

ПРИМЕНЕНИЕ БАЗОВЫХ ИЗОТОПНЫХ УРАВНЕНИЙ ДЛЯ ОПИСАНИЯ ДИНАМИКИ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ: ПЕРЕРАСПРЕДЕЛЕНИЕ ДЕЙТЕРИЯ

© 2022 г. В.А. Вавилин*,#, Л.Я. Локшина*

*Институт водных проблем РАН, ул. Губкина, 3, Москва, 119333, Россия

#E-mail: vavilin@iwp.ru

Поступила в редакцию 15.02.2022 г.

После доработки 10.06.2022 г.

Принята к публикации 24.06.2022 г.

С использованием базовых изотопных уравнений, основанных на сохранении баланса дейтерия, анализируется динамика внутриклеточного окисления метана нитрит-ионом (NDAMO) в двух лабораторных экспериментах с различными начальными концентрациями субстратов и с привлечением изотопных переменных с дейтерием, причем во втором эксперименте начальное количество воды в закрытом сосуде было уменьшено приблизительно в 2.8 раза. Согласно модели в конце первого эксперимента метан полностью расходуется при остающемся избытке нитрит-иона, тогда как в конце второго эксперимента метан остается при полном исчерпании нитрит-иона. В качестве изотопных переменных в модели рассматриваются концентрации содержащих единственный атом дейтерия субстратов (CH_4 и NH_4^+), продукта (H_2O) и биомассы метанотрофных микроорганизмов ANME ($\text{C}_5\text{H}_7\text{NO}_2$). Выведены стехиометрические уравнения реакций, описывающие перераспределение дейтерия между субстратами, продуктом реакции (водой) и биомассой. Показано, что фракционирование изотопов идет в процессе микробиологической реакции в воде, при этом субстраты обогащаются дейтерием, а вода и биомасса им обедняются. Если в первом эксперименте, сопровождающемся небольшим падением содержания дейтерия в воде и биомассе, процесс фракционирования заканчивается при $t \geq 17$ ч, то во втором эксперименте он заканчивается при $t \geq 140$ ч и сопровождается значительным падением содержания дейтерия в воде, зависящем от начальной концентрации воды, содержащей дейтерий. Это происходит из-за разбавления воды в сосуде обедненной дейтерием водой, образующейся в процессе NDAMO. В работе также дана сводка полученных нами в течение ряда лет результатов моделирования динамики одиннадцати биологических процессов, в которых измеряли в основном стабильные изотопы углерода. Приводятся используемые при моделировании факторы фракционирования изотопов.

Ключевые слова: динамика экологических процессов, кинетический изотопный эффект, базовые изотопные уравнения, последовательные и параллельные реакции.

DOI: 10.31857/S0006302922060114, EDN: LKFKYL

Кинетический изотопный эффект заключается в изменении скорости химических, биологических и физических процессов при замене в молекуле реагирующего вещества какого-либо атома его изотопом [1]. Величина отношения тяжелых (^hE) и легких (^lE) стабильных изотопов $R = ^h\text{E}/^l\text{E}$ в веществе обычно мала, она традиционно определяется при помощи разницы отношений $^h\text{E}/^l\text{E}$ в исследуемом образце $(^h\text{E}/^l\text{E})_{\text{обр}}$ и определенном

стандарте $(^h\text{E}/^l\text{E})_{\text{ст}}$, который отличается высоким содержанием более тяжелого изотопа ^hE [2]:

$$\delta^h\text{E}(\text{‰}) = \left[\frac{(^h\text{E}/^l\text{E})_{\text{обр}}}{(^h\text{E}/^l\text{E})_{\text{ст}}} - 1 \right] \times 1000, \quad (1)$$

где величина $\delta^h\text{E}$ называется изотопной сигнатурой (signature). Концентрация субстрата (реагента) с более тяжелым (редким) изотопом, как правило, много меньше концентрации субстрата с более легким изотопом.

Сокращения: NDAMO – реакция окисления метана нитритом, ANME – анаэробные метан-окисляющие микроорганизмы.

Уравнение Релея [3], изначально предложенное для описания диффузии газов, традиционно применяется и для вычисления фактора фракционирования (разделения) стабильных изотопов:

$$R_t/R_0 = (S_t/S_0)^{1/(\alpha-1)}, \quad (2)$$

где R_0 и R_t — отношение тяжелого и легкого стабильных изотопов в субстрате в моменты времени 0 и t соответственно; S_0 и S_t — начальная и текущая концентрации субстрата; α — фактор фракционирования стабильных изотопов при превращении субстрата в продукт. Величина α определяется [4] по наклону прямой линии, полученной в двойных логарифмических координатах, следующих из уравнения Релея (2).

При описании изотопного эффекта в уравнении (2) уже давно отмечается справедливость не-

линейной химической кинетики n -го порядка по концентрации субстрата S [5], однако, в современной научной литературе по-прежнему часто считается, что справедлива линейная кинетика по концентрации субстрата S [6]. При этом кинетический коэффициент слегка меньше у субстрата с более тяжелым изотопом. Фактор фракционирования α обычно считается величиной постоянной, что не всегда справедливо [7]. Фактически уравнение Релея (2) является статическим, поскольку оно фиксирует концентрацию субстрата только в моменты времени 0 и t и не зависит от динамики концентрации субстрата в промежутке от 0 до t .

Базовое изотопное динамическое уравнение для единственного субстрата записывается в следующем виде [8]:

$$\frac{d^h S}{dt} = \frac{1}{\alpha} \frac{^h S}{S} \frac{dS}{dt}, \quad (3)$$

где $^h S$ и $S = {}^1 S + ^h S \approx {}^1 S$ — концентрации субстрата, содержащего более тяжелый изотоп, и полного субстрата, содержащего более легкий и тяжелый изотоп соответственно; dS/dt — скорость изменения концентрации полного субстрата. Уравнение

(3) для субстрата нужно дополнить соответствующими уравнениями для продукта реакции (4) и биомассы (5), осуществляющей саму микробиологическую реакцию:

$$\frac{d^h P}{dt} = \frac{1}{\alpha} \frac{^h S}{S} \frac{dP}{dt}, \quad (4)$$

$$\frac{d^h B}{dt} = \frac{1}{\alpha} \frac{^h S}{S} \frac{dB}{dt}, \quad (5)$$

где продукт ($^h P$) и биомасса ($^h B$) содержат более тяжелый изотоп. При этом учитывается, что в продукт и биомассу более тяжелый изотоп поступает из субстрата. Из уравнений (3)–(5) следует сохранение суммарного баланса более тяжелого изотопа в субстрате, продукте и биомассе ($d^h S/dt + d^h P/dt + d^h B/dt = 0$), если материальный баланс в системе без изотопов сохраняется ($dS/dt + dP/dt + dB/dt = 0$). В работе [8] изотопные уравнения для субстрата, продукта и биомассы типа уравнений (3)–(5) используются как составные части двух последовательных реакций (превращения нитрата в нитрит и последующее превращение нитрита в молекулярный азот).

В работах [9, 10] показано, что статическое уравнение Релея (2) выводится из основного изотопного уравнения (3), где нелинейная скорость процесса dS/dt для скорости микробиологической реакции задается в общем виде. Часто для описания скорости биологического процесса используется нелинейная функция типа Моно. Тра-

диционно функция Моно используется при описании динамики анаэробных микробиологических процессов [11, 12]. В монографии [13] обсуждается переход от функции Михаэлиса–Ментен, известной в ферментативной кинетике, к функции Моно, известной в микробиологической динамике.

