояны Д.М., Болормаа Ч., Кагиров Р.М., Минзанова С.Т., Миронова Л.Г., Яхваров Д.Г. О разложении белого фосфора осадком сточных вод // *Учен. зап. Казан. ун-та. Сер. Естеств. Науки*. 2011. 153(2): 110-119.

Миндубаев и др., 2014 – Миндубаев А.З., Волошина А.Д., Горбачук Е.В., Кулик Н.В., Ахоссийенагбе С.К., Алимова Ф.К., Минзанова С.Т., Миронова Л.Г., Панкова А.В., Болормаа Ч., Сапармырадов К.А., Яхваров Д.Г. Белый фосфор как новый объект биологической деструкции // *Бутлеровские сообщения*. 2014. 40(12): 1-26.

Миндубаев и др., 2017 – Миндубаев А.З., Волошина А.Д., Валидов Ш.З., Яхваров Д.Г. (2017). Биодеградация белого фосфора // *Природа*. 2017. 5: 29-43.

[Asojo et al., 2014](#) – Asojo O.A., Nelson S.K., Mootien S., Lee Y., Rezende W.C., Hyman D.A., Matsumoto M.M., S. Reiling, Kelleher A., Ledizet M., Koskib R.A., Anthony K.G. Structural and biochemical analyses of alanine racemase from the multidrug-resistant *Clostridium difficile* strain 630 // *Acta Cryst.* 2014. 70(7): 1922-1933.

[Barber, 1996](#) – Barber J.C. Processes for the disposal and recovery of phosphy water. Patent USA US5549878, 1996.

[Busch et al., 2016](#) – Busch F., Rajendran Ch., Heyn K., Schlee S., Merkl R., Sterne R. Ancestral Tryptophan Synthase Reveals Functional Sophistication of Primordial Enzyme Complexes // *Cell Chemical Biology.* 2016. 23(6): 709-715.

[Chung et al., 2015](#) – Chung S.T., Chacko Sh.K., Sunehag A.L., Haymond M.W. Measurements of Gluconeogenesis and Glycogenolysis: A Methodological Review // *Diabetes.* 2015. 64(12): 3996-4010.

[Davis, 2002](#) – Davis K.G. Acute Management of White Phosphorus Burn // *Military medicine.* 2002. 167(1): 83-84.

[Duerksen-Hughes et al., 1997](#) – Duerksen-Hughes P., Richter P., Ingerman L., Ruoff L., Thampi S., Donkin S. Toxicological profile for white phosphorus. U.S. Department of health and human services. USA, 1997. 248 p.

[Ettwig et al., 2010](#) – Ettwig K.F., Butler M.K., Le Paslier D., Pelletier E., Mangenot S., Kuypers M.M.M., Schreiber F., Dutilh B.E., Zedelius J., de Beer D., Gloerich J., Wessels H.J.C.T., van Alen Th., Luesken F., Wu M.L., van de Pas-Schoonen K.T., Op den Camp H.J.M., Janssen-Megens E.M., Francoijs K.-J., Stunnenberg H., Weissenbach J., Jetten M.S.M., Strous M. Nitrite-driven anaerobic methane oxidation by oxygenic bacteria // *Nature.* 2010. 464(7288): 543-548.

[Fuganti et al., 1974](#) – Fuganti C., Ghiringhelli D., Giangrasso D., Grasselli P. Stereochemical course of the enzymic synthesis of L-tyrosine from phenol and L-serine catalysed by tyrosine phenol lyase from *Escherichia intermedia* // *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* 1974. 18: 726-727.

[Gleason, 2007](#) – Gleason W. An Introduction to Phosphorus: History, Production, and Application // *JOM.* 2007. 59(6): 17-19.

[Hofrichter, Ullrich, 2014](#) – Hofrichter M., Ullrich R. Oxidations catalyzed by fungal peroxygenases // *Current Opinion in Chemical Biology.* 2014. 19: 116-125.

[Jastrzębowska et al., 2015](#) – Jastrzębowska K., Gabriel I. Inhibitors of amino acids biosynthesis as antifungal agents. *Amino Acids.* 2015. 47(2): 227-49.

[Klein et al., 2019](#) – Klein F., Grozeva N.G., Seewald J.S. Abiotic methane synthesis and serpentinization in olivine-hosted fluid inclusions // *PNAS.* 2019. 116(36): 17666-17672.

[Meckenstock et al., 2015](#) – Meckenstock R.U., Elsner M., Griebler C., Lueders T., Stumpp C., Aamand J., Agathos S.N., Albrechtsen H.-J., Bastiaens L., Bjerg P.L., Boon N., Dejonghe W., Huang W.E., Schmidt S.I., Smolders E., Sørensen S.R., Springael D., van Breukelen B.M. Biodegradation: Updating the Concepts of Control for Microbial Cleanup in Contaminated Aquifers // *Environ. Sci. Technol.* 2015. 49(12): 7073-7081.

[Ro et al., 1997](#) – Ro Y.T., Eom C.Y., Song T., Cho J.W., Kim Y.M. Dihydroxyacetone Synthase from a Methanol-Utilizing Carboxydobacterium, *Acinetobacter* sp. Strain JC1 DSM 3803 // *J. Bacteriol.* 1997. 179(19): 6041-6047.

[Skaugen et al., 1994](#) – Skaugen M., Nissen-Meyer J., Jung G., Stevanovic S., Sletten K., Inger C., Abildgaard M., Nes I.F. In Vivo Conversion of L-Serine to D-Alanine in a Ribosomally Synthesized Polypeptide // *J. Biol. Chem.* 1994. 269(44): 27183-27185.

[Stover et al., 1992](#) – Stover P., Zamora M., Shostak K., Gautam-Basak M., Schirch V. *Escherichia coli* Serine Hydroxymethyltransferase. The role of histidine 228 in determining reaction specificity // *J. Biol. Chem.* 1992. 267(25): 17679-11687.

## References

[Asojo et al., 2014](#) – Asojo O.A., Nelson S.K., Mootien S., Lee Y., Rezende W.C., Hyman D.A., Matsumoto M.M., S. Reiling, Kelleher A., Ledizet M., Koskib R.A., Anthony K.G. (2014). Structural and biochemical analyses of alanine racemase from the multidrug-resistant *Clostridium difficile* strain 630. *Acta Cryst.* 70(7): 1922-1933.

[Barber, 1996](#) – Barber J.C. (1996). Processes for the disposal and recovery of phosphy water. Patent USA US5549878.



- [Busch et al., 2016](#) – Busch F., Rajendran Ch., Heyn K., Schlee S., Merkl R., Sterne R. (2016). Ancestral Tryptophan Synthase Reveals Functional Sophistication of Primordial Enzyme Complexes. *Cell Chemical Biology*. 23(6): 709-715.
- [Chung et al., 2015](#) – Chung S.T., Chacko Sh.K., Sunehag A.L., Haymond M.W. (2015). Measurements of Gluconeogenesis and Glycogenolysis: A Methodological Review. *Diabetes*. 64(12): 3996-4010.
- [Davis, 2002](#) – Davis K.G. (2002). Acute Management of White Phosphorus Burn. *Military medicine*. 167(1): 83-84.
- [Duerksen-Hughes et al., 1997](#) – Duerksen-Hughes P., Richter P., Ingerman L., Ruoff I., Thampi S., Donkin S. (1997). Toxicological profile for white phosphorus. U.S. Department of health and human services. USA. 248 p.
- [Ettwig et al., 2010](#) – Ettwig K.F., Butler M.K., Le Paslier D., Pelletier E., Mangenot S., Kuypers M.M.M., Schreiber F., Dutilh B.E., Zedelius J., de Beer D., Gloerich J., Wessels H.J.C.T., van Alen Th., Luesken F., Wu M.L., van de Pas-Schoonen K.T., Op den Camp H.J.M., Janssen-Megens E.M., Francoijs K.-J., Stunnenberg H., Weissenbach J., Jetten M.S.M., Strous M. (2010). Nitrite-driven anaerobic methane oxidation by oxygenic bacteria. *Nature*. 464(7288): 543-548.
- [Fuganti et al., 1974](#) – Fuganti C., Ghiringhelli D., Giangrasso D., Grasselli P. (1974). Stereochemical course of the enzymic synthesis of L-tyrosine from phenol and L-serine catalysed by tyrosine phenol lyase from *Escherichia intermedia*. *J. Chem. Soc., Chem. Commun*, 18: 726-727.
- [Gleason, 2007](#) – Gleason W. (2007). An Introduction to Phosphorus: History, Production, and Application. *JOM*. 59(6): 17-19.
- [Hofrichter, Ullrich, 2014](#) – Hofrichter M., Ullrich R. (2014). Oxidations catalyzed by fungal peroxygenases. *Current Opinion in Chemical Biology*. 19: 116-125.
- [Jastrzębowska et al., 2015](#) – Jastrzębowska K., Gabriel I. (2015). Inhibitors of amino acids biosynthesis as antifungal agents. *Amino Acids*. 47(2): 227-249.
- [Kasatkin et al., 2017](#) – Kasatkin A.V., N.M. Vatutin, Koltunov V.V., Malinin S.E. (2017). Osobennosti fosforosoderzhashchikh boepripasov spetsial'nogo naznacheniya i metody ikh utilizatsii [Features of phosphorus-containing ammunition for special purposes and methods for their utilization]. *Vestnik tekhnologicheskogo universiteta*. 220(5): 39-43. [in Russian]
- [Klein et al., 2019](#) – Klein F., Grozeva N.G., Seewald J.S. (2019). Abiotic methane synthesis and serpentinization in olivine-hosted fluid inclusions. *PNAS*. 116(36): 17666-17672.
- [Meckenstock et al., 2015](#) – Meckenstock R.U., Elsner M., Griebler C., Lueders T., Stumpp C., Aamand J., Agathos S.N., Albrechtsen H.-J., Bastiaens L., Bjerg P.L., Boon N., Dejonghe W., Huang W.E., Schmidt S.I., Smolders E., Sørensen S.R., Springael D., van Breukelen B.M. (2015). Biodegradation: Updating the Concepts of Control for Microbial Cleanup in Contaminated Aquifers. *Environ. Sci. Technol*. 49(12): 7073-7081.
- [Mindubaev et al., 2009](#) – Mindubaev A.Z., Minzanova S.T., Skvortsov E.V., Mironov V.F., Zobov V.V., Ahmadullina F.J., Mironova L.G., Belostotsky D.E., Konovalov A.I. (2009). Stimuliruyushchee vliyanie sukhoi fitomassy amaranta *Amaranthus cruentus* na biometanogenez v trudnofermentiruemykh substratakh [Stimulating influence of dry phytomass of amaranth *Amaranthus cruentus* on biomethanogenesis in poorly fermentable substrata]. *Vestnik Kazanskogo tekhnologicheskogo universiteta*. 4: 220-226. [in Russian]
- [Mindubaev et al., 2011](#) – Mindubaev A.Z., Akosah Y.A., Alimova F.K., Afordoanyi D.M., Kagirov R.M., Minzanova S.T., Mironova L.G., Yakhvarov D.G. (2011). O razlozhenii belogo fosfora osadkom stochnykh vod [On the white phosphorus degradation by wastewater mud]. *Uchen.zap. Kazan. un-ta. Ser. Estestv. Nauki*. 153(2): 110-119. [in Russian]
- [Mindubaev et al., 2014](#) – Mindubaev A.Z., Voloshina A.D., Gorbachuk E.V., Kulik N.V., Ahossiyenagbe S.C., Alimova F.K., Minzanova S.T., Mironova L.G., Pankova A.V., Bolormaa C., Saparmyradov K.A., Yakhvarov D.G. (2014). Belyi fosfor kak novyi ob"ekt biologicheskoi destruktzii [White phosphorus as a new object of biological destruction]. *Butlerovskie soobshcheniya*. 40(12): 1-26. [in Russian]
- [Mindubaev et al., 2017](#) – Mindubaev A.Z., Voloshina A.D., Validov Sh.Z., Yakhvarov D.G. (2017). Biodegradatsiya belogo fosfora [Biodegradation of white phosphorus]. *Priroda*. 5: 29-43. [in Russian]

Ro et al., 1997 – Ro Y.T., Eom C.Y., Song T., Cho J.W., Kim Y.M. (1997). Dihydroxyacetone Synthase from a Methanol-Utilizing Carboxydobacterium, *Acinetobacter* sp. Strain JC1 DSM 3803. *J. Bacteriol.* 179(19): 6041-6047.

Skaugen et al., 1994 – Skaugen M., Nissen-Meyer J., Jung G., Stevanovic S., Sletten K., Inger C., Abildgaard M., Nes I.F. (1994). In Vivo Conversion of L-Serine to D-Alanine in a Ribosomally Synthesized Polypeptide. *J. Biol. Chem.* 269(44): 27183-27185.

Stover et al., 1992 – Stover P., Zamora M., Shostak K., Gautam-Basak M., Schirch V. (1992). *Escherichia coli* Serine Hydroxymethyltransferase. The role of histidine 228 in determining reaction specificity. *J. Biol. Chem.* 267(25): 17679-11687.

## Биодеградация белого фосфора – опасного промышленного загрязнителя

Антон Зуфарович Миндубаев<sup>a, \*</sup>, Александра Дмитриевна Волошина<sup>a</sup>,  
Наталья Владимировна Кулик<sup>a</sup>, Дмитрий Валентинович Рыжиков<sup>a</sup>,  
Татьяна Александровна Барсукова<sup>a</sup>, Йав Абайе Акосах<sup>b</sup>,  
Салима Тахиятулловна Минзанова<sup>a</sup>, Любовь Геннадьевна Миронова<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Институт органической и физической химии им. А.Е. Арбузова ФИЦ КазНЦ РАН, Российская Федерация

<sup>b</sup> ГАОУ ВПО Казанский (Приволжский) федеральный университет, Российская Федерация

**Аннотация.** Впервые показана возможность деградации белого фосфора под действием осадка сточных вод (ОСВ) водоочистных сооружений. Показано, что белый фосфор угнетает рост микроорганизмов не сразу после внесения, а спустя несколько дней или даже недель. Это означает, что токсическим действием обладают промежуточные продукты деградации, накапливающиеся в субстратах. Также по изменению состава выделяющихся газообразных продуктов можно делать вывод о большей устойчивости к белому фосфору эубактерий по сравнению с метаногенами. Получены культуры микроорганизмов, растущих на субстратах с содержанием белого фосфора 0,01 и даже 0,1 %. Метод ГХМС продемонстрировал, что скорость снижения концентрации  $P_4$  в средах обратно пропорциональна продолжительности лаг-фазы роста и активности метаболических процессов микрофлоры. Это указывает на наличие биодеградации белого фосфора. Кроме того, в представленной работе проведен поиск метаболитов белого фосфора, а также впервые составлен предполагаемый путь его метаболизма. Посев устойчивых бактерий на синтетическую среду, содержащую белый фосфор в качестве единственного источника фосфора, продемонстрировал возможность их роста в таких условиях.

