

ЭКОМАТМОД-2017
Пушино-на-Оке, 16-20 октября, 2017г.

**М о д е л и р о в а н и е
м е т а б о л и ч е с к и х п у т е й
п р о ц е с с о в о б р а з о в а н и я и
о к и с л е н и я м е т а н а с п о м о щ ь ю
с т а б и л ь н ы х и з о т о п о в**

В. А. В а в и л и н

И н с т и т у т в о д н ы х п р о б л е м Р А Н
р а б о т а п о д д е р ж а н а г р а н т о м Р Н Ф (п р о е к т N 17-17-01204)

АННОТАЦИЯ

Динамика фракционирования стабильных изотопов является следствием динамики химических и биологических процессов. Процессы формирования метана и его окисления протекают как в водной толще, так и в почве и донных отложениях, а поступающий в атмосферу метан, влияет на общий температурный баланс в биосфере. Перераспределение стабильных изотопов позволяет уточнить метаболический путь утилизации субстратов и определить соответствующие кинетические параметры.

Введение

Любое вещество состоит из химических элементов. Один и тот же элемент может содержать различное количество нейтронов в ядре. Эти разновидности элементов, обладающие одинаковыми химическими свойствами, называли изотопами. Химические элементы углерода (C), азота (N), серы (S), водорода (H) и кислорода (O), важные для биологических систем, имеют более одного стабильного изотопа.

Фактически, любое вещество в действительности представлено в виде набора этих веществ с разными стабильными изотопами. Кинетический изотопный эффект заключается в изменении скорости химической реакции при замене в молекуле реагирующего вещества какого-либо атома его изотопом. Поскольку в веществе 'тяжелого' изотопа много меньше, чем 'легкого', отношение изотопов обычно выражается через установленные международные стандарты в промилях (‰)

$$\delta [‰] = 10^3 \left(\frac{R}{R_{std}} - 1 \right)$$

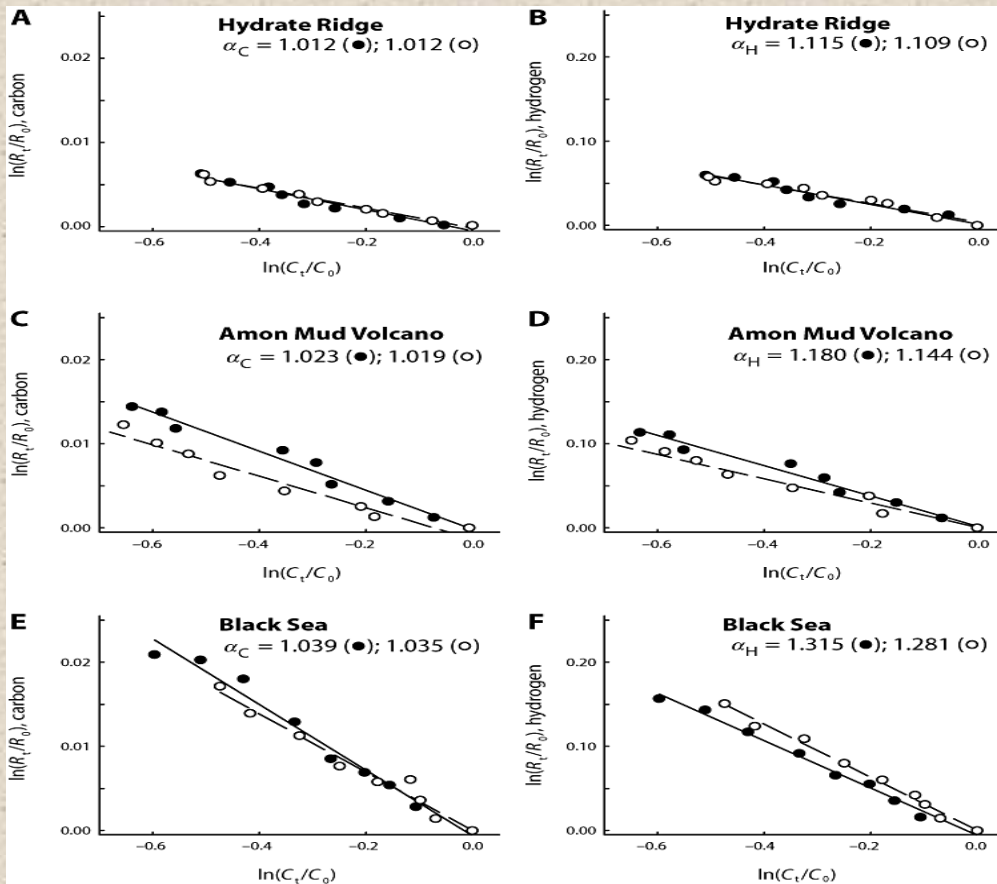
где R и R_{std} соотношения изотопов в образце и стандарте.

Уравнение Релея, изначально предложенное для описания разделения смеси газов, применяется и для вычисления фракционирования (разделения) стабильных изотопов:

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

где R_0 , R_t , S_0 , S_t - отношение изотопов в субстрате и сами концентрации субстратов в начале реакции и в момент t , соответственно; α - коэффициент фракционирования изотопов между субстратом и продуктом в закрытой и полностью перемешиваемой системе. Уравнение Релея традиционно выводится, допуская справедливость реакции 1-го порядка по концентрации субстрата с легким и тяжелым изотопом. Реакция для субстрата с легким изотопом идет несколько быстрее, чем реакция с тяжелым изотопом. В ходе реакции величина $\alpha = k_{\text{light}}/k_{\text{heavy}}$, равная отношению констант скоростей реакции 1-го порядка для субстрата с легким и тяжелым изотопом, с хорошей точностью может считаться постоянной, что привело к общепринятому мнению о распространенности реакций 1-го порядка в изотопных превращениях. Однако, уравнение Релея, широко цитируемое в литературе, фактически, не описывает динамику системы.

Величина α определяется по наклону прямой линии, полученной в двойных логарифмических координатах, следующих из уравнения Релея. В ходе реакции величина α с достаточной точностью может считаться постоянной, что привело к общепринятому мнению о распространенности реакций 1-го порядка в изотопных превращениях.



Анаэробное окисление метана
 обогащенным микробным сообществом
 донных отложений (Holler et al., 2009)

Линейная регрессия из уравнение
 Релея

$$\ln \frac{\delta_t + 1000}{\delta_0 + 1000} = (1/\alpha - 1) \ln \left(\frac{C_t}{C_0} \right)$$

Допуская, что концентрация субстрата с легким изотопом много больше концентрации субстрата с тяжелым изотопом, динамика субстрата с более тяжелым изотопом может быть выражена через нелинейную динамику концентрации общего субстрата:

$$\frac{dS^h}{dt} \approx - \frac{S^h}{S} \frac{1}{\alpha} \frac{dS}{dt}$$

где S^h/S является долей субстрата с тяжелым изотопом в общем субстрате.