В предложенных нами динамических уравнениях (3) – (5) вводится концентрация более тяжелого (редкого) элемента в субстрате, продукте и биомассе. Из уравнения (3) следует, что скорость изменения концентрации субстрата, содержащего более тяжелый изотоп, пропорциональна скорости изменения концентрации полного субстрата, умноженной на текущую пропорцию более тяжелого изотопа в субстрате к полному субстрату и деленной на фактор фракционирования изотопов α , который отражает тот факт, что константа скорости для субстрата с более тяжелым изотопом несколько меньше, чем та же константа скорости для субстрата с легким изотопом. При этом концентрация субстрата, содержащего более тяжелый (редкий) изотоп, во мно-

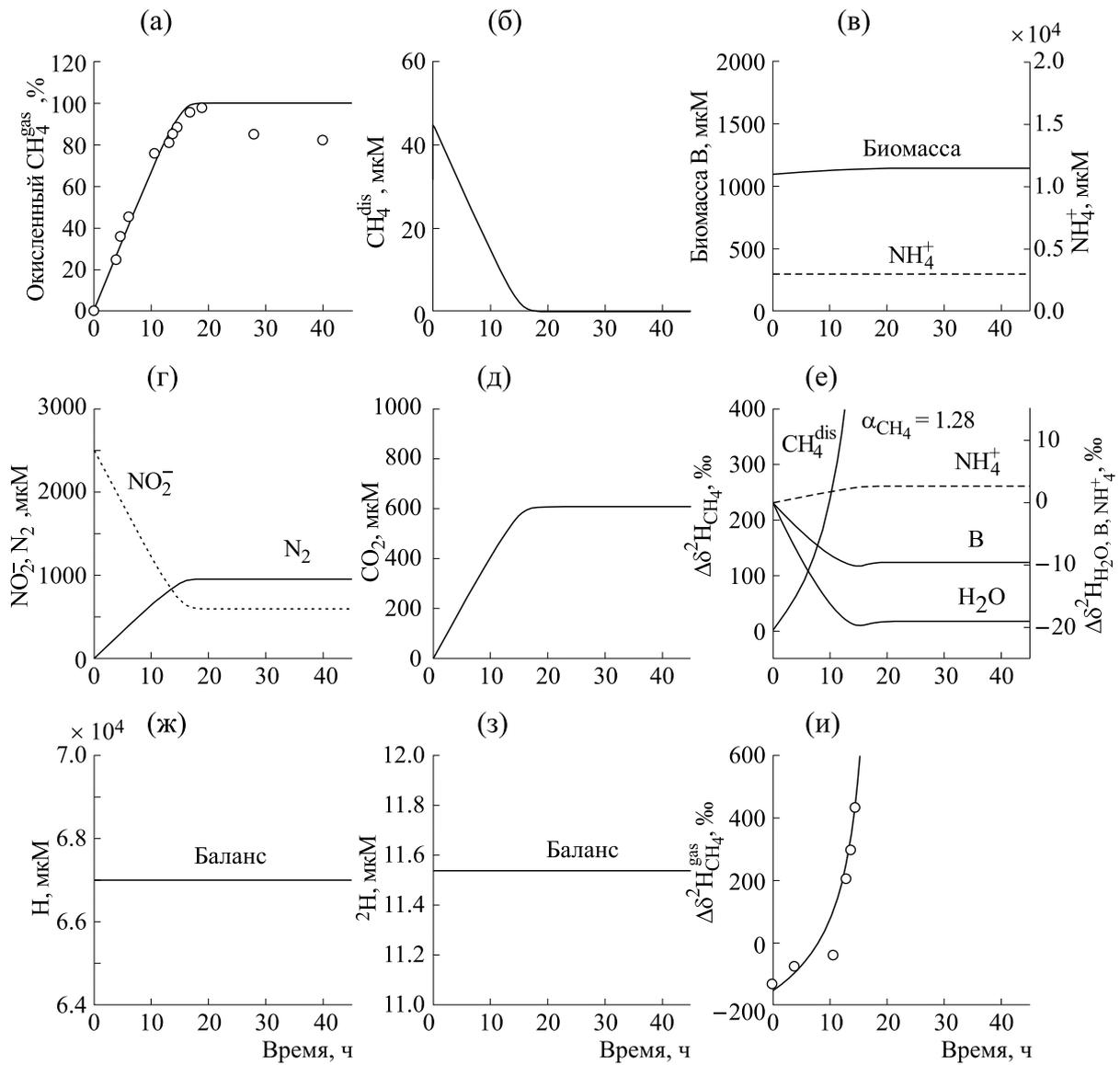


Рис. 1. Результаты расчета по динамической модели, описывающей анаэробное окисление метана нитритом NDAMO, при начальных концентрациях газообразного метана $CH_4^{gas} = 788$ мкМ, биомассы $B = 1100$ мкМ, объемах газовой и жидкой фаз реактора 15.6 и 44.4 мл соответственно (эксперимент R0.35). Символы (кружки) – эксперимент [14], кривые – модель (10)–(11).

го раз меньше концентрации субстрата, содержащего более легкий изотоп, которая почти равна концентрации полного субстрата (с легким и тяжелым изотопом).

Ранее анализ экспериментальных данных при моделировании микробиологических процессов выполнялся нами в основном для углерода ^{13}C .

Калибровку динамической модели проводили в два этапа. Сначала калибровали модель с общими переменными без участия изотопов, далее – часть модели с изотопными переменными. Так, при моделировании процесса окисления метана нитритом (NDAMO) [10] вычисляли изотопную сигнатуру по углероду для газообразного метана:

$$\delta^{13}C_{CH_4^{gas}} [‰] = 10^3 \left[\frac{^{13}C_{CH_4^{gas}} / ^{12}C_{CH_4^{gas}}}{0.0112372} - 1 \right], \quad (6)$$

где $^{13}C_{CH_4^{gas}}$ и $^{12}C_{CH_4^{gas}}$ – содержание тяжелого и легкого изотопа углерода в газообразном метане, соответственно; $^{13}C/^{12}C = 0.0112372$ – стандарт для окаменелости моллюска *Belemnitella americana* из формации Пи-Ди, Южная Каролина, США (PDB).

$$\delta^2H_{CH_4^{gas}} [‰] = 10^3 \left[\frac{{}^2H_{CH_4^{gas}} / {}^1H_{CH_4^{gas}}}{0.000150022503} - 1 \right], \quad (7)$$

где ${}^2H_{CH_4^{gas}}$ и ${}^1H_{CH_4^{gas}}$ – содержание тяжелого и легкого изотопа водорода в газообразном метане соответственно; ${}^2H/{}^1H = 0.000150022503$ – венский стандарт для морской океанической воды (V-SMOW). Далее теоретическую кривую сравнивали с экспериментальными данными.

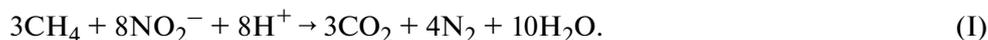
МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Процесс NDAMO. Экспериментальная процедура была детально описана ранее [14]. Культура *Candidatus Microbilis Oxufera* была обогащена в среде без кислорода. При проведении двух инкубационных экспериментов использовали 60-мл стеклянные сосуды с объемами газовой и жидкой фаз 15.6 и 44.4 мл (R0.35, отношение объемов газовой и жидкой фаз равно 0.35) и с объемами газовой и жидкой фаз 44.4 и 15.6 мл (R2.8, отноше-

Целью настоящей работы является описание процесса NDAMO при рассмотрении дейтерия, стабильного изотопа водорода. Для сравнения теоретических кривых с экспериментальными данными для газообразного метана вычисляли изотопную сигнатуру по водороду:

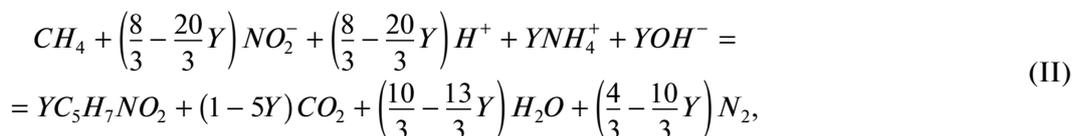
ние объемов газовой и жидкой фаз равно 2.8). В работе [15] ранее было вычислено, что начальная концентрация газообразного метана составляла около 790 мкМ (R0.35) и 4780 мкМ (R2.8). Необходимо отметить, что показанные на рис. 1 и 2 экспериментальные точки соответствуют разным сосудам, измерялись они лишь один раз. Согласно авторам работы [14], максимальная удельная скорость роста биомассы анаэробных метанокисляющих микроорганизмов (ANME) была почти одинаковой в обоих экспериментах (R0.35 и R2.8).