**Ключевые слова:** детоксикация, белый фосфор, осадки сточных вод, анаэробные условия, кинетика выделения газа, газовая хроматомасс-спектрометрия, метаболический путь, ядерный магнитный резонанс.

\* Корреспондирующий автор

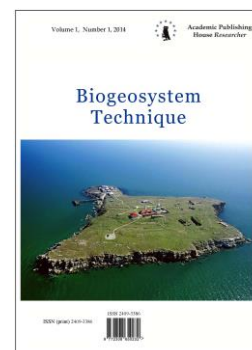
Адреса электронной почты: [mindubaev-az@yandex.ru](mailto:mindubaev-az@yandex.ru) (А.З. Миндубаев)

Copyright © 2019 by Academic Publishing House Researcher s.r.o.



Published in the Slovak Republic  
Biogeosystem Technique  
Has been issued since 2014.  
E-ISSN: 2413-7316  
2019, 6(2): 102-113

DOI: 10.13187/bgt.2019.2.102  
[www.ejournal19.com](http://www.ejournal19.com)



## The Effect of Culture Media Composition and Microorganism Species Affiliation on the Biological Destruction of White Phosphorus

Anton Z. Mindubaev<sup>a,\*</sup>, Edward V. Babynin<sup>b</sup>, Elena K. Badeeva<sup>a</sup>, Salima T. Minzanova<sup>a</sup>,  
Lubov' G. Mironova<sup>a</sup>

<sup>a</sup> A.E. Arbuzov Institute of Organic and Physical Chemistry, FRC Kazan Scientific Center of Russian Academy of Sciences, Russian Federation

<sup>b</sup> Kazan (Volga Region) Federal University, Russian Federation

Paper Review Summary:

Received: 2019, September 14

Received in revised form: 2019, September 18

Acceptance: 2019, September 29

### Abstract

The presented study compared the growth of *Aspergillus niger* strain AM1 in culture media varying in composition but containing P<sub>4</sub> as the sole source of phosphorus. Of the ten media, two in which *Aspergillus* grew the fastest were selected. These media were concluded to be optimal for growth. Comparing the compositions of the media and the growth rate of *Aspergillus* in them, we found a key component that is a favorable factor for the growth of AM1 and the biodegradation of white phosphorus. This component was sodium nitrate (NaNO<sub>3</sub>). It has also been shown that copper sulphate (CuSO<sub>4</sub>) has no effect on the growth of *Aspergillus* in media with white phosphorus, regardless of the composition of these media. This result is in harmony with our previous findings. Furthermore, in the present work, attempts to increase the concentration of white phosphorus in the culture medium to values above 1 % are described for the first time. For this purpose, we added the following solvents to the culture media: dimethyl sulfoxide (DMSO) and diesel, in which white phosphorus dissolves relatively well. Apparently, the presence of these substances adversely affects the growth of *Aspergillus*. Therefore, the problem of further increasing the concentration of P<sub>4</sub> remains an unanswered.

White phosphorus, reacts with ions of divalent copper even at room temperature. and the Pridham-Gottlieb medium, which we have chosen for our purposes, contains copper sulfate in its composition. The addition of an emulsion of white phosphorus led to the formation of a black precipitate, which is evidence that a chemical reaction took place. Thus, the growth of microorganisms occurred in the presence of not so much white phosphorus as the products of its chemical transformations, and the experiments were not completely clean. Therefore, in the present study, we carried out further modification of the Pridham-Gottlieb nutrient medium, excluding from it not only phosphates as a source of phosphorus, but also copper sulfate. In addition, we compared the white phosphorus resistance of our *A. niger* strains AM1 and AM2, with three strains from the All-Russian Collection of Microorganisms (ARCM) (strains FW-650,

\* Corresponding author

E-mail addresses: [mindubaev-az@yandex.ru](mailto:mindubaev-az@yandex.ru) (A.Z. Mindubaev)

FW-2664 and FW-2731), as well as four different bacterial species. Though highest resistance was observed in strain AM1, the three strains of *A. niger*, sent from ARCM, also showed a higher resistance to white phosphorus than the bacteria. It was shown that exclusion of copper sulfate from the composition of the nutrient medium with white phosphorus does not prevent the growth of fungi. In addition, white phosphorus does not react with the formation of a precipitate and remains for a longer period under these conditions. This fact is a serious argument in favor of biodegradation and has practical applicability in the method of microbial detoxification of white phosphorus. However, a higher resistance of AM1 in comparison to the ARCM strains was only observed in a medium with copper. Apparently, strain AM1 is most resistant to the toxic products from the reaction of white phosphorus with  $\text{Cu}^{2+}$ .

Our previous studies demonstrated for the first time the presence of genotoxic properties in white phosphorus. This in no doubt makes white phosphorus even more dangerous to handle. However, our initial studies were carried out on prokaryotes (*Salmonella typhimurium*). Since the genetic apparatus of prokaryotes is differently arranged than in eukaryotes (including humans), the results of the studies on *Salmonella* is not completely transferable to humans. In addition to the gene mutations studied by the Ames test and the SOS-lux test, which have a common nature in all living organisms, there are genomic rearrangements that should be studied in eukaryotes. For this purpose, an Allium test is used on onion rootlets (*Allium cepa* L.). In this work, we present the first report on the negative effect of white phosphorus on the cell cycle of eukaryotes by the Allium test method. It turned out that white phosphorus, even at very low concentrations of 0.01 %, exponentially increases the number of chromosomal aberrations.

**Keywords:** white phosphorus, *Aspergillus niger*, biodegradation, bacteria, minimal inhibitory concentration, culture media culture mediums, growth factors, Allium test.

## 1. Введение

Защита окружающей среды стала злободневной проблемой (Петросян, Шувалова, 2017). В значительной степени кризис обусловлен накоплением токсичных отходов, устойчивость к которым у биосферы еще не выработалась. Чрезвычайно опасным в обращении отходом является белый фосфор  $\text{P}_4$ . Его токсичность настолько велика, что позволяет относить белый фосфор к веществам первого класса опасности. Тем не менее,  $\text{P}_4$  находит применение. Причина этого – сравнительно низкая цена, доступность и многообразие химических превращений. Таким образом, белый фосфор это узловая точка, связывающая природные месторождения фосфатов и все многообразие фосфорсодержащих продуктов химической промышленности. Следует особо указать на то, что все загрязнения белым и желтым фосфором на территории РФ находятся в бассейне реки Волга – важнейшей водной и транспортной артерии нашей страны, в регионе с самой высокой плотностью населения в России. Соответственно, связанные с загрязнениями экологические риски очень велики. Следует особо подчеркнуть, что среди 56 перечисленных в монографии (Алексеев и др., 2013) токсикантов меньше, чем у белого фосфора, значение ПДК (следовательно, более высокую угрозу для окружающей среды) имеют только бензпирен и тетраэтилсвинец, поэтому рост микроорганизмов в таких условиях представляет собой неординарное биологическое явление.

Большинство химических продуктов, которые принято считать искусственными, постоянно выделяется живыми организмами и циркулирует в биосфере (Миндубаев и др., 2013). Например, стало известно, что диатомовые водоросли *Nitzschia pellucida* выделяют высокотоксичные метаболиты – бромциан и 1,2-дихлорэтан (Vanelislander et al., 2012). В присутствии избытка йодида они синтезируют еще более токсичный лакриматор йодциан. До обнаружения этого факта никто не предполагал существование в природе этих веществ.

О том, насколько легко у микроорганизмов вырабатывается способность к биодegradации, свидетельствует такой пример. Штамм *Pseudomonas putida* СВВ5, получивший неофициальное определение «бактерия кофеман», получен путем селективного выращивания почвенной бактерии на чистом кофеине. В его геноме присутствует «кофеиновый оперон», в ряд стадий разлагающий кофеин до углекислого газа и аммиака. Кофеин является для штамма единственным источником углерода и азота. Эта высокоспециализированная бактерия находит практическое применение в качестве биологического сенсора кофеина, а также для декофеинизации напитков. Выведен этот



уникальный микроорганизм был в результате направленной селекции (несколько последовательных пересевов в среду, содержащую кофеин в качестве единственного источника азота и углерода). Исходная культура была получена из почвы клумбы студенческого городка, на которую регулярно выливали остатки кофе (Summers et al., 2013; Yu et al., 2009).

Выполненная нашим коллективом работа является первым задокументированным примером усвоения искусственного ксенобиотика белого фосфора биосферой (Миндубаев и др., 2018a, b). В данной статье представлено дальнейшее развитие исследований биодegradации белого фосфора.

## 2. Методология

Пересев культуры *A. niger* AM1 произведен по стандартной схеме, в трех повторах. Через 49 суток во всех повторах колонии были покрыты черной россыпью спор. Это доказывает, что и в среде с белым фосфором аспергилл может сохранять нормальную фертильность. Обращает на себя внимание тот факт, что в одном повторе колония стала развиваться быстрее, чем в других, хотя условия были идентичны. Возможно, это следствие мутации, обеспечившей лучшую приспособленность к экстремальным условиям существования.

Для сравнения устойчивости к белому фосфору нескольких культур черного аспергилла, применялся наш штамм *Aspergillus niger* AM1, а также три штамма из Всероссийской коллекции микроорганизмов при ИБФМ им. Г.К. Скрыбина: FW-650, FW-2664 и FW-2731, выделенные из арктических вечномерзлых грунтов (Таглу (Канада), многолетнемерзлые отложения, возраст – 170 лет, глубина 20,50-20,55 м; Камчатка (Россия), пепел вулканический мерзлый, глубина 1,8-1,85 м; Камчатка (Россия), мерзлота, вулканический пепел, глубина 14,5 м соответственно). Культуры высевались в планшеты Corning, скорость роста оценивалась микропланшетным ридером Infinite F200 Pro, Tecan (Австрия) по интенсивности поглощения света  $\lambda$  550 нм. Максимальная концентрация белого фосфора достигала 1 %. Для сравнения высевались культуры бактерий *Achromobacter xylosoxidans*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus firmus* и *Salmonella typhimurium*. Целью данных исследований являлось обнаружение минимальной ингибирующей концентрации (МИК) белого фосфора для перечисленных микроорганизмов.

В представленной работе сравнивался рост аспергилла AM1 в культуральных средах, различающихся по составу, но в качестве источника фосфора содержащих белый фосфор. Из десяти сред были выбраны две, в которых аспергилл рос наиболее быстро. Эти среды решено считать оптимальными для роста. Сравнивая составы сред и скорость роста в них аспергилла, мы нашли важнейший компонент, который является благоприятным фактором для роста AM1 и биодegradации белого фосфора. Этим компонентом оказался нитрат натрия  $\text{NaNO}_3$ . Использование планшетов и планшетного ридера позволило нам производить параллельные посевы разных штаммов и сравнивать скорость их роста в средах, различающихся по составу, и с различными концентрациями белого фосфора. Мы впервые провели параллельные посевы культур аспергиллов в культуральные среды нескольких составов, приведенных в Таблице 1.

МОПС (3-(N-морфолино)пропансульфоновая кислота), применяемая для создания буферных растворов в биохимии.

Культуры высевались в планшеты Corning, скорость роста оценивалась микропланшетным ридером Infinite F200 Pro, Tecan (Австрия) по интенсивности поглощения света  $\lambda$  550 нм. После посева замеряется оптическая плотность в каждой лунке (всего в планшете их 96) при помощи специального спектрофотометра – планшетного ридера. Дно планшета оптическое.

**Таблица 1.** Состав культуральных сред, примененных в исследовании

Соль	№1	№2	№3	№4	№5	№6	№7	№8	№9	№10
NaCl	5	2,5	2,5		2,5	2,5	2,5	2,5		2,5
NaNO <sub>3</sub>			4	4					4	
MgSO <sub>4</sub>	0,2	0,5	1	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
FeSO <sub>4</sub>						0,01		0,01		
CaCl <sub>2</sub>	0,1			0,01						
FeCl <sub>3</sub>				0,01						
KCl		0,5		0,1		0,29	0,5	0,5	0,5	
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>			1		5	5				
МОПС	8,4									
KOH	1,1									
NH <sub>4</sub> Cl	1,1	1,1								
KNO <sub>3</sub>										2

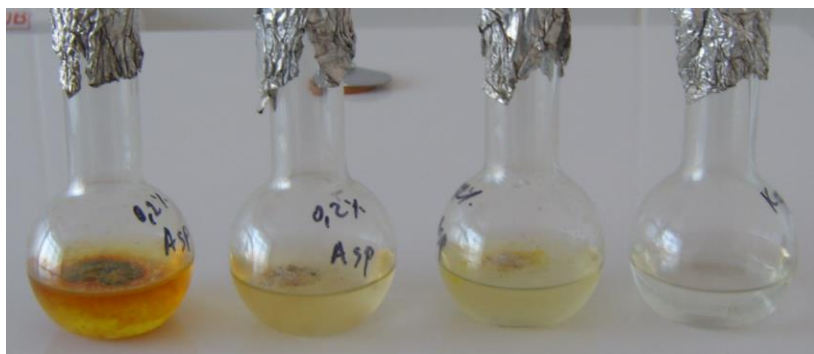
До сих пор максимальная концентрация белого фосфора в культуральных средах составляла 1 %. Поскольку минимальная ингибирующая концентрация данного вещества для аспергиллов не найдена, есть основания полагать, что аспергиллы могут расти в средах с концентрацией P<sub>4</sub> более 1 %. Это имеет важное практическое значение, поскольку расширяет возможности создаваемого метода. Мы делали попытки увеличивать концентрацию белого фосфора в среде до значений выше 1 %. Для этого мы добавляли в среды органические растворители – диметилсульфоксид (ДМСО) и дизельное топливо (жидкая смесь углеводородов C<sub>10</sub>-C<sub>40</sub>). Известно, что растворимость белого фосфора в органических растворителях на порядки превосходит таковую в воде. Растворимость в воде составляет 0,0003 % при 15 °С. Именно по этой причине белый фосфор в культуральной среде находится в состоянии эмульсии, а не раствора. Растворимость в ДМСО составляет при 20 °С примерно 0,025 %, т.е. выше, чем в воде приблизительно на два порядка (Dautert et al., 1975). Растворимость белого фосфора в соляровом масле при 20 °С еще выше и составляет 12 г/л, или 1,2 % (Rivera et al., 1996). Поэтому, возникла идея увеличивать концентрацию белого фосфора в средах путем добавления в них растворителей.