Таким образом, из уравнений для обычных переменных, не рассматривающих изотопы, можно записать уравнения для переменных, содержащих более тяжелые изотопы.

Общий подход к описанию динамики перераспределения изотопов в ходе химических и биологических процессов

$$\frac{dS}{dt} = -\rho(S, B)$$

Уравнения для обычных переменных

$$\frac{dP}{dt} = (1-Y)\rho(S, B)$$

S : субстрат P : продукт B : биомасса

$$\frac{dB}{dt} = Y\rho(S, B)$$

$$\frac{d^{heavy}S}{dt} = -\frac{^{heavy}S}{S} \frac{1}{\alpha} \rho(S, B)$$

Уравнения для ‘тяжелых’ переменных

$$\frac{d^{heavy}P}{dt} = \frac{^{heavy}S}{S} (1-Y) \frac{1}{\alpha} \rho(S, B)$$

$^{heavy}S$, $^{heavy}P$, $^{heavy}B$ – “тяжелые” субстрат, продукт и биомасса

$$\frac{d^{heavy}B}{dt} = \frac{^{heavy}S}{S} \frac{1}{\alpha} \frac{dB}{dt}$$

Y - экономический коэффициент, отражающий прирост биомассы

$$\rho(S, B) = \frac{\rho_m B S}{K_S + S}$$

Зависимость Моно

ρ_m Максимальная удельная скорость потребления субстрата

$$\mu_m = Y\rho_m$$

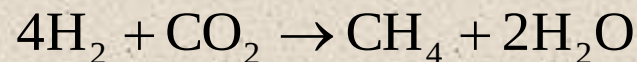
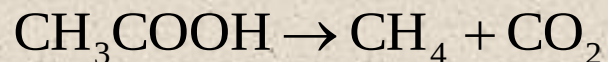
Максимальная удельная скорость роста биомассы

МЕТАНИЗАЦИЯ ЦЕЛЛЮЛОЗЫ

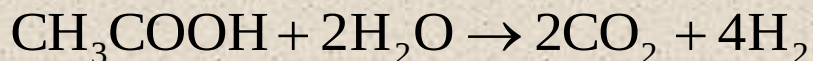
Целлюлоза является основным разлагаемым компонентом в естественных экосистемах. В ходе метаногенеза целлюлозного материала участвуют многочисленные микроорганизмы, осуществляющие деполимеризацию, медленный гидролиз и быстрый ферментативный кислотогенез.



Далее следуют ацетогенез и метаногенез. Основными субстратами для ацетокластических и гидрогенотрофных метаногенных микроорганизмов являются ацетат и водород/диоксид углерода:



При повышенной температуре может идти синтрофное окисление ацетата, спаренное с водородотрофным метаногенезом, когда ацетат предварительно окисляется до H_2 и H_2CO_3 , а образующийся водород переходит в метан



При пониженной температуре может идти обратный процесс превращения H_2 и H_2CO_3 в ацетат (гомоацетогенез)



Для определения доминирующего пути образования метана, вводя кажущийся коэффициент фракционирования изотопов углерода, часто используется следующее приближенное соотношение (Whiticar 1999)

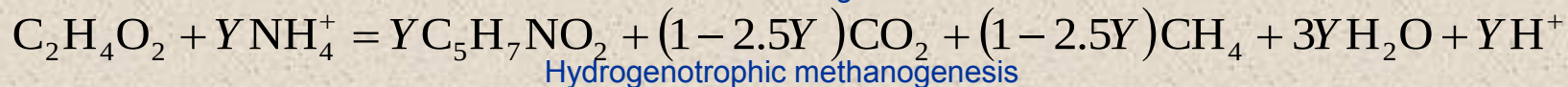
$$\alpha_c^{app} = \frac{\delta^{13}\text{C}_{\text{CO}_2} + 1000}{\delta^{13}\text{C}_{\text{CH}_4} + 1000}$$

Традиционно считается, что $\alpha_c^{app} > 1.065$ свидетельствует о водородотрофном метаногенезе, а $\alpha_c^{app} < 1.055$ об ацетокластическом метаногенезе. Нами показано, что эти оценки могут быть неправильными, если в микробной системе идут параллельные пути утилизации субстрата, а именно, ацетокластический метаногенез и окисление ацетата, конкурирующих за ацетат (1), водородотрофный метаногенез и гомоацетогенез, конкурирующих за водород (2). При этом важным фактором становится разница

$$\Delta = \delta^{13}\text{CH}_4 - \delta^{13}\text{CO}_2$$

Стехиометрические уравнения с учетом образования биомассы, описывающие ацетокластический и водородотрофный метаногенез и синтрофное окисление ацетата:

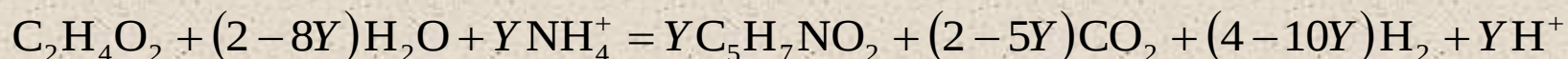
Acetoclastic methanogenesis



Hydrogenotrophic methanogenesis



Acetate oxidation



где Y – экономический коэффициент, описывающий переход субстрата в биомассу; $C_5H_7NO_2$ – формула биомассы

Функции Моно для описания биологических процессов:

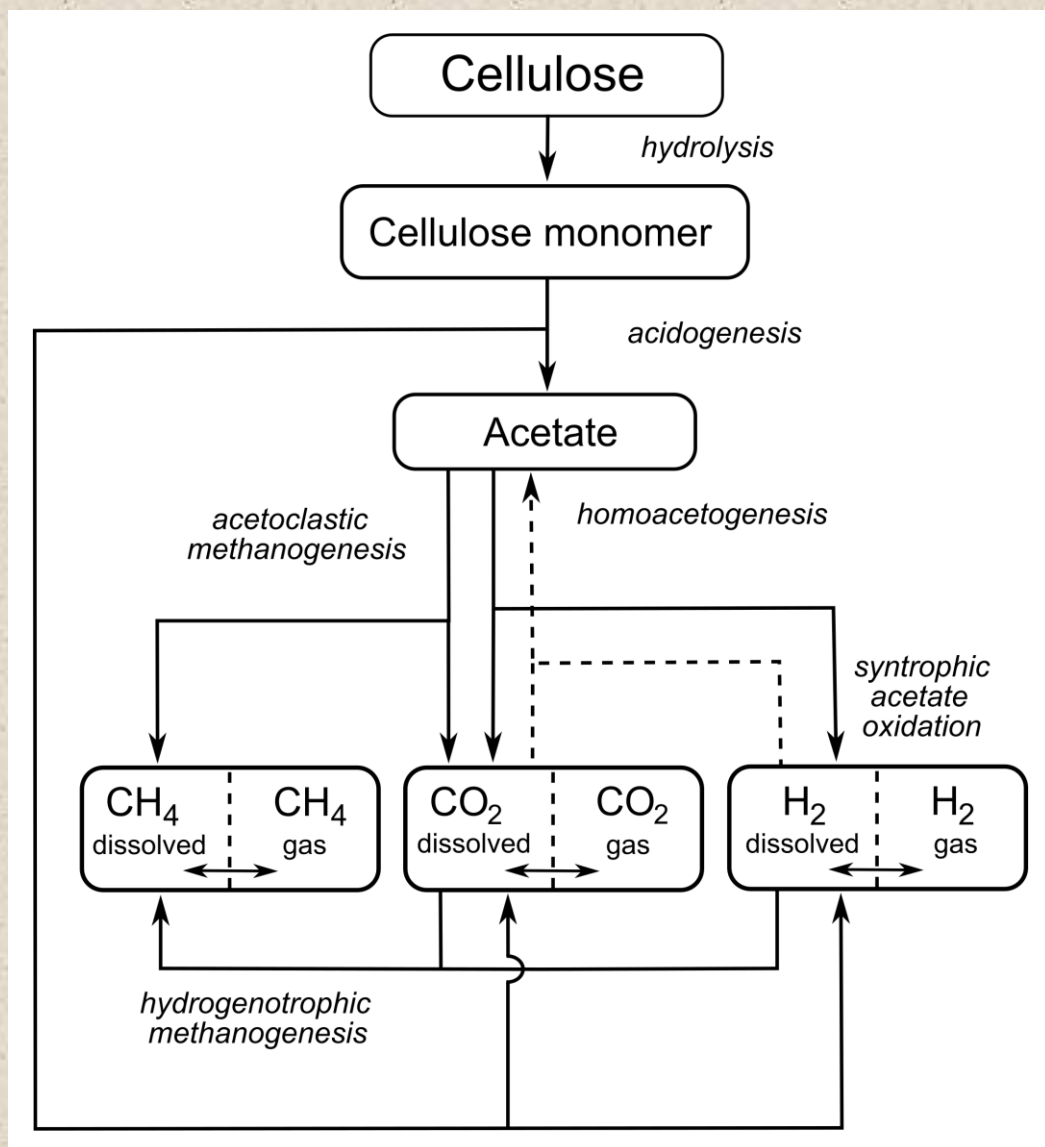
$$\rho_{Acetocl} = \rho_{mAcetocl} B_{Acetocl} \frac{Ac}{K_{Ac} + Ac}$$

$$\rho_{meth}^{H_2/CO_2} = \rho_{meth}^{H_2/CO_2} B_{H_2-meth} \frac{H_2}{K_{H_2} + H_2} \frac{CO_2}{K_{CO_2} + CO_2}$$

$$\rho_{AcOx} = \rho_{mAcOx} B_{AcOx} \frac{Ac}{K_{Ac-AcOx} + Ac}$$

где $\rho_{Acetocl}$, $\rho_{mAcetocl}$, ρ_{AcOx} , ρ_{mAcOx} - скорости и максимальные удельные скорости превращения ацетата в продукты реакции в ходе ацетокластического метаногенеза и окисления ацетата; $\rho_{meth}^{H_2/CO_2}$, $\rho_{m meth}^{H_2/CO_2}$ скорость и максимальная удельная скорость водородотрофного метаногенеза; K – соответствующие константы полунасыщения; B – концентрации ацетокластических и водородотрофных метаногенов и бактерий, окисляющих ацетат.

Схема превращения целлюлозы в метан в донных отложениях озер



Согласно закону Генри, скорость массообмена TR между растворенной и газообразной формами метана, диоксида углерода и водорода рассматривались в виде:

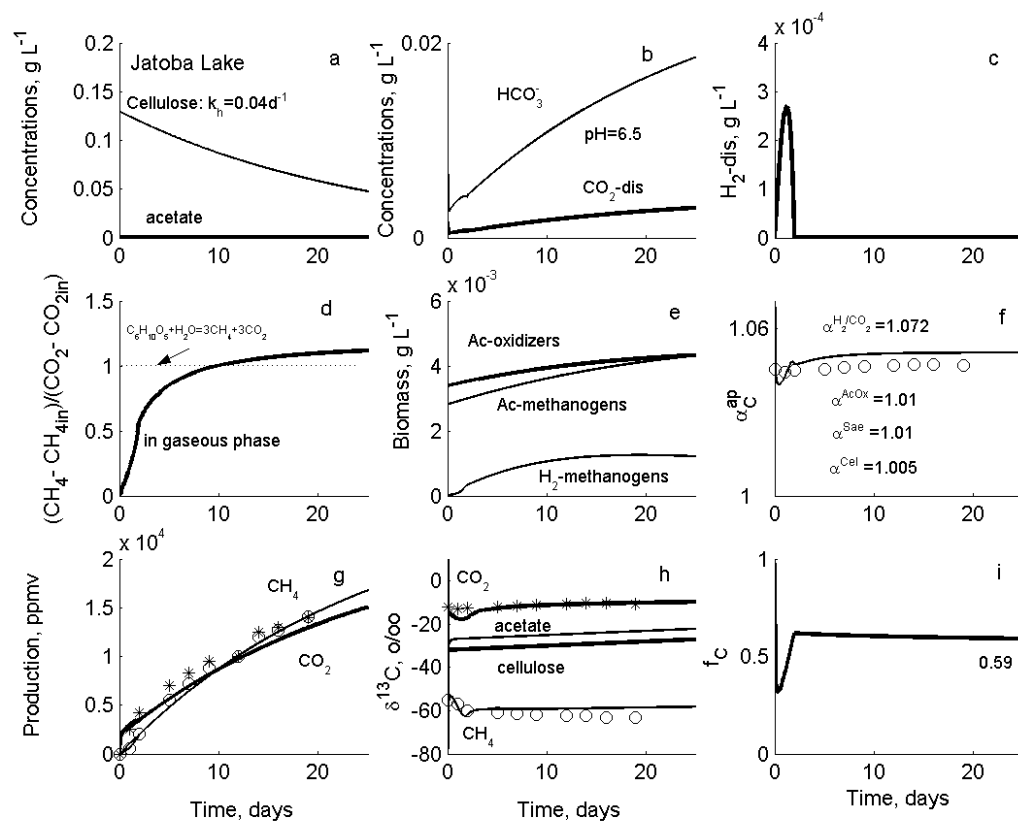
$$TR = K_L \cdot (k_H P - S)$$

где S – текущая концентрация растворенного газа; K_L – коэффициент массообмена; P – парциальное давление газа; k_H – константа Генри.