Динамическая модель NDAMO. Ранее авторы работы [16] предложили стехиометрическое уравнение для описания объединенного процесса анаэробного окисления метана и денитрификации нитрит-иона:



В работе [17] было показано, что процесс анаэробного окисления метана нитрит-ионом происходит внутри бактериальной клетки, при этом в ходе промежуточных реакций в процессе денитрификации нитрит-иона образуется кислород, который и окисляет метан. В работе [10] автором было предложено стехиометрическое уравнение

для описания фракционирования изотопов углерода при анаэробном окислении метана, осуществляемом культурой *Candidatus Microbilis Oxufera*. В настоящей работе это уравнение модифицировано, чтобы описать динамику фракционирования изотопов водорода в процессе NDAMO:



где Y – коэффициент трансформации субстрата в биомассу, $C_5H_7NO_2$ – обобщенная химическая формула бактерий, осуществляю-

щих реакцию. В анаэробных условиях величина Y гораздо меньше, чем в аэробных.

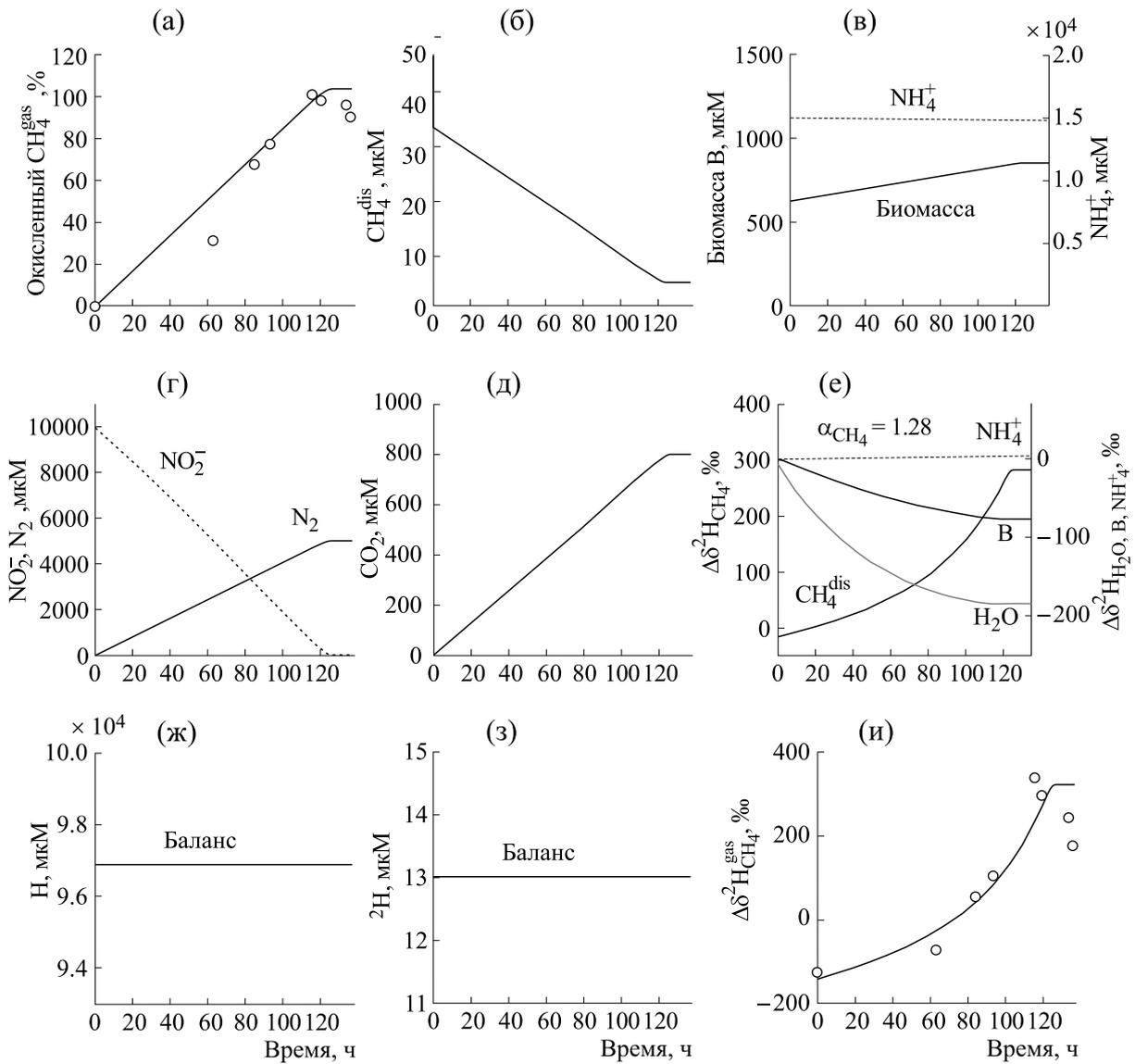
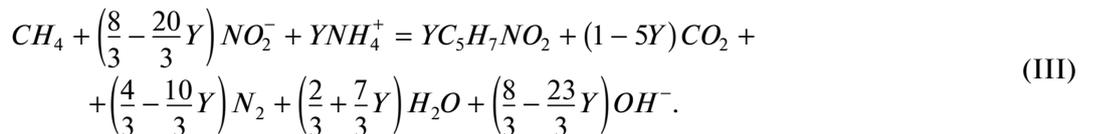


Рис. 2. Результаты расчета по динамической модели, описывающей анаэробное окисление метана нитритом NDAMO при начальных концентрациях газообразного метана $CH_4^{gas} = 4780$ мкМ, биомассы $B = 630$ мкМ, объемах газовой и жидкой фаз реактора 44.4 и 15.6 мл соответственно (эксперимент R2.8). Символы (кружки) – эксперимент [14], кривые – модель (10)–(11).