Наши предыдущие исследования впервые продемонстрировали наличие у белого фосфора генотоксических свойств (Миндубаев и др., 2017а). Это, без сомнения, делает белый фосфор еще более опасным в обращении веществом. Тем не менее, наши первые исследования проводились на прокариотах – бактериях *Salmonella typhimurium*. Поскольку генетический аппарат прокариот устроен иначе, чем у эукариот (включая человека), то результаты исследований на сальмонеллах нельзя полностью переносить на человека. Помимо генных мутаций, исследуемых тестом Эймса и SOS-lux тестом, и имеющих общую природу у всех живых организмов, существуют геномные перестройки, которые следует изучать на эукариотах. Для этой цели подходит Allium тест на корешках лука репчатого (*Allium cepa* L.).

### 3. Результаты и обсуждение

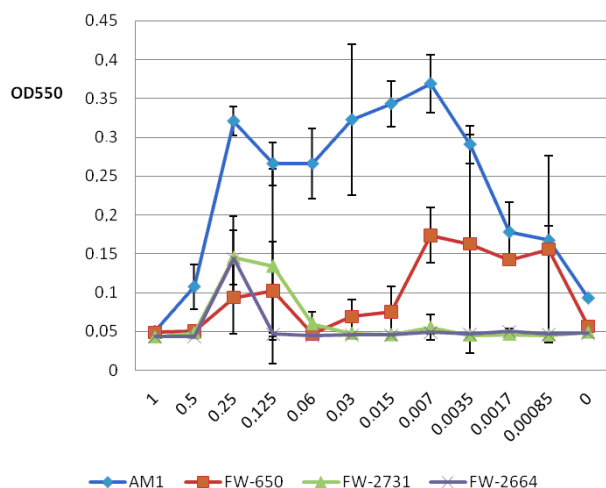
#### 3.1. Адаптация гриба аспергилла к белому фосфору

Большие перспективы открывает спонтанное появление в среде с белым фосфором культуры *A. niger* AM1 с измененной морфологией и окраской, растущей в среде с исследуемым ксенобиотиком более быстро, чем исходный штамм (Рисунок 1). Возможно, это результат мутации и дальнейший этап адаптации микроорганизма к среде, содержащей белый фосфор. Через 55 суток после посева лидирующая культура стала вырабатывать пигмент и приобретать более насыщенную желтую окраску (Миндубаев и др., 2017б). Колонии в остальных двух повторах растут медленнее и имеют гораздо более светлую окраску. Через 59 суток окраска лидирующей колонии была визуальным образом охарактеризована как темно-оранжевая. Окрасилась не только колония, но и культуральная среда, т.е. пигмент хорошо растворим в воде.



**Рис. 1.** Второй посев *A. niger* AM1. Крайняя справа колба – стерильная среда. Крайняя слева – культура аспергилла, отличающаяся от прочих усиленным ростом. Обращает на себя внимание необычно яркая окраска этой культуры. Две колбы в центре – остальные повторы посева, растущие медленнее. Снимок сделан через 60 суток после посева

Через 180 суток произвели пересев мутантного *A. niger* AM1. Через две недели колония созрела. Культура, судя по виду и окраске спор, безусловно, является черным аспергиллом, но морфология колонии необычная. Воздушный мицелий низкий, споры формируются почти на поверхности среды. В первые двое суток культура отличалась от предковой выделением в среду желтого пигмента, но после созревания спор приобретала аналогичную черную окраску и становилась неотличимой. Это является еще одним свидетельством того, что в культуре произошла мутация. Детальное изучение морфологии этого аспергилла продемонстрировало его сходство с предковым AM1. А судя по тому, что измененный гриб эффективнее набирал биомассу в среде с белым фосфором, эта мутация повышает его приспособленность к существованию в данной среде. Было принято решение назвать этот штамм *A. niger* AM2.



**Рис. 2.** Сравнение роста четырех штаммов *A. niger* в присутствии белого фосфора. На оси абсцисс указаны концентрации P<sub>4</sub> в %, на оси ординат оптическое поглощение при λ 550 нм. Заметно, что штамм AM1 намного более устойчив к белому фосфору по сравнению со штаммами из ВКМ

### 3.2. Минимальные ингибирующие концентрации белого фосфора

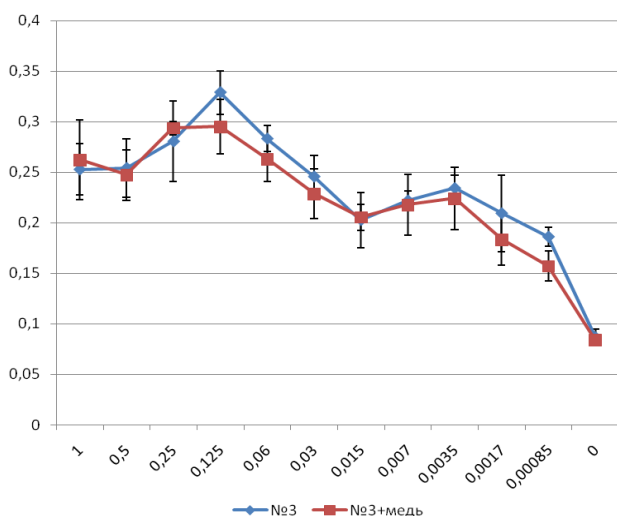
Выяснилось, что все четыре штамма *A. niger* выдерживают концентрацию белого фосфора 1 %. МИК для них так и не была найдена. По-видимому, высокая устойчивость к белому фосфору – признак, характеризующий все черные аспергиллы, или большинство из них. Тем не менее, в широком диапазоне концентраций штамм AM1, споры которого были изначально выделены из реактива белого фосфора, рос быстрее, т.е. оказался намного более устойчивым (Рисунок 2). Для бактерий МИК была найдена и составила для *A. xylosoxidans* 0,125 %, *B. firmus* 0,25 %, *Pseudomonas aeruginosa* и *S. typhimurium* 0,5 %. Из этого следует

вывод, что черные аспергиллы более устойчивы к белому фосфору по сравнению с бактериями.

### 3.3. Оптимизация состава культуральных сред

Одними из наиболее оптимальных для роста являются среды №3 и №4. В обеих средах присутствует нитрат натрия. Наименее благоприятной является среда №5, которая отличается от среды №3 отсутствием  $\text{NaNO}_3$ , заменой его сульфатом аммония (аммонийная форма азота). Из этого результата можно сделать вывод о том, что *A. niger* AM1 предпочитает нитратный азот аммонийному, и что нитрат является важным фактором, благоприятствующим росту данного микроорганизма и биодegradации белого фосфора.

Следует подчеркнуть, что добавление в культуральную среду сульфата меди практически не влияет на характер роста грибов (Рисунок 3). Этот факт является дополнительным аргументом в пользу того, что имеет место биодegradация белого фосфора, а не химическая нейтрализация ионами меди.



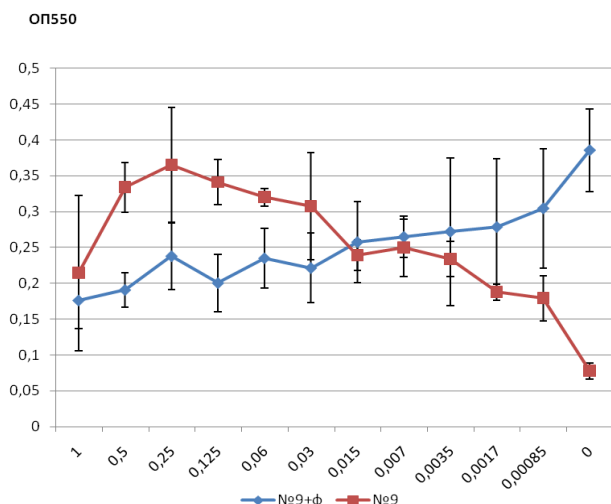
**Рис. 3.** Рост AM1 в среде №3 (пятые сутки после посева). Видно, что рост в варианте среды с медью и без меди практически одинаковый – графики накладываются друг на друга. Ось абсцисс – концентрация белого фосфора, %. Ось ординат – оптическое поглощение при  $\lambda$  550 нм

В средах №7 и №8 рост практически отсутствовал, что подтвердило значение нитратов для роста аспергиллов.

На рисунке 4 представлен рост культур в среде №9 с белым фосфором в присутствии и в отсутствие фосфатов. Видно, что оптимальными концентрациями белого фосфора на среде без фосфатов является 0,125-0,5 %. При снижении концентрации белого фосфора плотность культуры снижается. Это связано с растущей нехваткой биогенного элемента фосфора. При концентрации белого фосфора 1 % рост культуры также подавляется, что связано уже с токсичностью белого фосфора. Интересно, что в среде с фосфатами белый фосфор подавляет рост и при 0,125-0,5 %. Данный результат может свидетельствовать о том, что фосфатное голодание, вероятно, индуцирует синтез ферментов, способствующих разложению белого фосфора. Подобная индукция широко распространена в природе и хорошо изучена на примере лактозного оперона бактерий (Marbach, Bettenbrock, 2012).

Наиболее подходящей средой оказалась среда №10, включающая в свой состав три основных соединения:  $\text{NaCl}$ ,  $\text{KNO}_3$  и  $\text{MgSO}_4$ . Остальные микроэлементы поступают в среду, вероятно, с раствором глюкозы, которая используется в качестве источника углерода (Миндубаев и др., 2019а).





**Рис. 4.** Рост штамма *Aspergillus niger* AM1 при разных концентрациях белого фосфора в среде №9 с фосфатами и без, на 5 сутки. По оси X отложен % белого фосфора в среде

#### 3.4. Поиск путей эффективного растворения белого фосфора в культуральных средах

Без источников фосфора и в присутствии ДМСО рост отсутствует. Это легко объясняется отсутствием биогенного фосфата в среде. При добавлении глюкозы, но без фосфора – рост наблюдается с уменьшением концентрации ДМСО. Возможно, глюкоза содержит примесь фосфата. Но ДМСО подавляет рост. Этот растворитель малотоксичен, но его смеси с водой обладают высокой осмотической активностью, т.е. в средах с ДМСО микроорганизмы испытывают дефицит влаги. В среде с фосфатом, но без глюкозы, наблюдается несколько больший рост на ДМСО. Возможно, в отсутствие глюкозы включается система использования ДМСО в качестве источника углерода (Kino et al., 2004). Тем не менее, на ДМСО аспергилл растет намного медленнее, чем на глюкозе, поэтому для биодegradации белого фосфора среда такого состава не подходит. Поскольку мы планируем использовать в опытах сочетание ДМСО с глюкозой без фосфата, то это дает возможную концентрацию ДМСО около 1%. Это слишком низкие значения для достижения высоких концентраций фосфора. Поэтому, растворение белого фосфора в ДМСО не приведет к росту эффективности биодegradации.

Другим потенциальным растворителем для белого фосфора является дизельное топливо. К сожалению, в наших исследованиях не наблюдался рост *A. niger* AM1 в среде с дизтопливом в качестве источника углерода, хотя в контроле (с глюкозой) гриб растет. Таким образом, вопрос об увеличении концентрации белого фосфора в средах выше 1% остается открытым.

#### 3.5. Генотоксичность и фитотоксичность белого фосфора

В представленной работе мы впервые исследовали негативное влияние белого фосфора на клеточный цикл эукариот методом Allium теста. Оказалось, что белый фосфор даже в очень низких концентрациях, около 0,01%, оказывает фитотоксическое действие и на порядок увеличивает количество хромосомных aberrаций (Миндубаев и др., 2019b) (Рисунок 5).



**Рис. 5.** Наглядная демонстрация фитотоксичности белого фосфора: в его присутствии (левая луковица) корешки достоверно отстают в росте по сравнению с контролем (правая луковица). Концентрация  $P_4$  в опыте 0,016 %. Снимок сделан через 2 суток после начала проращивания

#### 4. Заключение

Исследование показало, что все изучаемые нами штаммы черного аспергилла (*A. niger*) обладают устойчивостью к белому фосфору. Минимальная ингибирующая концентрация для них не найдена. Поэтому, вполне закономерно, что именно споры черного аспергилла сохранили жизнеспособность в белом фосфоре, из которого впервые были выделены. Тем не менее, штамм *A. niger* AM1, выделенный из реактива белого фосфора, проявляет заметно большую устойчивость к данному веществу, по сравнению с штаммами из арктических вечномёрзлых грунтов. В отличие от грибов, представители четырех родов бактерий угнетаются белым фосфором, МИК составляет для них величины от 0,125 % до 0,5 %. Результат обладает новизной и интересен. Из него следует вывод о наличии у черных аспергиллов защитных механизмов, позволяющих им быть устойчивыми к токсичному загрязнителю окружающей среды белому фосфору. Эти механизмы отсутствуют у бактерий и наиболее выражены у штамма *A. niger* AM1. Есть предположение, что этот механизм устойчивости связан с морфологией грибов, в первую очередь со строением клеточной стенки. Дальнейшие исследования, связанные с оптической и электронной микроскопией, должны подтвердить или опровергнуть данное предположение.

Сравнение роста *A. niger* AM1 в культуральных средах 19 различных составов показало следующее. Сульфат меди практически не оказывает влияние на рост аспергилла в средах с белым фосфором. Соответственно, выдвигаемая гипотеза о чисто химическом обезвреживании белого фосфора, без привлечения биологического объекта – микроорганизма и его ферментных систем – не подтверждается.

Наилучший рост наблюдается в средах №3, №4 и №10. Эти среды объединяет присутствие в их составе нитрата натрия в качестве источника азота. Соответственно, можно делать вывод о том, что нитрат является важным ростовым фактором для *A. niger* AM1, и рекомендовать для его промышленного культивирования среды, содержащие нитраты. Замена нитратного азота аммонийным (сульфат аммония) даже в равной доле не приводит к усилению роста нашего штамма. В меньшей степени, но также важным фактором роста является железо, причем как в трехвалентном состоянии (в виде хлорида железа), так и в двухвалентном (сульфат железа).

К сожалению, попытки увеличить концентрацию белого фосфора в средах путем добавления биосовместимых органических растворителей (таких, как ДМСО), на которые мы возлагали большие надежды, до сих пор не привели к успеху. Тем не менее, прекращать

попытки еще рано. Другой возможный вариант увеличения концентрации белого фосфора в среде – приготовление 2% эмульсии фосфора не в физиологическом растворе, а непосредственно в среде.

Механизм генотоксического действия, вероятно, основан на высокой реакционной способности  $P_4$ . Вполне возможно, что и обнаруженная в наших исследованиях генотоксичность белого фосфора обусловлена образованием реакционноспособных метаболитов, образующих аддукты с азотистыми основаниями ДНК.