Биологические превращения происходят в воде !

Тропическое озеро ЈАТОВА : учтено окисление ацетата

Согласно модели, коэффициент фракционирования изотопа углерода ^{13}C в процессе водородотрофного метаногенеза является умеренным (1.07) и не противоречит современным представлениям. Доминирует водородотрофный метаногенез



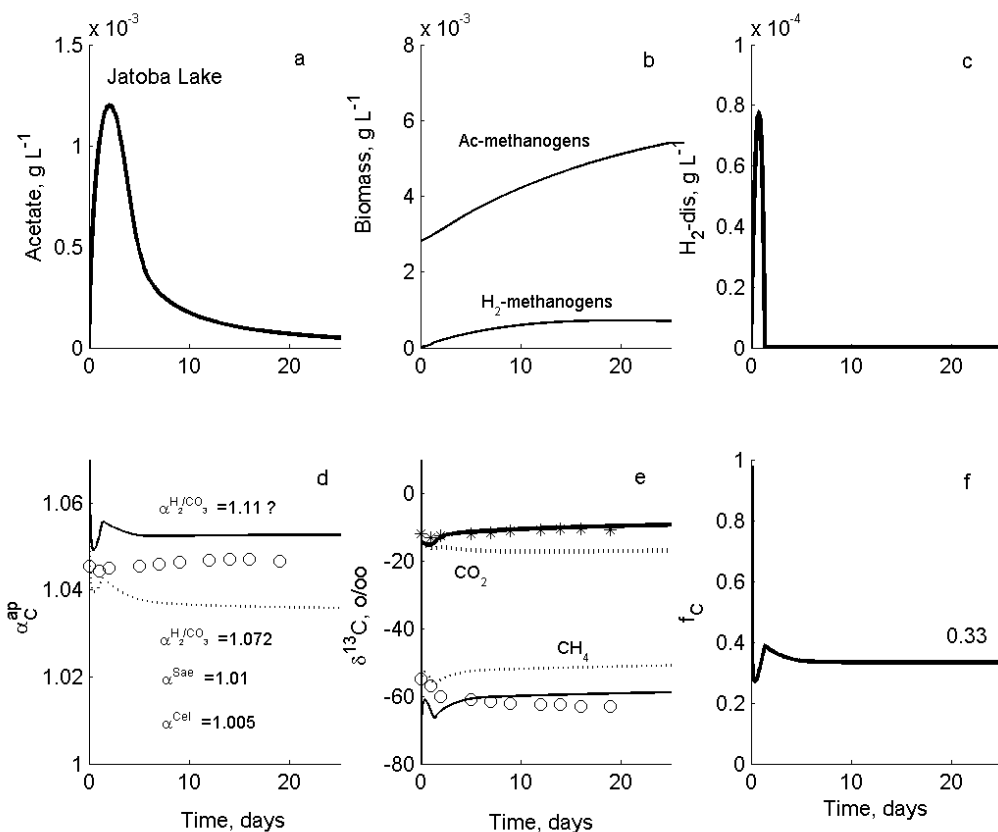
f_c – отношение
водородотрофного и
ацетокластического
метаногенеза

Данные: Conrad et al., 2011

Модель: Vavilin et al., 2017

Тропическое озеро JАТОВА : синтрофное окисление ацетата не рассматривается

Согласно модели, для описания экспериментальных данных коэффициент фракционирования изотопа углерода ^{13}C в процессе водородотрофного метаногенеза должен быть очень высоким (1.11), что противоречит современным представлениям. При этом соотношение метаногенеза из H_2/CO_2 и ацетата составляет 2:1



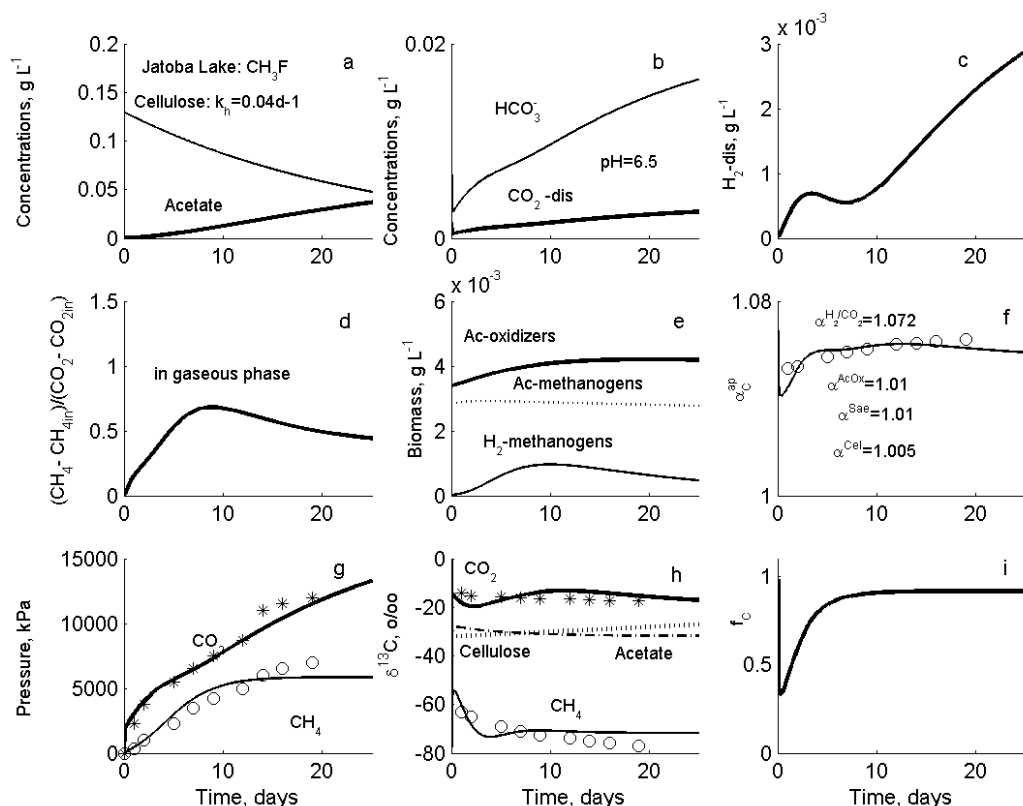
$f_C = 0.33$ – классическое
соотношение
водородотрофного и
ацетокластического
метаногенеза