Перепишем уравнение (II) в виде, удобном для дальнейшего рассмотрения:



Следуя стехиометрическому уравнению (III), динамическую модель для общих переменных с учетом процессов массообмена газо-

образного и растворенного метана запишем в виде следующей системы дифференциальных уравнений:

$$\left\{ \begin{array}{l}
 \frac{dCH_4^{gas}}{dt} = -K_L(SS-CH_4^{dis}), \\
 \frac{dCH_4^{dis}}{dt} = -R + K_L(SS-CH_4^{dis}), \\
 \frac{dNO_2^-}{dt} = -\frac{8-20Y}{3} R, \\
 \frac{dB}{dt} = YR, \\
 \frac{dN_2}{dt} = \frac{4-10Y}{3} R, \\
 \frac{dCO_2}{dt} = (1-5Y)R, \\
 \frac{dNH_4^+}{dt} = -YR, \\
 \frac{dH_2O}{dt} = \frac{d(H_2O_{недис} + OH^- + H^+)}{dt} = \frac{2+7Y}{3} R + \frac{8-23Y}{3} R + \frac{10-16Y}{3} R,
 \end{array} \right. \quad (8)$$

где $R = \rho_m B \frac{CH_4^{dis}}{K_{CH_4} + CH_4^{dis}} \frac{NO_2^-}{K_{NO_2^-} + NO_2^-} \frac{NH_4^+}{K_{NH_4^+} + NH_4^+}$ – скорость окисления растворенного метана в виде нелинейной функции Моно для трех субстратов. При этом CH_4^{gas} , CH_4^{dis} , NO_2^- , N_2 , CO_2 , NH_4^+ , $H_2O_{недис}$, OH^- – концентрации соответствующих веществ; B – концентрация метанотрофов; ρ_m – их максимальная удельная скорость окисления; K_{CH_4} , $K_{NO_2^-}$, $K_{NH_4^+}$ – соответствующие константы полунасыщения; K_L – коэффициент массообмена между растворенным метаном и метаном в газовой фазе. В системе уравнений (8) рассматривается полная концентрация воды: $H_2O = H_2O_{недис} + H^+ + OH^-$.

При описании процесса массообмена метана между жидкой и газовой фазами равновесные

концентрации CH_4^{dis} и CDH_3^{dis} вычислялись как $SS = K_H P_{CH_4}$ и $SSD = K_H P_{CDH_3}$, где K_H – константа Генри, $P_{CH_4} = 22.4 \cdot 10^{-6} \times V_L \times CH_4^{gas} / V_G$ и $P_{CDH_3} = 22.4 \cdot 10^{-6} \times V_L \times CDH_3^{gas} / V_G$ – парциальные давления метана и метана, содержащего $^2H(D)$, выраженные в атм; V_L , V_G – соответственно объемы жидкости и газа в исследуемом реакторе в литрах. Из работы [18] можно заключить, что изменение константы Генри для CDH_3 не окажет сильного влияния на результаты, поскольку метан мало растворим в воде. В связи с необходимостью рассматривать содержание дейтерия в воде, в модель в качестве переменной была введена концентрация воды H_2O . Оценку величины начальной концентрации воды проводили следующим образом:

$$H_2O = \frac{m_{H_2O}}{M_{H_2O}} \frac{1}{V_L} = \frac{\rho_{H_2O} V_{H_2O}}{M_{H_2O}} \frac{1}{V_L} = 5.6 \cdot 10^4 \frac{V_{H_2O}}{V_L} \text{ (мкмоль/мл)}. \quad (9)$$

Таким образом, начальная концентрация воды зависит от объема, который занимают остальные вещества, находящиеся в сосуде ($V_{H_2O} = V_L - V_{\text{вещества}}$). В табл. 2 приведены используемые в модели начальные концентрации воды для R0.35 и R2.8. В соответствии с существенно большим начальным содержанием веществ в случае R2.8 (причем в модели рассматриваются только вещества, входящие в стехиометрическое уравнение (III)) начальная концентрация воды в R2.8 много ниже, чем в R0.35.

Ранее [15] для изотопов водорода в процессе NDAMO кинетический изотопный эффект рассматривался лишь для одного субстрата – метана. При этом фракционирование изотопов водорода в продукте реакции – воде – вообще не вычисля-

лось. Если для рассмотрения динамики ^{13}C необходимо было учитывать только один субстрат (CH_4), один продукт (CO_2) и биомассу микроорганизмов ($\text{C}_5\text{H}_7\text{NO}_2$), содержащие углерод, то для рассмотрения динамики ^2H необходимо принять во внимание уже два субстрата (CH_4 и NH_4^+), один продукт (H_2O) и биомассу ($\text{C}_5\text{H}_7\text{NO}_2$), содержащие водород (см. «Приложение»).

Допуская различные факторы фракционирования изотопов водорода для субстратов метана (α_{CH_4}) и аммония ($\alpha_{\text{NH}_4^+}$), можно записать следующие уравнения для изменения концентраций изотопных переменных:

$$\left\{ \begin{aligned} \frac{dCDH_3^{dis}}{dt} &= -\frac{1}{\alpha_{\text{CH}_4}} \frac{CDH_3^{dis}}{CH_4^{dis}} R + \frac{1}{\alpha_{g\text{CH}_4}} K_L (SSD - CDH_3^{dis}) \\ \frac{dCDH_3^{gas}}{dt} &= -\frac{1}{\alpha_{g\text{CH}_4}} K_L (SSD - CDH_3^{dis}) \\ \frac{d^{2H}B}{dt} &= \frac{R}{1 + \lambda} \left(\frac{1}{\alpha_{\text{CH}_4}} \frac{CDH_3^{dis}}{CH_4^{dis}} + \frac{Y}{\alpha_{\text{NH}_4^+}} \frac{NDH_3^+}{NH_4^+} \right) \\ \frac{dHDO}{dt} &= \frac{R}{1 + 1/\lambda} \left(\frac{1}{\alpha_{\text{CH}_4}} \frac{CDH_3^{dis}}{CH_4^{dis}} + \frac{Y}{\alpha_{\text{NH}_4^+}} \frac{NDH_3^+}{NH_4^+} \right) \\ \frac{dNDH_3^+}{dt} &= -\frac{1}{\alpha_{\text{NH}_4^+}} \frac{NDH_3^+}{NH_4^+} YR \end{aligned} \right. \quad (10)$$

где $\alpha_{g\text{CH}_4}$ – кинетический фактор фракционирования по водороду в процессе массообмена метана из воды в газовую фазу, соответственно: CDH_3^{dis} , CDH_3^{gas} , ^{2H}B , HDO , NDH_4^+ – концентрации соответствующих реагентов, имеющих лишь один изотоп дейтерия; λ – доля дейтерия, которая в результате реакции оказывается в воде (см. «Приложение»). В системе уравнений (10) фактор кинетического изотопного фракционирования

по водороду между метаном в газовой фазе и растворенным в воде метаном вводится как параметр, величина которого мала ($\alpha_{g\text{CH}_4} = 0.01$ [19]).

Для того чтобы баланс в реакциях с изотопами дейтерия сохранялся, необходимо считать, что часть выделяющейся воды и биомассы остается без дейтерия (см. «Приложение»). Тогда в модель для общих переменных (8) следует добавить малые поправки:

$$\left\{ \begin{aligned}
 \frac{dCH_4^{gas}}{dt} &= -K_L(SS-CH_4^{dis}), \\
 \frac{dCH_4^{dis}}{dt} &= -R \left(1 + \frac{1}{\alpha_{NH_4^+}} \frac{NDH_3^+}{NH_4^+} \right) + K_L(SS-CH_4^{dis}), \\
 \frac{dHNO_2}{dt} &= -\frac{8-20Y}{3} R \left(1 + \frac{1}{\alpha_{CH_4}} \frac{CDH_3^{dis}}{CH_4^{dis}} + \frac{1}{\alpha_{NH_4^+}} \frac{NDH_3^+}{NH_4^+} \right), \\
 \frac{dB}{dt} &= R \left(Y + \left(Y - \frac{1}{1+\lambda} \right) \frac{1}{\alpha_{CH_4}} \frac{CDH_3^{dis}}{CH_4^{dis}} + \frac{1}{1+1/\lambda} \frac{Y}{\alpha_{NH_4^+}} \frac{NDH_3^+}{NH_4^+} \right), \\
 \frac{dN_2}{dt} &= \frac{4-10Y}{3} R \left(1 + \frac{1}{\alpha_{CH_4}} \frac{CDH_3^{dis}}{CH_4^{dis}} + \frac{1}{\alpha_{NH_4^+}} \frac{NDH_3^+}{NH_4^+} \right), \\
 \frac{dCO_2}{dt} &= (1-5Y)R \left(1 + \frac{1}{\alpha_{CH_4}} \frac{CDH_3^{dis}}{CH_4^{dis}} + \frac{1}{\alpha_{NH_4^+}} \frac{NDH_3^+}{NH_4^+} \right), \\
 \frac{dNDH_3^+}{dt} &= -YR \left(1 + \frac{1}{\alpha_{CH_4}} \frac{CDH_3^{dis}}{CH_4^{dis}} \right), \\
 \frac{dH_2O}{dt} &= R \left(\frac{10-16Y}{3} + \left(\frac{10-16Y}{3} - \frac{1}{1+1/\lambda} \right) \frac{1}{\alpha_{CH_4}} \frac{CDH_3^{dis}}{CH_4^{dis}} + \right. \\
 &\quad \left. + \left(\frac{10-16Y}{3} - \frac{Y}{1+1/\lambda} \right) \frac{1}{\alpha_{NH_4^+}} \frac{NDH_3^+}{NH_4^+} \right).
 \end{aligned} \right. \quad (11)$$