## 5. Благодарности

Эта работа была выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований, проект 15-29-02629 офи\_м и Фонда содействия инновациям, проект № С1-34299.

## Литература

[Алексеев и др., 2013](#) – Алексеев В.А., Бузмаков С.А., Панин М.С. Геохимия окружающей среды. Пермь: Издательство Пермского государственного национального исследовательского университета. 2013. 359 с.

[Миндубаев и др., 2013](#) – Миндубаев А.З., Яхваров Д.Г. Биодegradация как метод переработки отходов. Часть 2. Взгляд на проблему. Являются ли ксенобиотики ксенобиотиками? // *Бутлеровские сообщения*. 2013. 34(4): 1-20.

[Миндубаев и др., 2017a](#) – Миндубаев А.З., Волошина А.Д., Бабынин Э.В., Валидов Ш.З., Сапармырадов К.А., Хаяров Х.Р., Бадеева Е.К., Барсукова Т.А., Минзанова С.Т., Миронова Л.Г., Акосах Й.А., Яхваров Д.Г. Обезвреживание белого фосфора посредством микробиологического разложения // *Бутлеровские сообщения*. 2017. 52(12): 87-118.

[Миндубаев и др., 2017b](#) – Миндубаев А.З., Волошина А.Д., Хаяров Х.Р., Сахапов И.Ф., Бадеева Е.К., Стробыкина А.С., Валидов Ш.З., Бабаев В.М., Минзанова С.Т., Миронова Л.Г., Акосах Й.А., Яхваров Д.Г. Динамика превращений белого фосфора культурой черного аспергилла // *Бутлеровские сообщения*. 2017. 51(8): 1-26.

[Миндубаев и др., 2018a](#) – Миндубаев А.З., Акосах Й.А., Яхваров Д.Г. Фосфиноксид как предполагаемый интермедиат биологических процессов // *Бутлеровские сообщения*. 2018. 53(3): 1-34.

[Миндубаев и др., 2018b](#) – Миндубаев А.З., Волошина А.Д., Бабынин Э.В., Бадеева Е.К., Хаяров Х.Р., Минзанова С.Т., Яхваров Д.Г. Микробиологическая деградация белого фосфора // *Экология и промышленность России*. 2018. 22(1): 33-37.

[Миндубаев и др., 2019a](#) – Миндубаев А.З., Бабынин Э.В., Бадеева Е.К., Минзанова С.Т., Миронова Л.Г., Акосах Й.А. Влияние состава культуральных сред на биодegradацию белого фосфора грибами *Aspergillus niger* // *Бутлеровские сообщения*. 2019. 58(5): 1-23.

[Миндубаев и др., 2019b](#) – Миндубаев А.З., Бабынин Э.В., Бадеева Е.К., Пискунов Д.Б., Махиянов А.Н., Минзанова С.Т., Миронова Л.Г., Волошина А.Д. Генотоксичность и цитогенетическое действие белого фосфора // *Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология*. 2019. 9(1): 81-94.

[Петросян, Шувалова, 2017](#) – Петросян В.С., Шувалова Е.А. Химия и токсикология окружающей среды. М.: ООО "Буки Веди". 2017. 640 с.

[Dautert et al., 1975](#) – Dautert H., Schaffrath W., Scheler H. Die Löslichkeit von farblosem Phosphor in ausgewählten organischen Lösungsmitteln [1] // *Zeitschrift für Chemie*. 1975. 15(9): 368-369.

[Kino et al., 2004](#) – Kino K., Murakami-Nitta T., Oishi M., Ishiguro S., Kirimura K. Isolation of Dimethyl Sulfone-Degrading Microorganisms and Application to Odorless Degradation of Dimethyl Sulfoxide // *Journal Of Bioscience And Bioengineering*. 2004. 97(1): 82-84.

[Marbach, Bettenbrock, 2012](#) – Marbach A., Bettenbrock K. Lac operon induction in *Escherichia coli*: Systematic comparison of IPTG and TMG induction and influence of the transacetylase LacA // *Journal of Biotechnology*. 2012. 157(1): 82-88.

[Rivera et al., 1996](#) – Rivera Y.B., Olin T., Bricks R.M. Summary and Evaluation for White Phosphorus. A Literature Remediation: Review / US Army Corps of Engineers Waterways Experiment Station. Technical Report IRRP-96-7. 1996. 61 p.

[Summers et al., 2013](#) – *Summers R.M., Seffernick J.L., Quandt E.M., Yu Ch.L., Barrick J.E., Subramanian M.V.* Caffeine Junkie: an Unprecedented Glutathione S-Transferase-Dependent Oxygenase Required for Caffeine Degradation by *Pseudomonas putida* CBB5 // *J. Bacteriol.* 2013. 195(17): 3933-3939.

[Vanelslander et al., 2012](#) – *Vanelslander B., Paul C., Grueneberg J., Prince E.K., Gillard J., Sabbe K., Pohnert G., Vyverman W.* Daily bursts of biogenic cyanogen bromide (BrCN) control biofilm formation around a marine benthic diatom // *PNAS.* 2012. 109(7): 2412-2417.

[Yu et al., 2009](#) – *Yu Ch.L., Louie T.M., Summers R., Kale Y., Gopishetty S., Subramanian M.* Two Distinct Pathways for Metabolism of Theophylline and Caffeine Are Coexpressed in *Pseudomonas putida* CBB5 // *J. Bacteriol.* 2009. 191(14): 4624-4632.

## References

[Alekseenko et al., 2013](#) – *Alekseenko V.A., Buzmakov S.A., Panin M.S.* (2013). Geokhimiya okruzhayushchei sredy [Geochemistry of the environment]. Perm': Izdatel'stvo Permskogo gosudarstvennogo natsional'nogo issledovatel'skogo universiteta. 359 p. [in Russian]

[Mindubaev et al., 2013](#) – *Mindubaev A.Z., Yakhvarov D.G.* (2013). Biodegradatsiya kak metod pererabotki otkhodov. Chast' 2. Vzglyad na problemu. Yavlyayutsya li ksenobiotiki ksenobiotikami? [Biodegradation as a method for waste processing: view on the problem. Part 2. Are xenobiotics really xenobiotics?]. *Butlerovskie soobshcheniya.* 34(4): 1-20. [in Russian]

[Mindubaev et al., 2017a](#) – *Mindubaev A.Z., Voloshina A.D., Babynin E.V., Validov Sh.Z., Saparmyradov K.A., Khayarov Kh.R., Badeeva E.K., Minzanova S.T., Mironova L.G., Akosah Y.A., Yakhvarov D.G.* (2017). Obezvrezhivanie belogo fosfora posredstvom mikrobiologicheskogo razlozheniya [Neutralization of white phosphorus by means of microbiological decomposition]. *Butlerovskie soobshcheniya.* 52(12): 87-118. [in Russian]

[Mindubaev et al., 2017b](#) – *Mindubaev A.Z., Voloshina A.D., Khayarov Kh.R., Sakhapov I.F., Badeeva E.K., Strobykina A.S., Validov Sh.Z., Babaev V.M., Minzanova S.T., Mironova L.G., Akosah Y.A., Yakhvarov D.G.* Dinamika prevrashchenii belogo fosfora kul'turoi chernogo aspergilla [Dynamics of white phosphorus transformation by a culture of black aspergill]. *Butlerovskie soobshcheniya.* 51(8): 1-26. [in Russian]

[Mindubaev et al., 2018a](#) – *Mindubaev A.Z., Akosah Y.A., Yakhvarov D.G.* (2018). Fosfinoksid kak predpolagaemyi intermediat biologicheskikh protsessov [Phosphine oxide as a prospective intermediate of biological processes]. *Butlerovskie soobshcheniya.* 53(3): 1-34. [in Russian]

[Mindubaev et al., 2018b](#) – *Mindubaev A.Z., Voloshina A.D., Babynin E.V., Badeeva E.K., Khayarov Kh.R., Minzanova S.T., Yakhvarov D.G.* (2018). Mikrobiologicheskaya degradatsiya belogo fosfora [Microbiological degradation of white phosphorus]. *Ekologiya i promyshlennost' Rossii.* 22(1): 33-37. [in Russian]

[Mindubaev et al., 2019a](#) – *Mindubaev A.Z., Babynin E.V., Badeeva E.K., Minzanova S.T., Mironova L.G., Akosah Y.A.* (2019). Vliyanie sostava kul'tural'nykh sred na biodegradatsiyu belogo fosfora gribami *Aspergillus niger* [The influence of the culture media composition on the white phosphorus biodegradation by *Aspergillus niger*]. *Butlerovskie soobshcheniya.* 58(5): 1-23. [in Russian]

[Mindubaev et al., 2019b](#) – *Mindubaev A. Z., Babynin E.V., Piskunov D.B., Makhyanov A.N., Badeeva E.K., Minzanova S.T., Mironova L.G., Voloshina A.D.* (2019). Genotoksichnost' i tsitogeneticheskoe deistvie belogo fosfora [Genotoxicity and cytogenetic effect of white phosphorus]. *Izvestiya vuzov. Prikladnaya khimiya i biotekhnologiya.* 9(1): 81-94. [in Russian]

[Petrosyan, Shuvalova et al., 2017](#) – *Petrosyan V.S., Shuvalova E.A.* (2017). Khimiya i toksikologiya okruzhayushchei sredy [Chemistry and toxicology of the environment]. M.: Buki Vedi LLC. 640 p. [in Russian]

[Dautert et al., 1975](#) – *Dautert H., Schaffrath W., Scheler H.* (1975). Die Löslichkeit von farblosem Phosphor in ausgewählten organischen Lösungsmitteln [1] *Zeitschrift für Chemie.* 15(9): 368-369.

[Kino et al., 2004](#) – *Kino K., Murakami-Nitta T., Oishi M., Ishiguro S., Kirimura K.* (2004). Isolation of Dimethyl Sulfone-Degrading Microorganisms and Application to Odorless Degradation of Dimethyl Sulfoxide. *Journal Of Bioscience And Bioengineering.* 97(1): 82-84.



Marbach, Bettenbrock, 2012 – Marbach A., Bettenbrock K. (2012). Lac operon induction in *Escherichia coli*: Systematic comparison of IPTG and TMG induction and influence of the transacetylase LacA. *Journal of Biotechnology*. 157(1): 82-88.

Rivera et al., 1996 – Rivera Y.B., Olin T., Bricks R.M. (1996). Summary and Evaluation for White Phosphorus. A Literature Remediation: Review. US Army Corps of Engineers Waterways Experiment Station. Technical Report IRRP-96-7. 61 p.

Summers et al., 2013 – Summers R.M., Seffernick J.L., Quandt E.M., Yu Ch.L., Barrick J.E., Subramanian M.V. (2013). Caffeine Junkie: an Unprecedented Glutathione S-Transferase-Dependent Oxygenase Required for Caffeine Degradation by *Pseudomonas putida* CBB5. *J. Bacteriol.* 195(17): 3933-3939.

Vanelslander et al., 2012 – Vanelslander B., Paul C., Grueneberg J., Prince E.K., Gillard J., Sabbe K., Pohnert G., Vyverman W. (2012). Daily bursts of biogenic cyanogen bromide (BrCN) control biofilm formation around a marine benthic diatom. *PNAS*. 109(7): 2412-2417.

Yu et al., 2009 – Yu Ch.L., Louie T.M., Summers R., Kale Y., Gopishetty S., Subramanian M. (2009). Two Distinct Pathways for Metabolism of Theophylline and Caffeine Are Coexpressed in *Pseudomonas putida* CBB5. *J. Bacteriol.* 191(14): 4624-4632.

### Влияние на биодegradацию белого фосфора состава культуральных сред и видовой принадлежности микроорганизмов

Антон Зуфарович Миндубаев<sup>a,\*</sup>, Эдуард Викторович Бабынин<sup>b</sup>,  
Елена Казимировна Бадеева<sup>a</sup>, Салима Тахиятулловна Минзанова<sup>a</sup>,  
Любовь Геннадьевна Миронова<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Институт органической и физической химии им. А.Е. Арбузова ФИЦ КазНЦ РАН, Российская Федерация

<sup>b</sup> ГАОУ ВПО Казанский (Приволжский) федеральный университет, Российская Федерация

**Аннотация.** В представленном исследовании сравнивался рост аспергилла AM1 в культуральных средах, различающихся по составу, но в качестве источника фосфора содержащих белый фосфор. Из десяти сред были выбраны три, в которых аспергилл рос наиболее быстро. Эти среды решено считать оптимальными для роста. Сравнивая составы сред и скорость роста в них аспергилла, мы нашли ключевой компонент, который является благоприятным фактором для роста AM1 и биодegradации белого фосфора. Этим компонентом оказался нитрат натрия  $\text{NaNO}_3$ . Также, показано, что сульфат меди  $\text{CuSO}_4$  не оказывает никакого влияния на рост аспергиллов в средах с белым фосфором, независимо от состава этих сред. Данный результат хорошо согласуется с полученными нами ранее. Также, в представленной работе впервые описаны попытки увеличить концентрацию белого фосфора в культуральной среде до значений выше 1%. Для этого мы добавляли в культуральные среды растворители – диметилсульфоксид (ДМСО) и дизельное топливо, в которых белый фосфор сравнительно хорошо растворим. Оказалось, что присутствие этих веществ неблагоприятно сказывается на росте аспергиллов. Поэтому, вопрос о дальнейшем увеличении концентрации  $\text{P}_4$  остается открытым.

Белый фосфор даже при комнатной температуре реагирует с ионами двухвалентной меди, а среда Придхем-Готлиба, которую мы выбрали для наших целей, содержит в своем составе сульфат меди. При добавлении в эту среду эмульсии белого фосфора выпадал осадок черного цвета, т.е. реакция действительно происходила. Таким образом, рост микроорганизмов происходил в присутствии не столько белого фосфора, сколько продуктов его химических превращений, и эксперименты оказывались не вполне чистыми. Поэтому, в представленной работе мы осуществили дальнейшую модификацию питательной среды Придхем-Готлиба, исключив из нее не только фосфаты в качестве источника фосфора, но и сульфат меди. Помимо этого, мы сравнили устойчивость к белому фосфору нашего штамма

\* Корреспондирующий автор

Адреса электронной почты: [mindubaev-az@yandex.ru](mailto:mindubaev-az@yandex.ru) (А.З. Миндубаев)

черного аспергилла AM1 и трех штаммов из Всероссийской коллекции микроорганизмов (ВКМ) (FW-650, FW-2664 и FW-2731), а также четырех видов бактерий. Три штамма *A. niger*, присланные из ВКМ, так же продемонстрировали более высокую устойчивость к белому фосфору, чем бактерии. Но у штамма AM1 она все равно выше. Показано, что исключение из состава питательной среды с белым фосфором сульфата меди не препятствует росту грибов, хотя белый фосфор в этих условиях не вступает в реакцию с образованием осадка и сохраняется более длительное время. Этот факт является серьезным аргументом в пользу биодegradации и практической применимости метода детоксикации белого фосфора микроорганизмами. Тем не менее, более высокая устойчивость AM1 по сравнению со штаммами из ВКМ проявляется в среде с медью. По-видимому, он наиболее устойчив именно к токсичным продуктам реакции белого фосфора с  $Cu^{2+}$ .