Данные: Conrad et al., 2011

Модель: Vavilin et al., 2017

Тропическое озеро JАТОВА : добавлен CH_3F для сильного торможения ацетокластического метаногенеза. В итоге, доминирование водородотрофного метаногенеза значительно увеличилось (рис i)

В модели учтено слабое ингибирование окисления ацетата и водородотрофного метаногенеза

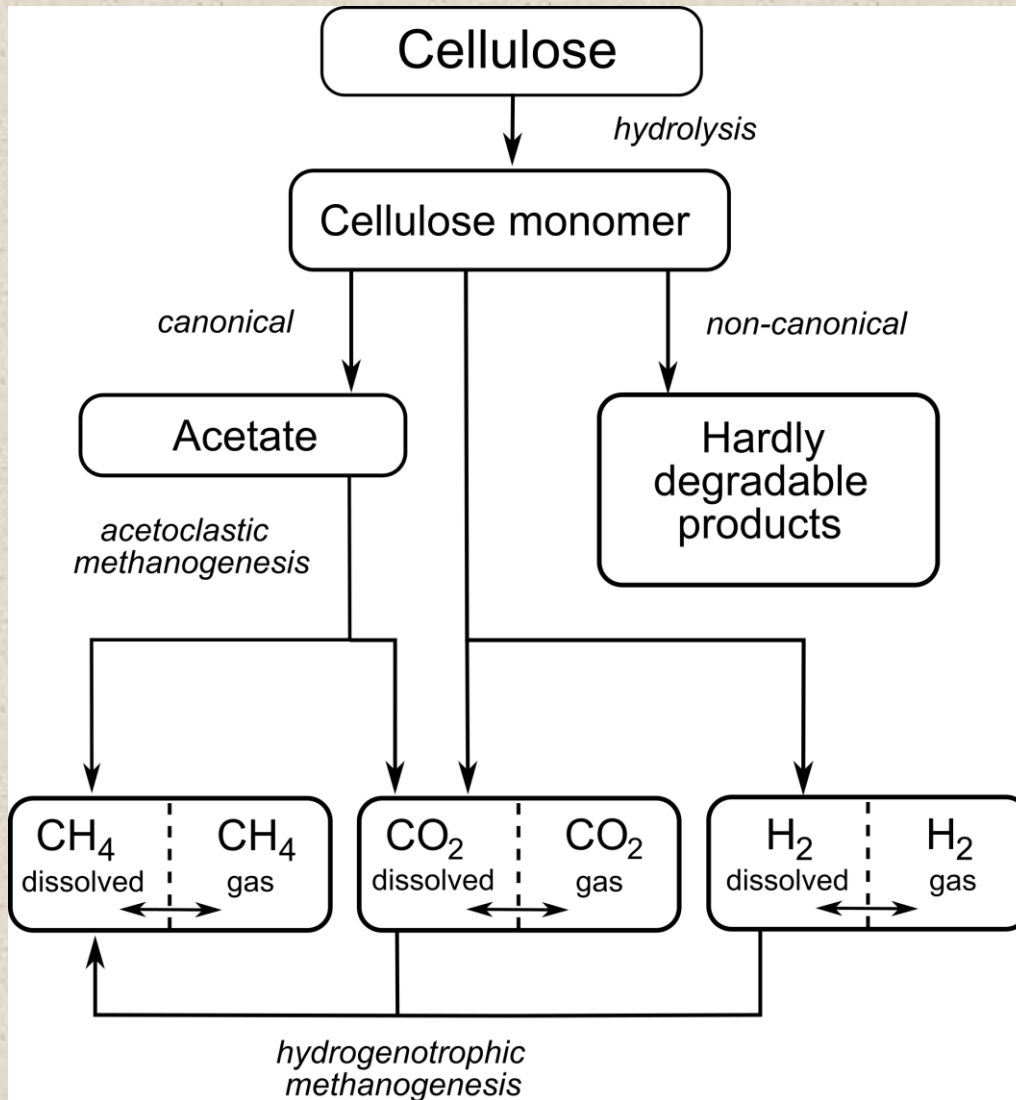


f_C – отношение водородотрофного и ацетокластического метаногенеза

Данные: Conrad et al., 2011

Модель: Vavilin et al., 2017

Схема превращения целлюлозы в метан в болотах



Согласно закону Генри, скорость массообмена TR между растворенной и газообразной формами метана, диоксида углерода и водорода рассматривались в виде:

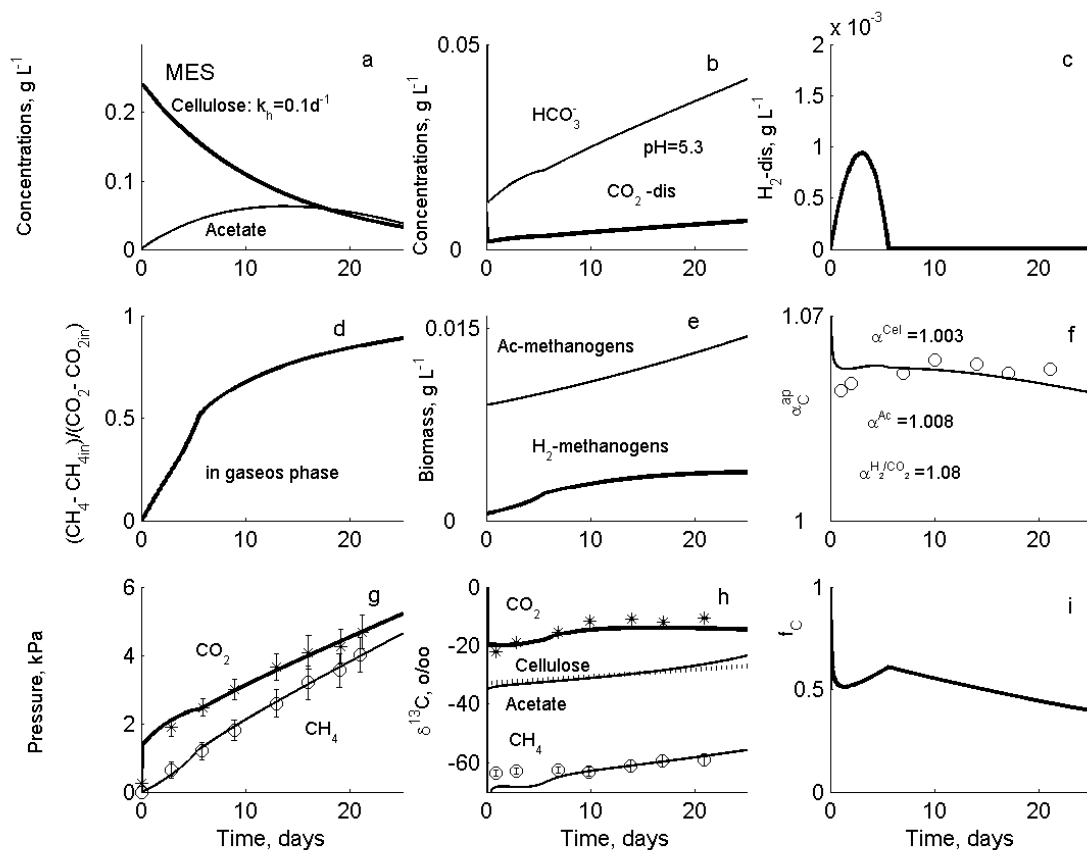
$$TR = K_L \cdot (k_H P - S)$$

где S – текущая концентрация растворенного газа; K_L – коэффициент массообмена; P – парциальное давление газа; k_H – константа Генри.