Изотопные сигнатуры веществ по водороду вычисляли, используя величины переменных модели, по следующим формулам:

$$\delta^2H_{CH_4} [\text{‰}] = 10^3 \left[\frac{CDH_3 / 4CH_4}{0.000150022503} - 1 \right], \quad (12)$$

$$\delta^2H_{NH_4^+} [\text{‰}] = 10^3 \left[\frac{NDH_3^+ / 4NH_4^+}{0.000150022503} - 1 \right], \quad (13)$$

$$\delta^2H_B [\text{‰}] = 10^3 \left[\frac{^2H_B / 7B}{0.000150022503} - 1 \right], \quad (14)$$

$$\delta^2H_{H_2O} [\text{‰}] = 10^3 \left[\frac{\frac{2(2+7Y) + (8-23Y)}{10-16Y} HDO / 2H_2O}{0.000150022503} - 1 \right]. \quad (15)$$

В табл. 1 содержатся кинетические коэффициенты полной динамической модели (10) – (11), а в табл. 2 – соответствующие начальные значения переменных. Из систем дифференциальных уравнений (10) и (11) видно, что величина коэф-

фициента трансформации субстрата в биомассу Y имеет существенное значение. ANME являются медленно растущими микроорганизмами, что соответствует небольшой величине Y . Ранее в работе [16] сообщалось, что время удвоения

Таблица 1. Параметры полной динамической модели (8)–(9)

Параметр	Значение
ρ_m	0.054 мкМ/сут
Y	0.05 мкМ/мкМ
K_{CH_4}	2.00 мкМ
K_{HNO_2}	43.00 мкМ
K_{NH_3}	0.01 мкМ
α_H	1.31
α_{gCH_4}	1.01
K_L	100.0 сут ⁻¹
K_H	0.923 мкМ/атм
V_L	44.4 мл
V_G	15.6 мл

биомассы T_d микроорганизмов ANME равно одной-двум неделям. Возьмем промежуточное значение: $T_d = 1.5$ недели. Используем формулу $T_d = \ln 2 / \mu_m$, где μ_m – удельная максимальная скорость роста биомассы. Из нее найдем, что $\mu_m = Y$, $\rho_m = 0.0028 \text{ ч}^{-1}$. Взяв значение $\rho_m = 0.054 \text{ мкМ} \cdot \text{мкМ}^{-1} \cdot \text{ч}^{-1}$, приведенное в табл. 1, получим $Y \approx 0.052 \text{ мкМ} \cdot \text{мкМ}^{-1}$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На рис. 1 и 2 показана теоретическая динамика процесса NDAMO для двух случаев (R0.35 и R2.8). Динамика для R2.8 с измененными объемами газа и жидкости была использована нами для проверки предложенной математической модели. Видно, что теоретическая модель, включающая в качестве переменных концентрации веществ, содержащих дейтерий, в том числе биомассу, успешно прошла эту проверку.

В динамической модели учитывается, что процесс массообмена метана между газовой и жидкой фазами происходит быстро, а микробиологическая реакция NDAMO, идущая в воде, продолжается достаточно долго. Концентрация растворенного метана является небольшой (рис. 1б и 2б). Еще раз подчеркнем, что показанные на рис. 1 и 2 экспериментальные точки соответствуют разным сосудам и получены в результате однократного измерения. Поэтому две точки на рис. 1а при $t > 20$ ч были исключены из рассмотрения, поскольку являлись артефактами

Таблица 2. Начальные значения переменных динамической модели (8)–(9)

Переменная	Значение, мкМ
CH_4^{gas}	788.3
CH_4^{dis}	31.5
HNO2	2500.0
B	1100.0
N2	0.01
CO2	0.000001
NH3	3000.0
H2O	10000.0
$^2H-CH_4^{dis}$	0.004
$^2H-CH_4^{gas}$	0.098
^2H-B	0.136
$^2H-H_2O$	0.372
$^2H-HNO_2$	0.310
$^2H-NH_3$	0.372

[15]. Длительность реакции NDAMO зависит от начальных концентраций CH_4 , NO_2^- и биомассы ANME. В процессе окисления метана концентрация биомассы увеличивается. В эксперименте R2.8, несмотря на значительно увеличенную начальную концентрацию NO_2^- (табл. 2), длительность реакции NDAMO существенно возрастает, поскольку начальная концентрация биомассы ANME значительно меньше, чем в эксперименте R0.35 (сравни рис. 1в и 2в). Процесс прекращается, когда концентрация одного из субстратов уменьшается до 0: CH_4 в R0.35 и NO_2^- в R2.8 (сравни рис. 1б и 2г).

Поскольку начальные величины δ^2H для реагентов и биомассы были нам неизвестны, на рис. 1е и 2е показана разница между текущими и начальными значениями соответствующих величин δ^2H , а именно: $\Delta\delta^2H = \delta^2H(t) - \delta^2H(0)$. Фракционирование изотопов водорода прекращается, когда скорость реакции NDAMO (III) стремится к 0. Фактор кинетического изотопного фракционирования водорода для метана в процессе NDAMO является одинаковым, равным 1.28 в обоих экспериментах (рис. 1е и 2е). Он гораздо больше, чем фактор фракционирования в процессе массообмена метана между его газооб-

разной и растворенной формами ($\alpha_{CH_4} = 1.28$ и $\alpha_{gCH_4} = 1.01$).

В системе сохраняется баланс атомов водорода Н и дейтерия D (рис. 1з и 2з):

$$4 \frac{dCH_4^{dis}}{dt} + 4d \frac{dCH_4^{gas}}{dt} + 7 \frac{dB}{dt} + 4 \frac{dNH_4^+}{dt} + 2 \frac{dH_2O}{dt} = 0,$$

$$\frac{dCDH_3^{dis}}{dt} + \frac{dCDH_3^{gas}}{dt} + \frac{d^{2H}B}{dt} + \frac{dNDH_3^+}{dt} + \frac{dHDO}{dt} = 0,$$

где множители указывают на количество элемента водорода в субстратах, биомассе и воде как продукте реакции, тогда как для дейтерия считается, что лишь один его атом присутствует в реагентах и биомассе.

В процессе микробиологической реакции, идущей в воде, вследствие кинетического изотопного эффекта происходит изменение доли дейтерия в реагирующих молекулах: субстраты (растворенный метан и аммоний) обогащаются дейтерием, а продукт реакции (вода) и биомасса им обедняются. Если в эксперименте R0.35 концентрация биомассы лишь немного возрастает (рис. 1в), то в эксперименте R2.8 концентрация биомассы возрастает существенно (рис. 2в). Значительное возрастание концентрации биомассы в процессе NDAMO (сравни рис. 2в и 1в) приводит к значительному изменению величины ее сигнатуры $\Delta\delta^2H_B$ (сравни рис. 2е и 1е). Также при небольшой начальной концентрации воды (табл. 2) значительно падает и содержание дейтерия в воде (сравни рис. 2е и 1е).