Наши предыдущие исследования впервые продемонстрировали наличие у белого фосфора генотоксических свойств. Это, без сомнения, делает белый фосфор еще более опасным в обращении веществом. Тем не менее, наши первые исследования проводились на прокариотах – бактериях *Salmonella typhimurium*. Поскольку генетический аппарат прокариот устроен иначе, чем у эукариот, то результаты исследований на сальмонеллах нельзя полностью переносить на человека. Помимо генных мутаций, исследуемых тестом Эймса и SOS-lux тестом, и имеющих общую природу у всех живых организмов, существуют геномные перестройки, которые следует изучать на эукариотах. Для этой цели подходит Allium тест на корешках лука репчатого (*Allium cepa* L.). В представленной работе мы впервые исследовали негативное влияние белого фосфора на клеточный цикл эукариот методом Allium теста. Оказалось, что белый фосфор даже в очень низких концентрациях, порядка 0.01 %, на порядок увеличивает количество хромосомных aberrаций.

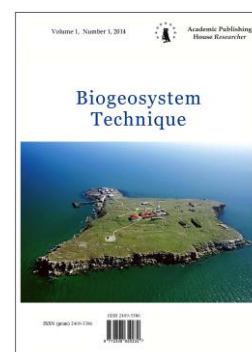
**Ключевые слова:** белый фосфор, *Aspergillus niger*, биодegradация, бактерии, минимальная ингибирующая концентрация, культуральные среды, факторы роста, Allium тест.

Copyright © 2019 by Academic Publishing House Researcher s.r.o.



Published in the Slovak Republic  
Biogeosystem Technique  
Has been issued since 2014.  
E-ISSN: 2413-7316  
2019, 6(2): 114-131

DOI: 10.13187/bgt.2019.2.114  
[www.ejournal19.com](http://www.ejournal19.com)



## Elements in Rye and Wheat at Different Times and Different Places (Review)

Anton O. Nigten <sup>a, \*</sup>

<sup>a</sup> Salt of the Earth, Wageningen, Netherlands

Paper Review Summary:

Received: 2018, November 20

Received in revised form: 2019, December 22

Acceptance: 2019, December 26

### Abstract

Grains constitute an important part of our daily food. And grains are also an important source of our daily magnesium supply. Especially wheat in the western countries. But the amount of magnesium in wheat has gone down dramatically with on average 19,6 %, as the data of Guo have shown. This has among others to do with soils, varieties and fertilizing. In this article the focus is on fertilizing. How can we change fertilizing in order to get better and healthier grains? Here is made a comparison between conventional fertilizing, and fertilizing with extra seaweed and other sea minerals, or with rock flour, or silt. The available data make clear that the type of fertilizer makes a big difference.

The data on Non Protein Nitrogen (NPN) are missing because they are not available in the historical records, nor in most actual analyses. High levels of NPN (a.o. nitrate; ammonium; nitrogen dioxide) are a serious health risk. The grains with conventional fertilizing are no longer in balance. Sodium has gone down dramatically. And from trials with ryegrass we know that extra sodium helps to restore the balance between the macro elements. Calcium in most grains is low, but the balance of Ca/P in the wheat from Normandy is much higher (= better) than in the other grains. And the Ca/P on silted soils is even better than on soils fertilized with seaweed and seaminerals as in Normandy.

Not only the grains and the potatoes from Normandy are more in balance, even the dung of the cows shows a somewhat healthier balance than modern cow dung. But here we can't draw conclusions yet, because the data from different eras and places are not really comparable.

With a good quality of vermicompost the balance in crops can be restored also. But here the rule is that the feeding material for the worms is decisive.

Magnesium is very important for human health. The first Homo's Sapienses are found in areas where the soil is very high in magnesium. This magnesium is erupted there by earth mantle volcanoes. Many important food crops also originated in these magnesium rich centers of origin. But others came from fault lines which originated from colliding earth crust plates which have a granitic origin.

**Keywords:** magnesium, wheat, rye, potatoes, silt, seaweed, fertilizing in other ways, macro elements and their balance, animal dung, centers of origin.

\* Corresponding author

E-mail addresses: [aonigten@hotmail.com](mailto:aonigten@hotmail.com) (A.O. Nigten)

## 1. Introduction

Grains constitute an important part of human nutrition. And there is done a lot of research in order to improve the quality of the grains we use to eat: wheat; rice; oats, rye, maize, sorghum, millet and other.

But most food scientists have in my opinion no idea about the necessity of balances. They look at proteins and vitamins, and warn sometimes against empty foods which lack minerals and trace elements\* (but mostly with a very soft voice...). Only a few scientists like White and Broadley in the UK (White, 2005) and Rosanoff (2013) in the USA look at the amount of magnesium, which has gone down dramatically in our daily food. But even White and his colleagues don't look at the general picture of the minerals and their balance, and the underlying system of fertilizing. And they ignore, or, more probably, don't know about the results of the balance studies, which are done mostly with dairy cattle. And much less for human beings.

Cattle cost money when they become ill. Human beings bring profits for the medical industry if they get ill. That is the reality in which sciences operate. Many scientists are no more independent. Governments in the west push them to get their funding from the industry.

And most food scientists don't know anything about fertilizing.

In the Dutch food supply wheat is the most important source of magnesium. And maybe rye could get a more prominent place also, if its quality goes up. In Wageningen we grow at the moment a special old variety of rye – St Jans Rye. This rye gives a special taste to the bread. In order to get a better idea about the quality, I have collected data about the balances in wheat and rye. For the Netherlands I couldn't find data for the whole grains, only for the breads and flours, brans and germs (see Annex 3).

The data on Non Protein Nitrogen (NPN) are missing because they are not available in the historical records, nor in most actual analyses. High levels of NPN (a.o. nitrate; ammonium; nitrogen dioxide) are a serious health risk (Visser, 2010).

So I used data from other countries and at different times, in order to find out about the different balances which were existing in the past and are existing at the moment in rye and wheat. And which are possible. My conclusion is that by fertilizing with NPK salts and with most animal dung the balance has been distorted and the quality has gone down. And from the past we can learn that a.o. sodium for the graminaceae helps to improve the quality by restoring the balance. Sodium fertilizing is a real art. Too little doesn't work, too much is damaging. The same for seaweed and brine as extra fertilizers.

## 2. Results

### Fertilizing to restore the balance

Recently, the restoration of the balance has been confirmed by fertilizing with sodiumchloride on grassland. Sodium helps to lower the amount of potassium and at the same time to heighten the amount of sodium, calcium and magnesium in the rye grass (Chiy, Phillips, 1995). The role of sodium in plant growth is underestimated. But kitchen salt is not always a good fertilizer for improving quality of soil or food. Many crops don't grow well on NaCl-salt. There are better ways to rebalance our crops. In the books of Marchand I couldn't find data for rye. Maybe in other publications of that era we can still find them (Table 1).

**Table 1.** The data on macro-elements in rye and wheat

Element	Rye				wheat			
	USA (USDA database, 2017)	Poland (Kowieska, 2011)	UK (McCance, 1945)	Western Europe (Wolff, 1871) Ash, %	USA (USDA database, 2017)	Poland (Kowieska, 2011)	UK (McCance, 1945)	Normandy, red wheat (Marchand, 1869) Ash, %
Ca	24	44	31.5	0.39	29	44	27.6	0.99
Mg	110	98.7	92	1.44	126	116.5	141	1.89
P	332	371	359	4.2	288	512	350	2.8
K	510	469	412	5.46	363	268	312	3.13
Na	2	28.1	–	0.27	2	11	3.2	2
Total	978	1010.8	894	–	808	951.5	833	–

\* The work of Shridhar et al is a good example (Shridhar et al., 2015).



From an article in the Journal of the royal agricultural society it is clear that rye was also grown in Normandy (Taunton, 1846).

Now we can calculate the ratios for rye and wheat (Tables 2, 3):

**Table 2.** Ratios in Rye

Ratios	Optimal ratios for human and animal food, feed/day	USDA, 2017	Kowieska, 2011	McCance and Widdowson, 1945	Wolff, 1871
K/Na	1–4	255	16.6	-	20.2
K/Mg	2–5	4.6	4.75	4.47	3.79
Ca/Mg	1–2	0.22	0.44	0.34	0.27
Ca/P	1–2	0.07	0.12	0.09	0.09
Mg/(K+Na+Ca+P)	0.15–0.25 minimum 0.10	0.13	0.11	0.11*	0.14

• USDA rye is almost complete without sodium, and the highest in magnesium and potassium;

• Poland rye is not bad for K/Na, in balance for K/Mg but not for calcium/magnesium and calcium/phosphor. Poland soils are poor in magnesium;

• Poland rye has the highest nutrient density (Wolff excluded);

• Potassium is the highest in the USA rye (Wolff excluded);

• Wolff rye has the highest Mg/(K+Na+Ca+P);

**Table 3.** Ratios in wheat

Ratios	Optimal ratios for human food and animal feed/day	USDA, 2017	Kowieska, 2011	McCance, 1945	Marchand, 1869
K/Na	1–4	181.5	24.4	97.5	1.6
K/Mg	2–5	2.88	2.3	2.2	1.66
Ca/Mg	1–2	0.23	0.2	0.19	0.52
Ca/P	1–2	0.10	0.08	0.08	0.32
Mg/(K+Na+Ca+P)	0.15–0.25 (Minimum 0.10)	0.18	0.14	0.20	0.21

• USDA wheat is almost complete without sodium;

• USDA wheat is the highest in potassium (but sodium can help to bring down potassium in the USA wheat\*);

• UK wheat is the highest in magnesium (Marchand excluded);

• Poland wheat has the highest nutrient density through very high P (Marchand excluded);

• The best wheat, in terms of the balances, was grown in Normandy, France in 1869. The reason: a different kind of fertilizing: guano dung, a good quality cow dung, brine and seaweed etc.

All grains have a low Ca/P ratio, but the least in the wheat from Normandy (Marchand, 1869). So extra calcium in the grains is possible (and necessary). By a better uptake of calcium Ca/Mg becomes also in a better balance.

Many other products in Normandy at that time, 1850–1881, were fairly well balanced: vetch; peas; carrots; milk; potatoes; white and black oats etc. At least compared to most other products in Western Europe in that period. (But not all: in Belgium they grew a nicely balanced white carrot (Wolff, 1871). My impression is that it is not the guano dung but the brine and seaweed which made the difference. Many other crops in Europe in that period were fertilized by guano dung, but without being in balance (Wolff, 1871). Maybe the trace elements plus sodium in brine and seaweed made the difference.

\* Corrected for sodium, which was missing in McCance, 1945.

† In Hindi wheat from Egypt the K/Na was 10.45. This wheat was, according to Schrupf Pierron, “the best wheat of Egypt” (Schrupf Pierron, 1939). Only its calcium was too low.

### Corollary

The quality of grains can be improved by better fertilizing practises. Levels for sodium, calcium and magnesium are part of this improvement. Guano dung is rich in sodium nitrate, and seaweed is rich in sodium, calcium and magnesium and many other elements, including trace elements (see annex 2). The same for brine. I didn't find information about the amounts of brine which were used in Normandy in the 19th century. According to Marchand the brine was also used as a fertilizer in the Norman agriculture.

From field trials in Wales, UK (Chiy, Phillips, 1995) we know that the balance in ryegrass is almost completely restored for potassium, calcium, magnesium and sodium by giving extra salt (optimum at the Wales soil ad 175 kg NaCl/ha) to the grass. The cows are fond of this salted ryegrass. But other grasses like timothy don't take up sodium as in ryegrass (Huhtanen et al., 2000). Many crops don't tolerate NaCl.

But from the trials of Wolff in 1849 and 1850 (cited by Strumpf, 1853: 42–56) we learn that high amounts of kitchen salt\* (with an optimum at 1200 kg/ha) give good results for oats, and for barley. But not for buckwheat.

“Während bei dem Buchweizen schon geringe Mengen ([Kochsalz] schädlich einwirken, können bei Halmfrüchten, bei der Gerste wie bei dem Hafer sehr beträchtliche Mengen nicht allein ohne Nachtheil, sondern sogar mit grossen Nutzen verwendet werden” (Strumpf†, 1853: 50).

Small amounts of kitchen salt were also positive for wheat, but too much of it lowered the yields.

### So how to fertilize?

Here I compare the cow dung from Normandy with the cow dung today in the Netherlands and Belgium (Table 4). Is the cow dung in Normandy (Marchand, 1881), like the crops, also more in balance than the modern Dutch and Belgian cow dung?

**Table 4.** Elements in different cow dungs

G/kg fresh weight (fw) in manure	Norman manure (Marchand, 1881)	Belgian manure (Coppens, 2009)	Dutch manure (average of (Nutrinorm, 2016 and CBGV, 2012)	The average of belgian and dutch manure	The average of dutch slurry
K	3.11	6.7	6.18	6.44	4.8
Na	0.85	0.74	0.77	0.75	0.51
Ca	3.98	3.57	2.84	3.2	2.8
Mg	1.44	1.0	1.89	1.44	0.72
P	0.78	1.72	1.52	1.62	0.6
N <sub>tot</sub>	4	8.5	6.5	7.5	4.1

The cow dung in Normandy was probably influenced by the seaweed and brine fertilization by the Norman farmers, through the fodders the animals ate (Table 5).

**Table 5.** Ratios in different animal dungs

Ratios	Optimal ratio's for human and animal, food/day	Manure from Normandy (1881 or before) (Marchand, 1881)	The average of Belgian and Dutch manure (Nutrinorm) (CBGV) (Coppens, 2009)	Dutch slurry CBGV
K/Na	1–4	3.65	8.58	9.4
K/Mg	2–5	2.15	4.47	6.6
Ca/Mg	1–2	2.76	2.2	3.88
Ca/P	1–2	5.1	1.9	4.6
Mg/(K+Na+Ca+P)	0.15–0.25 Minimum 0.10	0.165	0.12	0.08

\* From the tekst it is not clear if this salt is seasalt or salt from salt mines.

† Strumpf cited the results of Wolff from (Wolff, 1851).