Биологические превращения происходят в воде !

Мезотрофное болото: канонический путь метанизации целлюлозы

Согласно модели, после разложения целлюлозы соотношение образовавшегося метана из H_2/CO_2 к метану, образовавшемуся из ацетата, будет 1/3



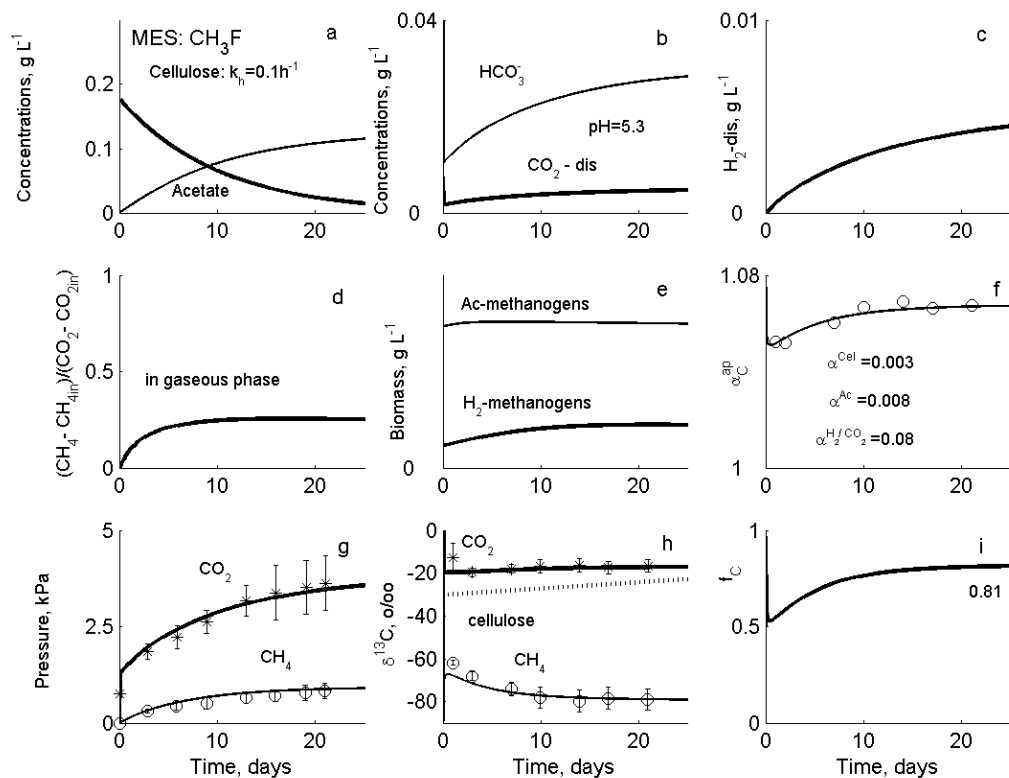
Данные: Galand et al., 2010

Модель: Vavilin, Rytov
(submitted)

Мезотрофное болото: канонический путь метанизации целлюлозы

Введение CH_3F ингибирует процесс образования метана из ацетата. В итоге, доминирующим путем образования метана становится водородотрофный метаногенез (рисунок i)

Ацетат и водород накапливаются в системе.



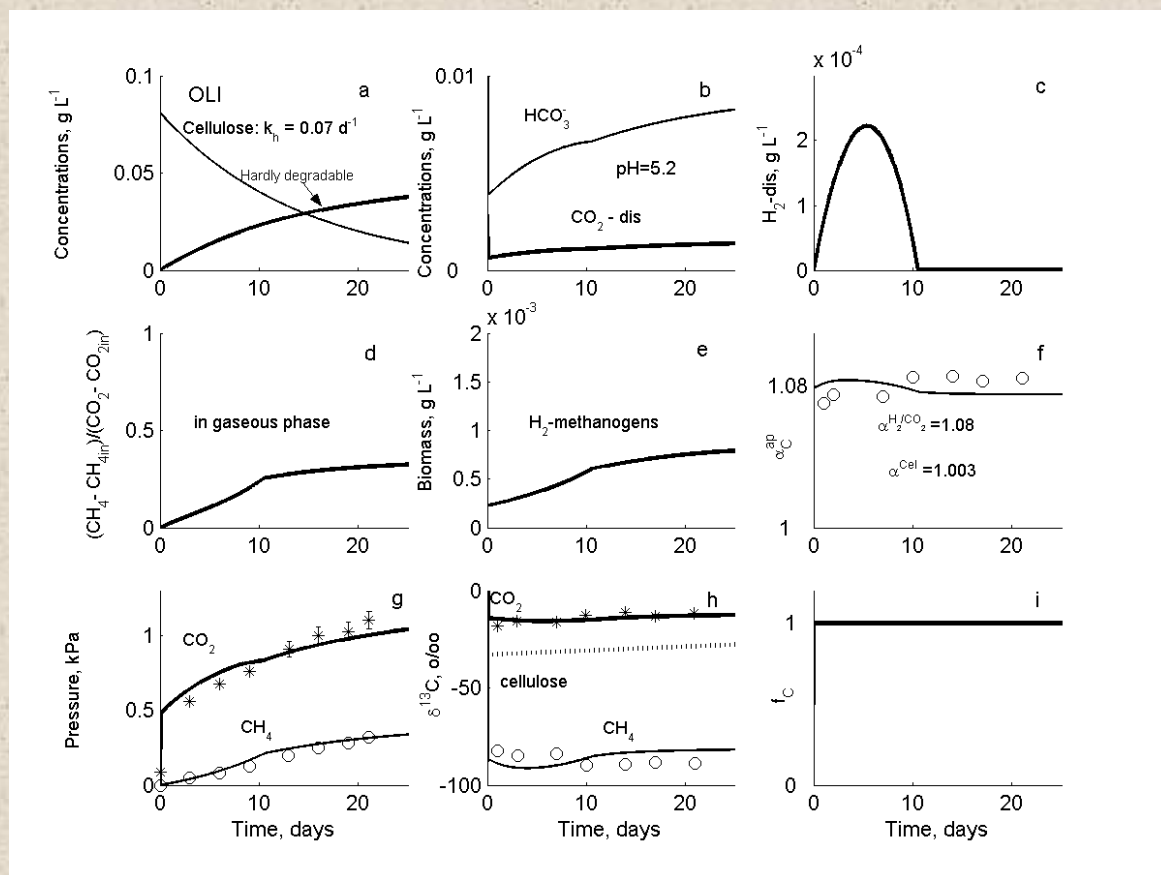
Данные: Galand et al., 2010

Модель: Vavilin, Rytov
(submitted)