Увеличение содержания дейтерия в метане (рис. 2е) прекращается, когда реакция NDAMO заканчивается (рис. 2г). Резкое увеличение величины δ^2H в метане (рис. 1е и 2е) происходит вследствие резкого уменьшения его концентрации. Для аммония, концентрация которого изменяется мало (рис. 1в и 2в), незначительно изменяется и величина разности $\Delta\delta^2H_{NH_4^+}$ (рис. 1е и 2е).

В целом использование концентраций веществ, содержащих дейтерий (субстратов CDH_3 и NDH_3^+ , продукта HDO и биомассы $C_5DH_6NO_2$), в качестве изотопных переменных с сохранением баланса водорода и дейтерия позволило описать динамику процесса NDAMO. Согласно формулам (12)–(15), изменение соответствующих величин $\Delta\delta^2H$ зависит от отношения концентраций веществ, содержащих и не содержащих дейтерий.

В эксперименте динамика сигнатуры по водороду измерялась лишь для метана, что позволило определить фактор фракционирования Н в метане ($\delta^2H_{CH_4}$). Если в первом эксперименте, сопровождающемся небольшим падением содержания дейтерия в воде и биомассе, процесс фракционирования заканчивается при $t \geq 17$ ч, то во втором

эксперименте он заканчивается при $t \geq 140$ ч и сопровождается значительным падением содержания дейтерия в воде, зависящим от начальной концентрации воды, содержащей дейтерий. Это происходит из-за разбавления воды в сосуде обедненной дейтерием водой, образующейся в процессе NDAMO (рис. 3).

В табл. 3 приводятся значения факторов фракционирования α для одиннадцати биологических процессов, исследованных нами ранее. Среди них динамика роста водорослей (изотопы азота),

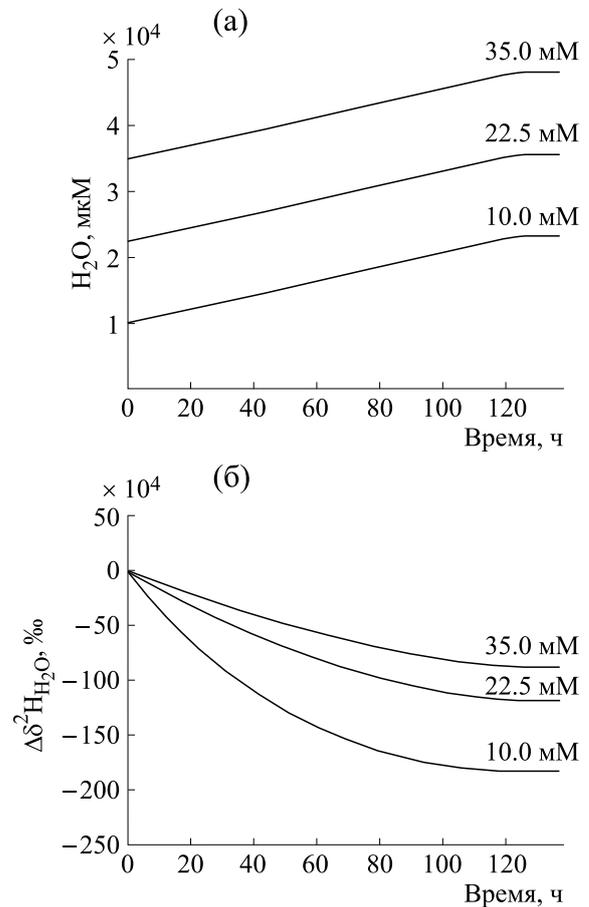


Рис. 3. Теоретические кривые изменений общей концентрации воды (а) и величин $\Delta\delta^2H_{H_2O}$ (б) в процессе NDAMO при разных начальных концентрациях воды (10, 22.5 и 35 мМ) для эксперимента R2.8.

Таблица 3. Исследуемые процессы, константа скорости и фактор фракционирования стабильных изотопов

Процесс	Максимальная удельная скорость роста биомассы (начальная концентрация биомассы) *	Фактор фракционирования изотопов	Примечания
1. Рост водорослей <i>Thalassiosira pseudonana</i> на отдельном N-субстрате и их смеси (данные [20], модель [21])	Аммоний: 0.095 ч ⁻¹ 9.3 мкМ	$\alpha_N = 1.02$	Для смеси N-субстратов высокая концентрация аммония ингибирует потребление нитрата и мочевины
	Нитрат: 0.071 ч ⁻¹ 3.2 мкМ	$\alpha_N = 1.0047$	
	Мочевина: 0.084 ч ⁻¹ 4.0 мкМ	$\alpha_N = 1.0008$	
2. Денитрификация нитрата в азот почвенными микроорганизмами с органическими субстратами глюкозой и этанолом (данные [22], модель [8])	Этанол: 0.72 сут ⁻¹ 0.0025 мМ	$\alpha_N = 1.0132$	Изотопные уравнения для субстрата, продукта и биомассы используется как составные части двух последовательных реакций. Промежуточная концентрация нитрита была небольшой для экспериментов с этанолом и большой для экспериментов с глюкозой
	Глюкоза: 1.64 сут ⁻¹ 0.0004 мМ	$\alpha_N = 1.0175$	
3. Метанизация ацетата (данные [23], модель [24]):			
а) при низкой концентрации аммония 0.18 г·л ⁻¹	<i>Merthanosarcina-ceae</i> : 0.36 сут ⁻¹ 0.0017 г·л ⁻¹	$\alpha_C = 1.02$	Идет конкуренция за ацетат между двумя группами ацетокластических метаногенов
	<i>Methanosaeataceae</i> : 0.2 сут ⁻¹ 0.0057 г·л ⁻¹	$\alpha_C = 1.005$	
б) при высокой концентрации аммония 5.4 г·л ⁻¹	<i>Methanosarcina-ceae</i> : 0.054 сут ⁻¹ 0.0017 г·л ⁻¹	$\alpha_C = 1.02$	Происходит замещение ацетокластического метаногенеза на водородотрофный метаногенез. При этом <i>Methanosaeataceae</i> полностью исчезают к концу реакции
	Синтрофы, окисляющие ацетат: 0.08 сут ⁻¹ 0.00011 г·л ⁻¹	$\alpha_C = 1.02$	
	Водородотрофные метаногены: 2 сут ⁻¹ 0.00000011 г·л ⁻¹	$\alpha_C = 1.065$	
4. Аэробное окисление метана (данные [25], модель [26]):			Фракционирование изотопов идет в процессе микробного окисления растворенного метана
а) рибулезо-фосфатный путь	<i>Methylocadmium gracile</i> : 0.176 ч ⁻¹ 0.2 мМ	$\alpha_C^{CH_4} = 1.015$ $\alpha_H^{CH_4} = 1.11$	Окисление метана по рибулезо-фосфатному пути идет гораздо медленнее, чем по сериновому