In the Norman cow dung only the Ca/P is too high.

Can we draw further conclusions on the basis of this comparison?

At first sight we can think that the dung from Normandy on average seems better in terms of balances.

But now the complications:

- The dung from Normandy is a “Fumier de qualité moyenne” (Marchand, 1881). Literally, “a dung of average quality”. But is the dung taken from a dung heap in which also straw was added, or is it pure dung? That means urine and shit? Or has part of the urine leaked away into the soil of the stable, or away from the manure heap? I suppose there were no concrete floors or basements. And was it cow dung or mixed dung from different animals? Was it fresh or old?

- And also the modern dung is not defined carefully. Is column 4 in Table 5 ‘shit plus urine plus straw’, or only ‘shit plus urine? And have the samples been taken when the material was fresh or after some months from for instance a manure pile?

- A further complication is that the animals in modern agriculture get a lot of supplements in order to balance the feed: salt; calcium carbonate and magnesiumoxide (and trace elements). We know that part of these supplements go straight into the shit like the magnesiumoxide which is taken up badly by the animals. Some vets say only 4 % is taken up. And also calcium carbonate is only taken up partly. High levels of potassium block the uptake of magnesium and calcium.

- And the dry matter contents of the samples differ;

So in fact conclusions are impossible.

So I decided to compare the Norman dung with the dung from other parts of Europe in the same era: 1850–1880. But Wolff (1871) provides no data on dung. The data in (Strumpf, 1853) are not usable because he gives them as alkalis (potassium and sodium together, and as calcium and magnesium earth (kohlensaurer Kalk und Bittererde) together, plus phosphoric acid – ammonia – magnesiumoxide (phosphorsaurer Ammoniak Bittererde). And also in the Journal of the royal agricultural society of England I couldn't find them.

For the health and the quality the differences in the manures are far-reaching. Already in 1933 Theel noted that potassium, sulphur and chloride had almost doubled in the German hays since 1881 (Theel, 1933). And Arzet demonstrated that in fodder this upward trend for potassium continued, while magnesium went down since 1910 (Arzet, 1972).

So now we have to investigate how we have to fertilize in order to balance the elements in our crops, avoiding the problems of fertilizing with high amounts of NaCl salt, and too much NPK.

Complete seaminerals\* we can use as foliar fertilizer, strongly diluted. So we can avoid adding huge amounts of salt(s) in the soil. And we can also use seaminerals with almost no NaCl. In the Netherlands these sodium poor seasalts are imported a.o. from Australia and the USA.

But that's one step. Schreiner has made clear that plants grow better on organic constituents than on inorganic salts:

*“I am ready to formulate the theory that these degradation products of protein [from plant residuals, N.] are absorbed by the plant directly from the soil and that the plant uses these units for building up the complex proteins as far as it is possible to do so. Nitrate is usually considered as the best form of nitrogen for plant food. In order to use nitrate, a highly oxidized form of nitrogen, to form the amido and imido<sup>†</sup> groups of the protein molecules, a reduction must take place. It is obvious that the plant must expend considerable energy in making this transformation. What is more reasonable than to suppose that the unit parts of the complex protein molecules, when presented to the plant, will be used by it in preference to preparing these units from the nitrate “? (Schreiner, 1913).*

\* Seaminerals are all the minerals and trace elements in seawater. In a good quality seaminerals there are 85 tot 90 elements available. Murray and Don Jansen in the USA have done a lot of research in fertilizing with seaminerals (Murray, 2003). Grains fertilized with seaminerals repressed cancer in cancer-mice for 100 %. (Voss, 2010).

† In organic chemistry, an imide is a functional group consisting of two acyl groups bound to nitrogen. These compounds are structurally related to acid anhydrides, although imides are less reactive (Imides, 2009; Sperry, 2011)

In 1957 Krasil'nikov formulated a comparable view when he stated that all metals are bound to organic compounds by microbes before being taken up by the plant roots\* (Krasil'nikov, 1958, part III, p. 69).

And vermicomposts<sup>†</sup> offer a new opportunity to give these organic constituents to the plants, and to rebalance our crops. Vermicomposts contain high amounts of rhizosphere friendly microbes (Pathma, 2012) and of humic and fulvic acids – the ideal ‘storage boxes’ for nutrients. The plants can take the nutrients from the ‘box’ in a selective way with the help of rhizosphere microbes. And the soil microbes themselves break down in amino acids – a better nitrogen source than nitrate and ammonia (Schreiner, 1912). According to Geosol from Bursa in Turkey, plants fertilized by vermicompost contain no nitrate (Geosol, 2018) or, according to Pathma, less nitrate (Pathma, Sakthivel, 2012):

“Properties of vermicompost: (..) Nitrate residues are not found in plants grown with vermicompost. (..) [VC] gives the nutrients to the plant gradually based on the needs of the plant”. (Geosol, 2018).

And when the bacteria break down in smaller units (viroids; nanobacteria; L. forms and other), the plants can take up these smaller units too. They act as their vitalizers (Rusch, 1968). The breakdown is probably facilitated by the bacteriophages on the slimy surfaces of the root tops (Barr, 2013). These bacteriophages protect the plants against invading bacteria, and help the plants by providing them with the tiniest vitalizing microbes.

Reading again the list of ryes in Wolff (Wolff, 1871: 14 Rye nr 3\*) I found another very interesting result: rye and oats which were fertilized with silt [reichlicher Schlammdüngung (künstliche Überschwemmung)]. See annex 1 for a short introduction by Herapath (1850). This fertilizing is comparable with that with rock flour. This was the result for grains (Table 6).

**Table 6.** Elements in different grains grown on silted land

Element	Rye on silt (UK)	Oats 1. on silt (UK) [Fluss-schlamm]	Oats 2. (after oats 1.) (UK)	Wheat nr 1 (First sowing after broad beans, after flooding with silt <sup>§</sup> (UK)
	Ash %	Ash %	Ash %	Ash %
Ca	8	2.96	4.8	0.96
Mg	7.8	5.6	4.6	7.75
P	14.4	7.6	4.2	20.9
K	13.8	10.9	8.1	16.6
Na	13.6	6	4	11.7
Pure ash	2.65	3.95	3.06	2.3 (in dried seeds)

The silt-rye was grown immediately after flooding with silt: “nach reichlicher Schlammdüngung” (Wolff, 1871: 14).

The oats were grown in this sequence: after flooding the land and giving the silt the first crop was broad beans, then three times wheat, then two times oats (Wolff 1871: 24). So the effect of the silt was the least for the last oats crop. But I must say, the farmers in this area brought huge amounts of silt on their land: sometimes two to three feet by repeated flooding with silt rich river water (Herapath, 1850). Here are the ratios (Table 7).

\* “These observations showed that plants evidently take up iron, not in the form of mineral compounds, but in the form of organomineral substances formed under the influence of microorganisms”. Also the other metals are complexed with organic compounds according to Krasil'nikov.

<sup>†</sup> Sinha has given a good overview about the qualities of vermicompost (Sinha, 2009).

\* Wolff took these data from Liebig and Kopp “Jahresberichten f 1850 Tab A”. Published by Th. J. Herapath. Herapath wrote about trials in Bristol with silt fertilizing (Herapath, 1850. Part I, p. 93; Part II pp. 500-536).

<sup>§</sup> Strumpf, 1853: 121.



**Table 7.** Ratios in different grains grown on silted land

Element	Optimal ratio's for human and animal food, feed/day	Ratios in the rye on silt	Ratios in the oats nr 1 on silt	Ratios in the oats nr 2 on silt	Ratios in wheat nr 1 on silt
K/Na	1-4	1.01	1.8	2	1.41
K/Mg	2-5	1.76	1.9	1.8	2.14
Ca/Mg	1-2	1.02	0.52	1.04	0.12
Ca/P	1-2	0.55	0.39	1.14	0.045
Mg/(K+Na+Ca+P)	0.15-0.25 Minimum 0.10	0.155	0.20	0.27	0.155

And the percentage pure ash was for the silt-rye the second highest of 23 samples from different countries and soils: 2,65 % (Wolff, 1871: 14, 15).

Oats nr 1 of Herapath (fertilized with silt) and the white oats of Marchand had the highest ash content of all 25 oats in Wolff (Wolff, 1871: 24, 25).

From the list of ryes in Wolff we can also see that the amount of P in the rye on silt is the second lowest of the 23 ryes which were analysed. Maybe the mycorrhiza's were not yet present in the fresh silt.

This silt – rye is optimal for all ratios except for Ca/P. But this Ca/P – 0.55 – is even much higher than the best Ca/P of Marchand wheat: 0,32.

And we can also learn from it that the amount of calcium in grains can be much higher than the 'normal' amount. A question is if phosphor is not too low in the silt rye. The Nile silt gives very high amounts of P in Hindi wheat, and low amounts of calcium (Schrumpf Pierron, 1939). Ca/P in Hindi wheat is 0.153. The silt from the Nile is basaltic silt. The silt in Bristol where the silt rye was grown, was probably not a basaltic silt, but a more granitic silt.

Oats nr. 2 has the perfect balance. Only the ash content had gone down with 22 %.

Wheat nr 1 has one problem: a very low calcium content.

And we have to find out how much phosphor in our crops is really needed and healthy. In many wheat varieties phosphor is really very high, while sulphur is almost completely missing (Thomas, 1846). We don't know if phosphor is high because sulphur in the soils is low. According to the charts of Mulder there is no relation between the levels of sulphur in the soils and the uptake of phosphor. High magnesium levels stimulate high phosphor in the plants. Only high levels of zinc and of molybdenum oppose the uptake of sulphur.

And:

In a study on food from India the following amounts for elements in rye are mentioned:

- Potassium: 45
- Calcium: 61;
- Magnesium: 155;
- Other macro elements are missing.

If these data are correct, then rye can be an excellent source of magnesium (Manay, 2008).

### A comparison with potatoes

For potatoes I found a comparable result for fertilizing with rock flour (Table 8, column 5).

Hensel (1894) gave (granitic?\*) rock flour on a potato field in Pommeren in 1890. I compare them with the ratios in nowadays Dutch potatoes and in potatoes from Normandy 1864. These are the results (Table 8).

\* Normally Hensel worked with granitic rock flours (Hensel, 1894).

**Table 8.** Ratios in potatoes with different fertilizing systems

Element	Optimal ratio's for human and animal food/day (Nigten, 2018)	Potato trial of the Louis Bolk institution. The average of thirteen different fertilizings. (Burgt et al., 2012) The Netherlands.	Three potato varieties Parmen-tier, Patraques en Vitelottes in Normandy (Marchand, 1866). The potatoes were fertilized with guano fertilizer, seaweed and animal dung <sup>†</sup> .				Potatoes in Pommeren (Hensel, 1894) <sup>†</sup> , fertilized with rock flour. By Hensel.
			Par	Pat	Vit	average.	
K/Na	Optimum 1 – 4	230	6	1.44	1.35	1.95	12.2
K/Mg	Optimum 2 – 5	25.5	9.61	10.5	11.6	10.36	1.8
Ca/Mg	Optimum 1 - 2.	0.77	0.72	0.91	2.6	1.29	2.3
Ca/P	Optimum 1 – 2 (Max 3)	0.23	1.6	0.55	1.15	0.98	6.6
Mg/ (Na+K+Ca+P)	0.15 – 0.25 (min 0,10)	0.033	0.08	0.049	0.04	0.054	0.21

We can conclude:

1. Fertilizing with silt or rock flour gives better balanced crops than fertilizing with salts and/or most animal dungs;

2. Fertilizing with guano dung, brine, seaweed and a better balanced animal dung (Table 5: animal dung in Normandy, (Marchand, 1881)) gives also better balanced crops;

So the challenge is to improve the quality of animal dung and plant residuals.

The instruments we have for better fertilizing practices taken together:

- Different types of rock flour;
- Vermicomposts;
- Complete seaminerals;
- Seaminerals without NaCl, or with a low amount of NaCl;
- Seaweeds. Seaweeds have very high ash contents, up to ten times more than many interior crops (calculated from the data of Wolff (1871);
- And high quality cow dung (Marchand, 1881);

And there are still many questions. For instance: what type of silt or rock flour gives the best results if we wish to rebalance our crops? Do we need a mixture of granitic and basaltic rock flours in order to get an optimal balance? And which seaweed is the best for a better balance of our crops?

### Centers of origin

Maybe the research of prof. Vavilov gives us an indication.

Who is prof. Vavilov? Before Stalin brought Lysenko in charge of the Genetics at the Academy of Sciences, Prof Vavilov did a lot of research regarding the genetic sources of our agricultural crops. He developed a theory about the genes centers – the centers of origin -of our important crops (Glazko, 2013, 2014).

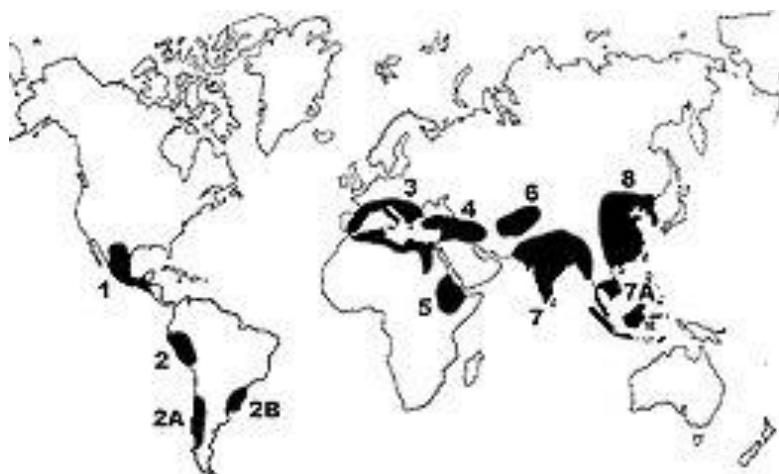
From 1930 onwards Vavilov was head of the laboratory for genetics in Moscow. This institution later on merged into the Institute for genetics of the Russian Academy for sciences. Then in 1940 prof Vavilov was, like many other scientists which opposed the ideas of Lysenko about genetics, put in jail by Stalin. In 1943 he died from hunger in Saratov. After his rehabilitation by Khrushchev the Russian Academy of Sciences introduced In 1965 the Vavilov price.

Where did Vavilov find the areas where our crops come from?

This is an image of the centers of origin (Figure 1).

\* For this animal dung: see table four and five: cow dung in Normandy (Marchand, 1881)

<sup>†</sup> Sources: (University of Regensburg, 2008, Hensel, 1894: 25).