Олиготрофное болото: неканонический путь метанизации целлюлозы

Согласно модели, в процессе разложения целлюлозы образуются трудно-разлагаемые вещества. Количество образующегося метана гораздо меньше, чем при каноническом разложении целлюлозы.

Идет исключительно метаногенез из H_2/CO_2 . Кажущийся коэффициент фракционирования углерода (рисунок f) совпадает с коэффициентом фракционирования для водородотрофного метаногенеза (1.08)



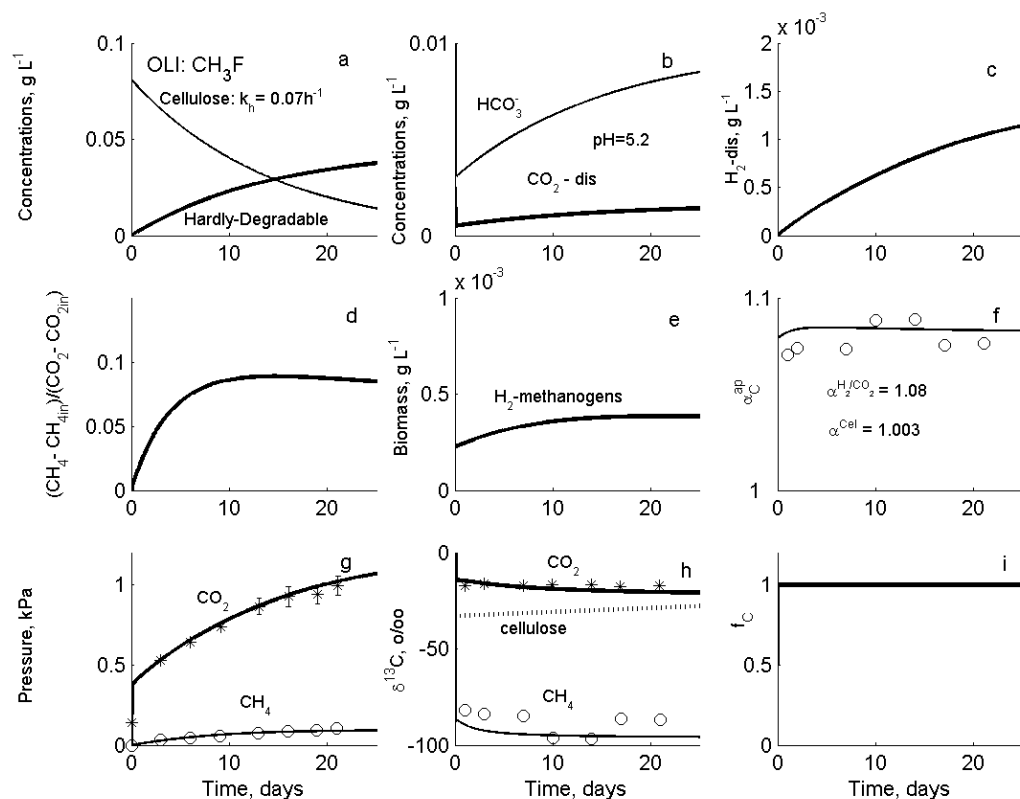
Данные: Galand et al., 2010

Модель: Vavilin, Rytov
(submitted)

Олиготрофное болото: неканонический путь метанизации целлюлозы

Введение CH_3F ингибирует процесс образования метана из H_2/CO_2 . В итоге, количество образовавшегося метана становится существенно меньше, чем без добавки ингибитора CH_3F .

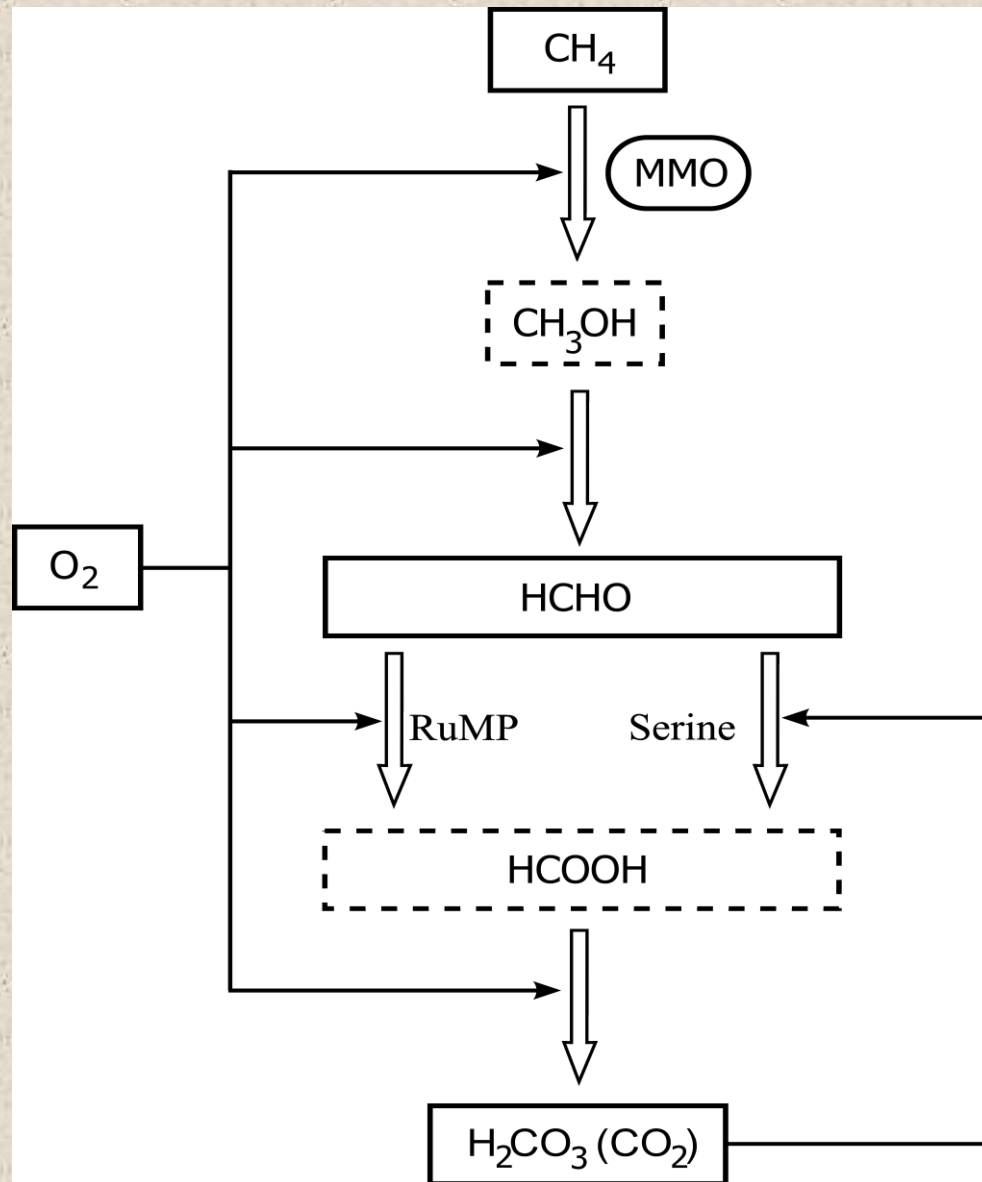
Кажущийся коэффициент фракционирования углерода совпадает с коэффициентом фракционирования для водородотрофного метаногенеза (1.08) (рисунок f)