Таблица 3. Продолжение

б) сериновый путь	<i>Methylosinus sporum</i> : 1.12 ч ⁻¹ 0.025 мМ	Cu – в избытке:	В сериновом пути рост биомассы увеличивается с возрастанием концентрации CO ₂
		$\alpha_{\text{C}}^{\text{CH}_4} = 1.02$	
		$\alpha_{\text{H}}^{\text{CH}_4} = 1.15$	
		Cu – лимитирует:	
		$\alpha_{\text{C}}^{\text{CH}_4} = 1.017$	
		$\alpha_{\text{H}}^{\text{CH}_4} = 1.16$	
5. Образование метана и углекислого газа в донных отложениях тропических озер (озеро Jatoba) (данные [27], модель [28])	Ацетокластические метаногены: 0.0625 сут ⁻¹ 0.0028 г·л ⁻¹	$\alpha_{\text{C}}^{\text{Ac-метаногенез}} = 1.01$	Доминирует водородотрофный метаногенез, поскольку ацетат переходит в H ₂ и CO ₂ из-за синтрофного окисления ацетата
	Синтрофы, окисляющие ацетат: 0.05 сут ⁻¹ 0.0034 г·л ⁻¹	$\alpha_{\text{C}}^{\text{Ac-окисление}} = 1.01$	
	Водородотрофные метаногены: 1.5 сут ⁻¹ 0.000023 г·л ⁻¹	$\alpha_{\text{C}}^{\text{H}_2/\text{CO}_2\text{-метаногенез}} = 1.072$	
6. Образование метана в торфе бореального мезотрофного болота (данные [29], модель [30])	Ацетокластические метаногены: 0.02 сут ⁻¹ 0.0073 г·л ⁻¹	$\alpha_{\text{C}}^{\text{Ac-метаногенез}} = 1.008$	Отношение ¹³ C/ ¹² C в CO ₂ определяет динамические изменения в скоростях отдельных реакций
	Водородотрофные метаногены: 0.125 сут ⁻¹ 0.0011 г·л ⁻¹	$\alpha_{\text{C}}^{\text{H}_2/\text{CO}_2\text{-метаногенез}} = 1.075$	
7. Образование метана в тропическом озере Ladario с задержкой из-за анаэробной респирации (данные [27], модель [31])	Кислотогенез: 1.0 сут ⁻¹ 0.00000023 г·л ⁻¹	$\alpha_{\text{C}}^{\text{Кислотогенез}} = 1.002$	Анаэробное дыхание и кислотогенез конкурируют за мономер целлюлозы. Высокое соотношение CO ₂ /CH ₄ с задержкой образования метана интерпретировалось как доминирование анаэробного дыхания в начале процесса.
	Анаэробное дыхание: 2.5 сут ⁻¹ 0.00000056 г·л ⁻¹	$\alpha_{\text{C}}^{\text{Анаэробное дыхание}} = 1.002$	
	Ацетокластический метаногенез: 0.075 сут ⁻¹ 0.00028 г·л ⁻¹	$\alpha_{\text{C}}^{\text{Ac-метаногенез}} = 1.005$	
	Синтрофное окисление ацетата: 0.1 сут ⁻¹ 0.000056 г·л ⁻¹	$\alpha_{\text{C}}^{\text{Ac-окисление}} = 1.005$	
	Водородотрофный метаногенез: 1.75 сут ⁻¹ 0.00000011 г·л ⁻¹	$\alpha_{\text{C}}^{\text{H}_2/\text{CO}_2\text{-метаногенез}} = 1.05$	

Таблица 3. Окончание

8. Формирование анаэробного консорциума метан-окисляющих архей (ANME) и сульфат-редуцирующих бактерий (DSS) (данные [32], модель [33])	Начальные концентрации ANME и метана в газовой фазе:		В проточной системе с постепенным увеличением входящей концентрации метана идет увеличение концентрации ANME в консорциуме микроорганизмов и уменьшение фактора фракционирования изотопа серы в сульфате
	1.2 г·л ⁻¹ , 3.3 г·л ⁻¹	$\alpha_S = 1.040$	
	2.0 г·л ⁻¹ , 8.0 г·л ⁻¹	$\alpha_S = 1.024$	
	2.4 г·л ⁻¹ , 14 г·л ⁻¹	$\alpha_S = 1.023$	
	3.0 г·л ⁻¹ , 26 г·л ⁻¹	$\alpha_S = 1.022$	
	3.5 г·л ⁻¹ , 44 г·л ⁻¹	$\alpha_S = 1.018$	
9. Линейное окисление метана сульфатом в трех периодических реакторах, инокулированных морскими донными отложениями (данные [7], модель [33])	Начальные концентрации ANME:		Наименьший фактор фракционирования изотопа углерода в метане получен при наибольшей концентрации анаэробных метанотрофных микроорганизмов
	Hydrate Ridge: 8.4 мМ	$\alpha_C = 1.012$	
	Amon Mud Volcano: 1.2 мМ	$\alpha_C = 1.02$	
	Black Sea: 1.28 мМ	$\alpha_C = 1.04$	
10. Продукция метана и углекислого газа в образцах торфа западносибирского эвтрофного болота (данные и модель [34])	Гидролиз/кислотогенез целлюлозы: 0.013 сут ⁻¹	$\alpha_C^{\text{Кислотогенез}} = 1.002$	Продукция метана в три раза больше, чем продукция углекислого газа. Доминирование ацетокластического метаногенеза над водородотрофным из-за активности гомоацетогенов
	Ацетокластический метаногенез 0.105 сут ⁻¹	$\alpha_C^{\text{Ac-метаногенез}} = 1.005$	
	Водородотрофный метаногенез: 0.912 сут ⁻¹	$\alpha_C^{\text{H}_2/\text{CO}_2\text{-метаногенез}} = 1.08$	
	Гомоацетогенез: 0.912 сут ⁻¹	$\alpha_C^{\text{Гомоацетогенез}} = 1.08$	
11. Анаэробное окисление метана нитритом (данные [14], модель [10])	Анаэробное окисление метана нитритом: 0.016 сут ⁻¹ 0.014 г·л ⁻¹	$\alpha_C^{\text{массообмен}} = 1.001$ $\alpha_C^{\text{окисление}} = 1.030$	Концентрация растворенного метана лимитирует общую скорость его окисления. Идет обогащение метана более тяжелым углеродом ¹³ C. Фактор фракционирования изотопа углерода в метане при его микробиологическом окислении гораздо больше, чем в процессе массообмена между растворенной и газовой формами метана

Примечание. * – Величина максимальной удельной скорости роста биомассы μ_m зависит от начальной концентрации биомассы B_0 . Чем больше B_0 , тем ниже величина μ_m .

денитрификация нитрата почвенными микроорганизмами (изотопы азота), метанизация ацетата при различных концентрациях аммония (изотопы углерода), образование метана в донных отложениях тропических озер (изотопы углерода), анаэробное окисление метана сульфатом и формирование консорциума метан-окисляющих архей и сульфатредуцирующих бактерий в морских экосистемах (изотопы серы и углерода). В цитируемых в табл. 3 математических моделях использовался лишь один субстрат, содержащий разные стабильные изотопы, прежде всего, углерода ^{13}C в целлюлозе [21, 28, 30, 34] и ацетате [24] с образованием CH_4 и CO_2 , изотопы азота ^{15}N в азотсодержащих субстратах [21] и нитрите [9], трансформирующемся в закись азота и молекулярный азот, изотопы серы ^{35}S в сульфате [33], трансформирующемся в сероводород через образование нуль-валентной серы. При моделировании процессов аэробного [26] и анаэробного окисления метана сульфатом [10] наряду с изотопом ^{13}C использовался и изотоп дейтерия ^2H . Однако при этом не учитывалось, что помимо метана могут быть и другие дейтерийсодержащие субстраты.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Любая математическая модель основана на неизбежном упрощении свойств реального объекта. Измерение изотопных переменных позволяет по возможности заглянуть внутрь «черного ящика». При этом математическое описание динамики микробиологических процессов, учитывающее изотопы, может быть довольно сложным, поскольку оно всегда должно опираться на сохранение баланса химических элементов, в том числе их изотопов, и становится оправданным, если при этом открываются новые знания о системе. Совместное описание нелинейной динамики общих и изотопных переменных позволило стандартным способом математически анализировать последовательные и параллельные метаболические пути превращений различных субстратов в природных и техногенных химико-биологических системах.