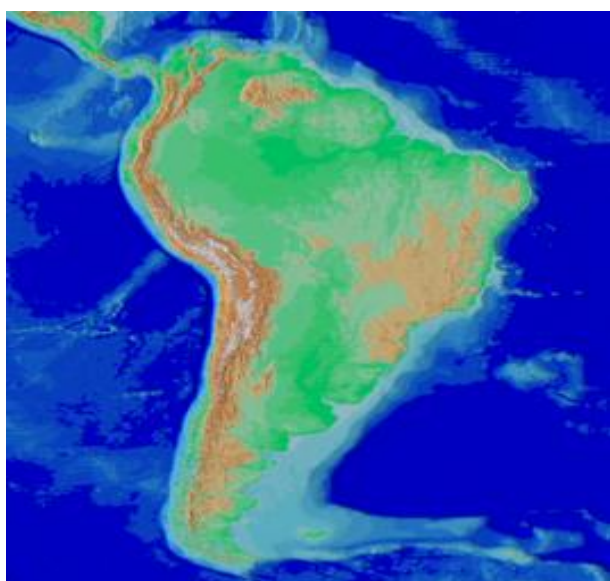


**Fig. 1.** Vavilov centers of origin: (1) Mexico-Guatemala, (2) Peru-Ecuador-Bolivia, (2A) Southern Chile, (2B) Paraguay-Southern Brazil, (3) Mediterranean, (4) Middle East, (5) Ethiopia, (6) Central Asia, (7) Indo-Burma, (7A) Siam-Malaya-Java, (8) China and Korea. ([Center of origin, 2019](#))

1, 2, 3, 4, 5, 6 and 7\* are all on fault Lines:

- in South America on the fault line of a continental plate and an Oceanic plate and in Asia and Europe on the fault Lines of different continental plates.

In South and Middle America we find the fault lines of the ocean plate – a.o. the Nazca plate – and the South American continental plate. This results in the Andean Mountains ([Figure 2](#)).



**Fig. 2.** Map of South America showing the Andes running along the entire western part roughly parallel to the Pacific coast of the continent ([Andes, 2019](#))

In Eurasia we find the African plate, the Arab plate, the Indian plate and the Australian plate on one side, and the European-Asean plate on the other side. This gives the Alpine mountain range. This range goes from the Pyrenees in the West to the Mountains in the Indonesian archipel in the East ([Figure 3](#)).

\* Later on prof Vavilov found five more genes centers.



**Fig. 3.** The location of the alpine mountains on a map of Eurasia( [Alpide belt, 2019](#))

- And we find also many flood basalts or traps (large igneous provinces) in these areas:

Within the area with nr 7 we find the Deccan plateau. Nr 8 is an area in southern China which was famous as the Chinese grain belt – Sechuan. Here the Emeishan trap is situated.

Partly these zones coincide with the so-called blue zones – zones where people live and die in a healthy condition, and become old: parts of the Mediterranean area (Sardinia); Uruguay; Ecuador; Ethiopia; the Karakoram (Hindukush); the fertile Crescent Moon (in the Middle East);

Many centers of origin coincide with areas where volcanoes from the earth mantle and the earth crust were and are situated, and at the so-called flood basalts: the highlands of Ethiopia (the Ethiopia-Yemen Continental Flood Basalts); the Deccan plateau in India; the Emeishan trap in the Sichuan province in Southern China; the countries between North and South America (the Caribbean large igneous province); Uruguay (Paraná and Etendeka traps);

Only in Indonesia and the Andes there is no flood basalt. But sometimes there are although basaltic volcanoes or layers. For instance, the active volcano at Bali – Mount Agung – has the shape of a basaltic volcano\* ([Figure 4](#)).

The slope is not a steep one but more slightly sloping. Earth crust volcanoes or stratovolcanoes are more steep. Basaltic volcanoes are more slightly sloping. And the black soil of the Agung volcano looks like more basaltic than granitic. Like the black soil of the Deccan plateau.

\* Officially this volcano is characterised as a stratovolcano, a steep granitic volcano [Electronic resource].  
URL: <https://www.theguardian.com/world/gallery/2017/dec/01/bali-volcano-mount-agung-in-pictures>  
(date of access 2019-12-22).





**Fig. 4.** A view of the Mount Agung volcano erupting in Karangasem, Bali, Indonesia, Monday, Nov. 27, 2017. (AP Photo/Firdia Lisnawati)

The type of volcanoes is an important distinction, because basaltic volcanoes are typically for the area where the first homo sapiens were found – in the south of Ethiopia:

“Omo-Kibish I (Omo I) from southern Ethiopia is the oldest anatomically modern Homo sapiens skeleton currently known ( $196 \pm 5$  ka)” (Hammond, Royer, Fleagle, 2017).

For the well functioning of our brains we need a lot of magnesium. So all crops from the magnesium rich centers of origin help us to get enough magnesium through our food. The teff from Ethiopia is an example of a grain with a good balance and high in magnesium. And the magnesium from teff is easily absorbed, because Teff is very low in phytic acid (which binds magnesium strongly) (Table 9).

**Table 9.** Elements and ratios in Teff (National Research Council, 1996: 222)

Element	Amounts in Teff	Optimal ratios for human and animal food/day	Ratios	Ratios in teff
Ca	159	1 – 4	K/Na	8.5
Mg	170	2 – 5	K/Mg	2.35
P	378	1 – 2	Ca/Mg	0.93
K	401	1 – 2	Ca/P	0.42
Na	47	0,15 – 0,25 Minimum 0,10	Mg/ (Na+K+Ca+P)	0.17

But once these crops grow in regions with less magnesium and/or wrong fertilizer practices they also get less magnesium. I think that many of our important agricultural crops are originating from magnesium rich areas. In the Netherlands wheat bread is the most important source of magnesium, but today the magnesium in wheat has gone down with almost 20 % (Guo et al., 2016).

Back to Vavilov: for the moment I presume that our centers of origin are located at soils which are faults and are mixtures of continental plates and basaltic volcanoes or floods. But that we have to check. The continental plates are rich in potassium and sodium containing feldspar and the basaltic volcanoes are rich in iron, magnesium and trace elements. The Andes mountains have geologically spoken an in between position with the andesite minerals.

So what kind of lava rock meal we have to use?

As long as we are not sure about this question it is safer to use a mixture of basaltic lava and granitic rock flour.

Exceptions?

If the judgement regarding the place of the centers of origin at the faults is correct, we should also find these centers in the North West of the USA (Columbia river basalt group), in Canada (Chilcotin plateau basalts) and in Russia in the area of the Siberian trap. And there are more regions like these.

Amaranthus for instance is a crop which genes center is probably situated in South and Middle America or the North and South of the USA. But there is uncertainty about its exact location of origin (Brenner et al., 2000: 229). Amaranthus grain is an excellent source of magnesium and has a good protein profile. Its Ca/P in the USA is too low. But there is a great spread in Ca/P values. Grain amaranthus AM MK (*Amaranthus cruentus*) from Africa has a much higher Ca/P (Kamga et al., 2013) than the grain amaranthus from the USA.

So far about the possible influences of the location of the centers of origin.

But what after growing a healthy crop?

A lot of elements and trace elements are lost by the way we mill our grains. The best is to use the whole grain kernel (as is the normal practice with teff), and not to remove the germs and bran. In the germs and bran are highly valuable components (see annex 3, Table 6 (wheat germ, and wheat bran)). And these we take off during milling and we give them to the pigs and chickens.

But if we want to use the whole grain kernel, then our milling facilities have to be more local in order to get the whole kernel flour to the bakeries as quick as possible, because the oil in the germs will otherwise make the bread rancid. Storing this flour for more than a few days is impossible.

Enough inspiration and questions for the next step: developing good fertilizing materials and practices.

### 3. Conclusion

Fertilizing with different materials (animal dung; artificial fertilizers, silt, seaweed, brine, guano dung, rock flours) influences the balance of the products grown on it. And it influences probably also the quality of the dung which is the result of the different feeds the animals get from the differently fertilized fields. On the one side we see that fresh silt from the rivers is a complete fertilizer for some four to five years, with products which are better in balance with the exception of calcium and phosphorus. On the other side the farmers from Normandy in the nineteenth century have shown that extra fertilizers like seaweed and brine also result in products with a better balance of its macro elements. Only calcium is still too low, and possibly the same for phosphorus. In the modern crops (grains, potatoes, leafy crops) potassium is often too high (especially in potatoes and leafy crops), sodium is almost lacking completely. For magnesium the picture is not unambiguous. In most modern conventionally fertilized products magnesium is lower than in the products fertilized with silt, or seaweed plus brine and the better quality cow dung. But rye from the USA (2017) has a higher magnesium content than the rye from the UK (1945).

And we can't compare the absolute amounts of magnesium of crops grown on silt, on rock flour or in Normandy on dung plus seaweed and brine, with the other data, because the data from the silt, the rock flour and the Norman products concern the ash content, while the data from the other countries concern grams/kg dry weight. From more recent studies we know that the amount of magnesium in most crops has gone down substantially.

Most centers of origin where our crops come from, are situated on fault lines. Some of these fault lines are very rich in magnesium, because over there the earth mantle has come upwards in volcanic eruptions.

For finetuning we have to do trials with different kinds of silts, rock flours, seaweeds, vermicomposts and other.

## References

[Alpide belt, 2019](#) – Alpide belt [Electronic resource]. URL: [https://en.wikipedia.org/wiki/Alpide\\_belt](https://en.wikipedia.org/wiki/Alpide_belt) (date of access 2019-12-22).

[Andes, 2019](#) – Andes [Electronic resource]. URL: <https://en.wikipedia.org/wiki/Andes> (date of access 2019-12-22).

[Arzet, 1972](#) – Arzet H. (1972). Änderungen des Kaliums- und Magnesiumgehaltes einiger wirtschaftseigen Futtermittel in den letzten 100 Jahren. Universität Stuttgart Hohenheim.

[Barr et al., 2013](#) – Barr J.J. et al. (2013). Bacteriophage adhering to mucus provide a non-host-derived immunity. *PNAS*. 110(26): 10771-0776.

[Brenner et al., 2000](#) – Brenner D. et al. (2000). Genetic resources and breeding of Amaranthus. Journal paper nr J 18413 of the IOWA experiment station, Ames IOWA. Project nr 1018.

[Burgt et al., 2012](#) – Burgt G. van der et al. (2012). Mest Als Kans 2012: activiteiten en resultaten. Tussenrapportage project Bedrijfs optimalisatie bemesting, BO-12.03-002-023, Ministerie Economische Zaken, Landbouw & Innovatie Publicatienummer 2012-044 LbP.

[Center of origin, 2019](#) – Center of origin [Electronic resource]. URL: [https://en.wikipedia.org/wiki/Center\\_of\\_origin](https://en.wikipedia.org/wiki/Center_of_origin) (date of access 2019-12-22).

[Chiy, Phillips, 1995](#) – Chiy Pc., Phillips Cjc. (1995). Nutritional preference of dry pregnant dairy cows for natrophilic pasture of varying metal concentration. *Annales de zootechnie, INRA/EDP Sciences*. 44(Suppl1): 114-114.

[Coppens, 2009](#) – Coppens G. (2009). Overzicht van 15 jaar mestanalyse door de Bodemkundige Dienst van België. [Electronic resource]. URL: [https://www.bdb.be/docs/StudiedagBDB20090211\\_GinoCoppens](https://www.bdb.be/docs/StudiedagBDB20090211_GinoCoppens) (date of access 2019-12-22).

[CBGV, 2012](#) – CBGV (2012). Commissie bemesting grasland en voedergewassen Adviesbasis: bemestingsadvies. Mestsamenstelling in Adviesbasis Bemesting Grasland en Voedergewassen (a.o. Cow dung analyses in the Netherlands).

[Geosol, 2018](#) – Geosol (2018). [Electronic resource]. URL: [www.geosol.com.tr](http://www.geosol.com.tr) (date of access 2019-12-22).

[Glazko, 2013](#) – Glazko V.I. (2013). Nikolai Ivanovitch Vavilov and his time: the way to Olympus (Chronicle of creation and USSR collapse). Vol. 1. Moscow: OOO Neft I Gaz, 2013. 550 p.

[Glazko, 2014](#) – Glazko V.I. (2014). Nikolai Ivanovitch Vavilov and his time: The great turning point - the way to Golgotha (Chronicle of the creation and collapse of the USSR. Guiltiets of death). Vol. 2. Moscow: OOO. Neft I Gaz, 2014. 545 p.

[Guo et al., 2016](#) – Guo W., Nazim H., Liang Z., Yang D. (2016). Magnesium deficiency in plants: An urgent problem. *The Crop Journal*. 4(2): 83-91. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cj.2015.11.003>

[Hammond, Royer, Fleagle, 2017](#) – Hammond A.S., Royer D.F., Fleagle J.G. (2017). The Omo-Kibish I pelvis. *Journal of Human Evolution*. 108: 199-219.

[Hensel, 1894](#) – Hensel J. (1894): Brot aus Steinen. Ein neues und logisches System zur Felddüngung und körperlichen Regeneration. Herausgabe Schachter 2010.

[Herapath, 1850](#) – Herapath Th. (1850). The Improvement of Land by Warping, chemically considered. *Journal of the Royal Agricultural Society of Eglan, XI*. London: John Murray, Albemarle Street.