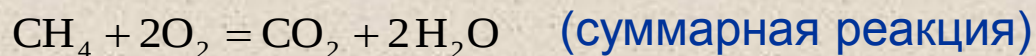
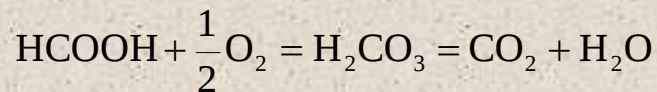
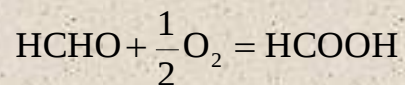
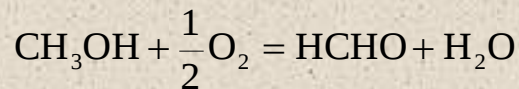
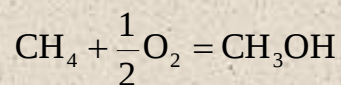
Данные: Galand et al., 2010

Модель: Vavilin, Rytov
(submitted)

Схема метаболического пути аэробного окисления метана

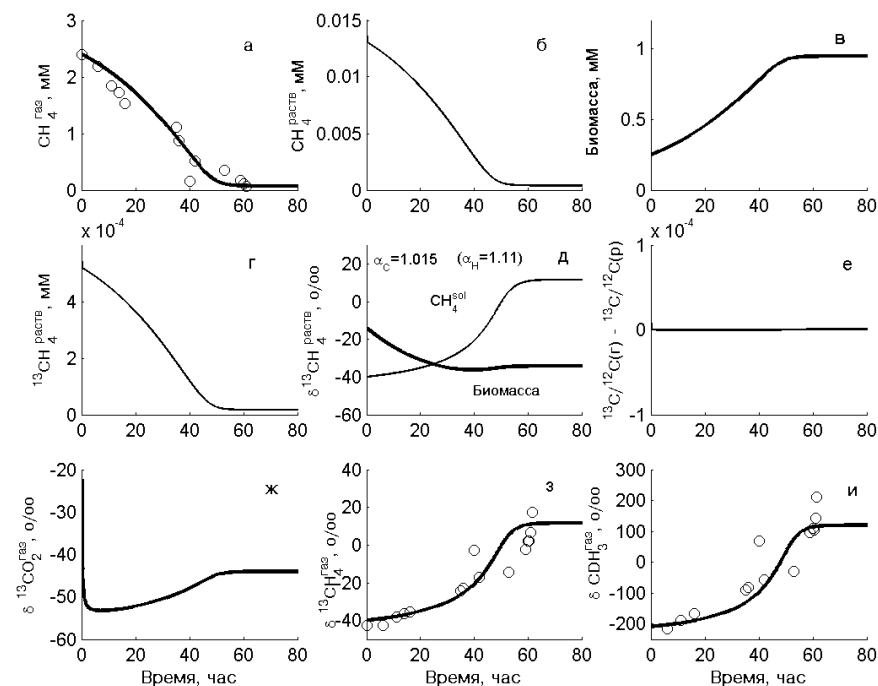


Процесс аэробного окисления метана разными метан-окисляющими микроорганизмами или метанотрофами может протекать по двум биохимическим путям: сериновому и рибулезо-монофосфатному (RuMP). По сериновому метаболизму скорость роста биомассы зависит от конечного продукта окисления метана. Согласно химическому пути, предложенному в статье (Templeton et al., 2006), в процессе окисления метана идет образование промежуточных продуктов, а именно метанола, формальдегида и муравьиной кислоты:



Эти реакции описывают рибулезо-монофосфатный путь окисления метана (RuMP).

Аэробное окисление метана сопровождается сильным фракционированием стабильных изотопов углерода и водорода, приводя к обогащению изотопов в остающемся метане. Процесс аэробного окисления метана метан-окисляющими микроорганизмами может протекать по двум биохимическим путям: сериновому и рибулезо-монофосфатному. В основе нелинейной математической модели, описывающей физический процесс растворения метана, динамику роста микроорганизмов и потребления метана, лежит баланс общего углерода С и 'тяжелого' углерода ^{13}C в системе. На рисунке показано рибулезо-монофосфатное окисление метана. Отношение $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ одинаково в газе и воде (рисунок 'е')



Скорость растворения 'тяжелого' метана (быстрая стадия) подстраивается под скорость его окисления микроорганизмами. Учет фракционирования изотопов углерода в ходе микробиологического окисления метана позволяет получить одинаковые отношения изотопов в газовой и жидкой фазах. Если не рассматривать процесс фракционирования изотопов в ходе микробиологического окисления метана, отношения изотопов в газовой и жидкой фазах будут сильно отличаться, что противоречит эксперименту

Данные: Rasigraf et al., 2012
Модель: Vavilin et al., 2016

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Динамические модели, включающие дополнительные изотопные переменные, являются эффективным инструментом исследования экологических систем.

Динамика перераспределения стабильных изотопов от субстрата к продуктам позволяет определить доминирующий путь процессов образования и окисления метана в природных экосистемах

Благодарю за внимание