Показано, что в процессе микробиологической реакции NDAMO, идущей в воде, вследствие кинетического изотопного эффекта происходит изменение доли дейтерия в реагирующих молекулах, при этом субстраты обогащаются дейтерием, а продукт (H_2O) и биомасса им обедняются.

В обобщающей табл. 3 приведены факторы фракционирования соответствующих изотопов для одиннадцати экологических процессов с примечаниями к «механизму» рассматриваемых процессов.

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы признательны В.С. Брезгунову за ценные советы при описании динамики фракционирования стабильных изотопов и Д.С. Ремизову за предложенный метод оценки стехиометрических коэффициентов в использованных химических уравнениях.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа выполнена согласно плану Института водных проблем РАН (номер темы Госзадания ААА-А18-118022090104-8).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с участием людей или животных в качестве объектов исследований.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Э. М. Галимов, *Изотопы углерода в нефтегазовой геологии* (Наука, М., 1973).
2. H. Craig, *Geochim. Cosmochim. Acta*, **12**, 133 (1957).
3. J. W. C. Rayleigh, *Philos. Mag.*, **42**, 493 (1896).
4. A. Mariotti, J. C. Germon, P. Hubert, et al., *Plant and Soil*, **62**, 413 (1981).
5. Л. Меландер и У. Содерс, *Скорости реакций изотопных молекул* (Мир, М., 1983).
6. S. Bakkaloglu, D. Lowry, R. E. Fisher, et al., *Waste Managem.*, **132**, 162 (2021).
7. T. Holler T., G. Wegener, K. Knittel, et al., *Env. Microbiol. Rep.*, **1**, 370 (2009).
8. V. A. Vavilin and S. V. Rytov, *Chemosphere*, **134**, 417 (2015).
9. V. A. Vavilin, L. Y. Lokshina, and S. V. Rytov, *Isotopes in Environmental and Health Studies*, **58**, 44 (2022).
10. V. A. Vavilin, *Env. Dyn. Glob. Climate Change*, **12** (2), (2021). DOI: 10.17816/edgcc58932
11. D. J. Batstone, J. Keller, I. Angelidaki, et al., *Anaerobic Digestion Model No.1 (ADM1)* (IWA Press, Padstow, Cornwall, UK, 2002).
12. Y. Liu, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **73** (6), 1241 (2007).
13. В. А. Вавилин и В. Б. Васильев, *Математическое моделирование процессов биологической очистки сточных вод активным илом* (Наука, М., 1979).
14. O. Rasigraf, C. Vogt, H. H. Richnow, et al., *Geochim. Cosmochim. Acta*, **89**, 256 (2012).
15. V. A. Vavilin and S. V. Rytov, *Ant. Leewenh.*, **104**, 1097 (2013).

16. A.A. Raghoebarsing, A. Pol, K.T. van de Pas-Schoonen, et al., *Nature*, **440**, 918 (2006).
17. K. F. Etwig, M. K. Butler, D. Le Paslier, et al., *Nature*, **464**, 543 (2010).
18. M. F. Costa Gomes and J.-P. Grolier, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **3**, 1047 (2001).
19. M. Knox, P. D. Quay, and D. Wilbur, *Geophys. Res.*, **97** (C12), 20335 (1992).
20. N. A. D. Waser, P. J. Harrison, B. Nielsen, et al., *Limnol. Oceanogr.*, **43** (2), 215 (1998).
21. V. A. Vavilin, S. V. Rytov, and L. Y. Lokshina, *Ecol. Modell.*, **279**, 45 (2014).
22. G. Vidal-Gavilan, A. Folch, N. Otero, et al., *Appl. Geochem.*, **32**, 153 (2013).
23. J. Grossin-Debattista, Docteur these (Universite Bordeaux-1, Bordeaux, France, 2011). http://ori-oai.u-bordeaux1.fr/pdf/2011/GROSSIN-DEBATTIS-TA_JULIEN_2011.pdf
24. V. A. Vavilin and S. V. Rytov, *Isotopes in Environmental and Health Studies*, **53**, 135 (2017).
25. S. Feisthauer, C. Vogt, J. Modrzynski, et al., *Geochim. Cosmochim. Acta*, **75**, 1173 (2011).
26. V. A. Vavilin, S. V. Rytov, N. Shim, and C. Vogt, *Isotopes in Environmental and Health Studies*, **52**, 185 (2016).
27. R. Conrad, M. Noll, P. Claus, et al., *Biogeosciences*, **8**, 795 (2011).
28. V. Vavilin, S. Rytov, and R. Conrad, *Ecol. Modell.*, **363**, 81 (2017).
29. P. Galand., K. Yrjälä, and R. Conrad, *Biogeosciences*, **7**, 3893 (2010).
30. V. A. Vavilin, S. V. Rytov, and L. Y. Lokshina, *Isotopes in Environmental and Health Studies*, **54**, 475 (2018).
31. V. A. Vavilin, S. V. Rytov, and L. Y. Lokshina, *Ecol. Modell.*, **386**, 59 (2018).
32. C. Deusner, T. Holler, G. L Arnold, et al., *Earth Planet. Sci. Lett.*, **399**, 61 (2014).
33. V. A. Vavilin, L. Y. Lokshina, and S. V. Rytov, *Wat. Sci. Technol.*, **79** (11), 2056 (2019).
34. L. Y. Lokshina, V. A. Vavilin, Y. Litti, et al., *Wat. Resour.*, **46** (Suppl.), S110 (2019).

Application of the Basic Isotope Equations for Description of the Dynamics of Microbiological Processes: Deuterium Redistribution

V.A. Vavilin* and L.Y. Lokshina*

**Water Problems Institute, Russian Academy of Sciences, ul. Gubkina 3, Moscow, 119333 Russia*

Basic equations used to describe isotope dynamics that take into account the retention of deuterium equilibrium, were helpful in two laboratory experiments for analyzing the dynamics of nitrite-dependent anaerobic methane oxidation (NDAMO) at different initial concentrations of the substrates and deuterium isotope variables. Notably, in the second experiment, the initial amount of water in a closed vessel was reduced to about 2.8 times. Methane is completely consumed but nitrite ions are still present in excessive amounts at the end of the first experiment, while methane is present but nitrite ions are completely exhausted at the end of the second experiment. In the model, concentrations of the substrates containing a single deuterium atom (CH_4 and NH_4^+), concentration of the product (H_2O), and concentration of the biomass of methanotrophic microorganisms ANME ($\text{C}_5\text{H}_7\text{NO}_2$) are taken as isotope variables. Stoichiometric reaction equations are derived to describe the redistribution of deuterium between the reaction substrates, product (water), and biomass. The isotope fractionation is shown to proceed in the course of a microbiological reaction in water. As a result, the substrates become enriched in deuterium, as water and biomass become depleted of deuterium. In the first experiment accompanied by a slight drop in the content of deuterium in biomass and water, the fractionation process ends after $t \geq 17$ h. In the second experiment, the content of deuterium in water and biomass decreases significantly and fractionation ends after $t \geq 140$ h. This is due to the dilution of the water in the vessel with the deuterium-depleted water generated by the NDAMO process. This paper also provides a summary of the results of our study on the modeling of the dynamics of eleven biological processes, in which mainly stable carbon isotopes have been measured, based on the information gathered in a longitudinal study. The isotope fractionation factors used in the simulation are presented.

Keywords: dynamics of ecological processes, kinetic isotope effect, basic isotope equations, serial and parallel reactions