[Huhtanen et al., 2000](#) – Huhtanen, P. Ahvenjärvi S., Heikkilä T. (2000). Effects of sodium sulphate and potassium chloride fertilizers on the nutritive value of timothy grown on different soils. *Agricultural and Food science in Finland*. 9 (2): 105-119. DOI: [10.23986/afsci.5653](https://doi.org/10.23986/afsci.5653)

[Imides, 2009](#) – Imides. (2009). IUPAC Compendium of Chemical Terminology. DOI: [10.1351/goldbook.I02948](https://doi.org/10.1351/goldbook.I02948)

- Kamga et al., 2013** – Kamga R., Kouamé C., Atangana A.R., Chagomoka T., Ndango R. (2013). Nutritional evaluation of African indigenous vegetables. *Journal of Horticultural Research*. 21(1): 99-106. DOI: 10.2478/johr-2013-0014
- Kowieska et al., 2011** – Kowieska A. et al. (2011). Chemical composition and nutritional characteristics of several cereal grains. *Acta Sci. Pol., Zootechnica*. 10(2): 37-50.
- Krasil'nikov, 1958** – Krasil'nikov N. (1958). Soil microorganisms and higher plants. Academy of Sciences of the USSR Publishing, Moscow.
- Krishnaia, et al., 2008** – Krishnaia, D. et al. (2008): Mineral content of some seaweeds from Sabah's south China sea. *Asian journal of scientific research*. 1(2): 166-170.
- McCance et al., 1945** – McCance R. et al. (1945). The Chemical Composition of Wheat and Rye and of Flours derived therefrom. The Department of Medicine, Cambridge, and The Cereals Research Station, St Albane.
- Manay, et al., 2008** – Manay S. et al. (2008). Foods: facts and principles. New Age international. New Delhi.
- Marchand, 1866** – Marchand E. (1866). Composition des cendres végétales : mémoire. Havre Lepelletier.
- Marchand, 1869** – Marchand E. (1869). Étude statistique, économique et chimique sur l'agriculture du pays de Caux. PARIS imprimerie de Madame Veuve Bouchard-Huzard, Rue De L'Eperon, 5.
- Marchand, 1881** – Marchand E. (1881). Les Champs d'expériences de la Société centrale d'agriculture. Société Centrale d'agriculture de la Seine inferieure. Imprimerie de Henry Boissel, p. 6.
- Murray, 2003** – Murray M. (2003). Sea energy in agriculture. *Acres*. 109 p. [Electronic resource]. URL: <https://www.acresusa.com/products/sea-energy-agriculture>
- National Research Council, 1996** – National Research Council. (1996). *Lost Crops of Africa: Volume I: Grains*. Washington, DC: The National Academies Press. DOI: <https://doi.org/10.17226/2305> (pag 222 onTeff) (date of access 2019-12-22).
- Nigten, 2018** – Nigten A.O. (2018). Re-inventing Agriculture! *Biogeosystem Technique*. 5(2): 213-228.
- Nutrinorm, 2016** – Nutrinorm. (2016). De samenstelling van organische meststoffen (The composition of organic dung from the Netherlands). [Electronic resource]. URL: [www.Nutrinorm.nl](http://www.Nutrinorm.nl) (date of access 2019-12-22).
- Pathma, Sakthivel, 2012** – Pathma J., Sakthivel N. (2012). Microbial diversity of vermicompost bacteria that exhibit useful agricultural traits and waste management potential. *SpringerPlus*. 1: 26. [Electronic resource]. URL: <http://www.springerplus.com/content/1/1/26>
- RIVM Nevo, 2019** – RIVM Nevo online [Electronic resource]. URL: <https://nevo-online.rivm.nl/> (date of access: 2019-12-22).
- Rosanoff, 2013** – Rosanoff A. (2013). Changing crop magnesium concentrations: impact on human health. *Plant and Soil*. 368: 139-153. DOI: 10.1007/s11104-012-1471-5
- Rusch, 1968** – Rusch H.P. (1968). Bodenfruchtbarkeit. Organischer Landbau Verlag.
- Shridhar et al., 2015** – Shridhar G., Rajendra N., Murigendra H., Shridevi P., Prasad M., Mujeeb Ma., Arun S., Neeraj D., Vikas S., Suneel D., Vijay K. (2015). Modern Diet and its Impact on Human Health. *J Nutr Food Sci*. 5: 430. DOI: 10.4172/2155-9600.1000430
- Schreiner, 1912** – Schreiner O. (1912). Nitrogenous soil constituents and their bearing on soil fertility. US Department of agriculture.
- Schreiner, 1913** – Schreiner O. (1913). The organic constituent of soils. US Department of agriculture. *Bureau of soils circular*. 74.
- Sinha, 2009** – Sinha R. (2009). The Concept of Sustainable Agriculture: An Issue of Food Safety and Security for People, Economic Prosperity for the Farmers and Ecological Security for the Nations. Vermiculture & sustainable agriculture. American-Eurasian. *Journal of Agricultural & Environmental Sciences*. 5 (S): 01-55.
- Schrumpf Pierron, et al. 1939** – Schrumpf Pierron P. et al. (1939). La prophylaxie du cancer par le régime alimentaire (la question du pain). *Bulletin de l'institut d'Egypte*. XXI: 43-54.
- Sperry, 2011** – Sperry J. (2011). The Oxidation of Amides to Imides: A Powerful Synthetic Transformation. *Synthesis*. 22: 3569-3580. DOI: 10.1055/s-0030-1260237



**Strumpf, 1853** – *Strumpf F.* (1853). Die Fortschritte der angewandte Chemie, Erster Band erster Theil. P. 121. Bayerische Staatsbibliothek. [Electronic resource]. URL: [https://reader.digitale-sammlungen.de > object > display Die Fortschritte der angewandten Chemie / Strumpf ...](https://reader.digitale-sammlungen.de/object/display/Die_Fortschritte_der_angewandten_Chemie/_Strumpf...) (date of access 2019-12-22).

**Taunton, 1846** – *Taunton W.* (1846). On the St. Johns-Day Rye. *Journal of Royal Agricultural society England*. VII: 339.

**Theel, 1933** – *Theel E.* (1933). Über den Mineralstoffgehalt deutscher Futtermittel. Ergebnisse an Wiesenheu. Publisher: Landwirtschaftliche Hochschule Berlin. 1933.

**Thomas, 1846** – *Thomas J.* (1846). Report on the Analysis of the Ashes of Plants. *Journal of Royal Agricultural society England*. VII: 593.

**University of Regensburg, 2008** – University of Regensburg: “Dünger... Fluch oder Segen?”. A course for students at the *Regensburg University*. Institut für Anorganische Chemie - Lehrstuhl Prof. Dr. A. Pfitzner Demonstrationsversuche im Sommersemester Dozentin: Dr. M. Andratschke. [www.uni-regensburg.de](http://www.uni-regensburg.de) (Date of access 2019-12-22).

**USDA, 2017** – *USDA* (2017). United States Department of Agriculture. Agricultural Research Service USDA Branded Food Products Database 45056014, WHOLE GRAIN, 100 % WHOLE WHEAT, UPC: 70287111676

**Visser, 2010** – *Visser J.* (2010). Down to earth. A historical-sociological analysis of the rise and fall of ‘industrial’ agriculture and of the prospects for the re-rooting of agriculture from the factory to the local farmer and ecology. Thesis, Wageningen University, Wageningen NL. Down to earth: a historical-sociological analysis of the rise ... <https://edepot.wur.nl> > ... (date of access 2019-12-22).

**Voss, 2010** – *Voss R.* (2010). Dr. Maynard Murray's Story: sea minerals cure. *Acres USA*. October.

**White, 2005** – *White P. et al.* (2005). Historical variation in the mineral composition of edible horticultural products. *Journal of Horticultural Science & Biotechnology*. 80(6): 660-667.

**Wolff, 1851** – *Wolff E.* (1851). Einfluss der reinen und unverfälschten Mineralsalze auf die Entwicklung der vegetabilischen Substanz. *Journal für praktischen Chemie*. LI: 15-81.

**Wolff, 1871** – *Wolff E.* (1871). Aschen-Analysen von landwirtschaftlichen. *Produkten, Fabrik-Afällen und wildwachsenden Pflanzen*, 1–2. Verlag von Wiegand und Hempel Berlin.

## Annex 1. Silt as fertilizer

**The Improvement of Land by Warping\***, **Chemically considered.** By Thornton J. Herapath.

“In many of the counties of England and Scotland, more particularly in those of Lincoln and York, there are certain districts, bordering upon the larger rivers and their tributaries, where the agriculturists are in the habit of manuring their land or of restoring its exhausted fertility by means of a peculiar mode of irrigation, which is there termed “warping.” In order that this operation should be pursued with advantage, two points are necessary : namely, first, that the general level of the country through which the river flows, should be below that of high tide, and, second, that the water of the river should be of a very muddy character, as the main object of the farmer consists in producing an equal and uniform distribution of the alluvial matters, which are kept in suspension by the water, over the surface of the land.

For this purpose, the river-water, at low tide, is allowed to flood the land intended to be so warped by means of outlets in the banks of the river, and prepared channels and sluices, and it is then kept there until it has deposited the mud or silt with which it is charged. When this has taken place, the clear water is permitted to flow off by other channels and return to the river.

Fresh quantities of water are then again admitted at every succeeding tide, each of which produces a new superstratum of sedimentary matter, and this operation is repeated until the requisite thickness of warp has been obtained. The quantity of warp so deposited by each successive tide in many cases **exceeds one-tenth of an inch in thickness**; it varies, however, greatly at different periods of the year, according as there is much or little freshwater in the river

\* To warp means “flooding the land”.

and in the position of the land. By these means, then, there is created in the course of a few months a new soil of considerable depth, which consists, for the most part, of the various kinds of earth **and undecomposed vegetable and animal matters** which the waters of the river have collected and borne along in their course. Land so warped is said to possess a natural power of production of the most remarkable kind, **and a degree of fertility far exceeding that which is produced by any of the ordinary processes of cultivation.** In fact, vast tracts of perfectly sterile sandy and peaty soils in the neighbourhood of the rivers Humber, Trent, and Ouse are yearly converted into good arable land solely by the agency of this operation”.

(..) By the above plan, however, it has been found possible to warp land in one year to the depth of **from 2 to 3 feet**, and this is generally considered to be quite deep enough and is permanent in its action).

(..)With regard to the qualities of warped land for the purposes of the agriculturist, it has been observed, that it is always best to allow land so treated to remain untouched for one

year, in order to afford time for the atmospheric air to act upon the alluvial matters and reduce them to a proper temper (if it may be so called) and state of dryness. It is then sown down with four bushels of oats per acre and a mixture of clover and grass seeds. The crops so produced are then depastured by sheep for two years in succession, when the soil is ploughed up and planted with wheat and oats. Beans and rape also thrive well upon this land ; the former have even been found to succeed as a first crop. Barley and turnips,

however, do not answer so well, on account of its slimy nature.

Warped land is grateful for manure, but does not require any until it has been cropped a few times, say for five or six years. **Guano** is then found to be one of the best that answers. Linseedcake and rich farm-yard manure also furnish very good results. Experience has proved, however, that the quality of the warp often makes considerable difference in this respect ; so much so, in fact, that one-half of a field has done better without additional manure than the other half has with” (Herapath, 1850).

## Annex 2. Minerals in seaweed

**Table 1.** Minerals in Brown seaweed (fucus) from Normandy

Element	Fucus, g/ 165 g ashweight	Ratios	Fucus
K	10.52	K/Na	0.45
Na	23.29	K/Mg	2.0
Ca	13.0	Ca/Mg	2.49
Mg	5.21	Ca/P	9.4
Cl	44.26	Mg / (K+Na+Ca+P)	0.11
I	3.36	–	
Br	1.05	–	
P	1.38	–	
S	9.08	–	

**Table 2.** The balance differs from Brown seaweed (Sargassum) in the Sabah’s South China sea (Krishnaia, 2008):

Element	Sargassum, mg/100 g DW	Ratios	Sargassum
K	9700	K/Na	2.2
Na	4334	K/Mg	9.2
Ca	1130	Ca/Mg	1.07
Mg	1050	Ca/P	–
Cl	Not measured	Mg / (K+Na+Ca+P)	–
P	Not measured		

**Table 3.** Wolff gives these data for seaweed collected in the harbor of Fécamp (Normandy, France) by Marchand (before 1865) Wolff (1871: 130):

Element	Fucus siliquocus, (percentages)	Variety unknown (percentages)
K	12.79	5.17
Na	11.46	15.14
Ca	7.18	10.35
Mg	4.53	3.97
p	1.11	0.95

**Table 4.** Ratios

	Fucus siliquocus	Variety unknown
K/Na	1.11	0.34
K/Mg	2.8	1.3
Ca/Mg	1.58	2.6
Ca/P	6.46	10.8
Mg / (K+Na+Ca+P)	0.14	0.125

So for agricultural purposes brown seaweed (low in potassium) and Fucus siliquocus (high for Mg / (K+Na+Ca+P)) seem favorable. And both have a relative high sodium level.

From chapter 8 about 'wild growing plants' in Wolff we can see that plants from the sea have in general very low amounts of phosphor. In fresh water the plants have some more phosphor. And most wild plants from the interior have much higher amounts of phosphor. But everywhere are some exceptions (Wolff, 1871: 130-145).

### Annex 3. Rye and wheat bread and flour in the Netherlands 2017

**Table 5.** Rye, The Netherlands 2017. Data from RIVM Nevo (RIVM Nevo, 2019)

Food item	Sodium (mg)	Potassium (mg)	Calcium (mg)	Fosfor (mg)	Magnesium (mg)	Iron non haem (mg)	Copper	Sele- nium (ug)	Zinc (mg)	Jodium (ug)
Flour rye 60 % extraction	10	200	30	150	51	1.5	0.15	1	1.3	4.6
Flour rye	5	500	45	350	92	4	0.42	0	3	4.6
Bread rye dark	447	261	33	174	57	2.7	0.18	1	1.5	64.2
Bread rye light	407	256	34	178	55	2	0.2	3	1.43	77.1
Bread rye dark low sodium	30	261	33	174	57	2.7	0.18	1	1.5	--
Bread wheatrye wholemeal	417	252	34	189	61	2	0.21	4	1.42	72.3
Rye flakes rolled	40	530	64	373	110	3.7	0.44	2	2.6	4.6
Bread rye average	443	260	33	174	57	2.6	0.19	1	1.49	65.6

**Table 6.** Wheat, The Netherlands. Data from RIVM Nevo (RIVM Nevo, 2019)

Food item	Sodium (mg)	Potassium (mg)	Calcium (mg)	Fosfor (mg)	Magnesium (mg)	Iron non haem (mg)	Cup-per	Selenium (ug)	Zinc (mg)	Jodium (ug)
Flour wheat white 75 % extraction	2	156	23	103	20	0.8	0.14	5	0.64	1.9
Flour wheat wholemeal	5	250	30	370	124	4	0.45	4	2.9	1.9
Wheat germ	3	900	62	1250	280	5.3	0.9	3	16.87	1.9
Bread brown wheat	439	166	29	142	43	1.4	0.16	4	1	69.3
Wheat bran	4	1160	110	1200	466	11.5	1.34	2	7.67	2.4
Roll brown soft	396	207	39	161	45	1.4	0.16	5	1.11	60.7
Bread brown/whole meal average	433	207	32	171	55	1.7	0.19	4	1.2	68.4

**Table 7.** Wheat and rye

Element	Optimal ratios for human and animal food/day	Rye flour	Wolff 1871 Rye	Wheat flour (wholemeal)	Wheat germ	Wheat bran	Marchand 1869 Wheat
K/Na	1-4	100	20.2	50.0	300.0	290.0	1.6
K/Mg	2-5	5.43	3.79	2.0	3.2	2.48	1.66
Ca/Mg	1-2	0.49	0.27	0.24	0.22	0.24	0.52
Ca/P	1-2	0.13	0.09	0.08	0.049	0.09	0.32
Mg/(K+Na+Ca+P)	0.15-0.25 Minimum 0.10	0.10	0.14	0.19	0.13	0.19	0.21