

KINETIC ISOTOPIC EFFECT: STATIC RAYLEIGH EQUATION AND BASIC DYNAMIC ISOTOPE EQUATION FOR THE SUBSTRATE IN THE DESCRIPTION OF NITRITE-DEPENDENT ANAEROBIC OXIDATION OF METHANE

V.A. Vavilin

Water problems institute RAS, st. Gubkina 3, Moscow, 119333, Russia

Corresponding author: V.A. Vavilin, e-mail: vavilin@iwp.ru

Citation: Vavilin V.A. 2021. Kinetic isotopic effect: static Rayleigh equation and basic dynamic isotope equation for the substrate in the description of nitrite-dependent anaerobic oxidation of methane // Environmental Dynamics and Global Climate Change. V. 12. No. 2. P. 51–58. DOI: <https://doi.org/10.17816/edgcc58932>

Text of the article in Russian: <https://edgccjournal.org/EDGCC/article/view/58932>

The article analyzes the results of modeling the dynamics of nitrite-dependent methane oxidation (N-DAMO) by *Methylomirabilis oxyfera* microorganisms using the standard isotope dynamic equations. Without specifying a specific function of the rate of the process, the traditional static Rayleigh equation is derived from the basic dynamic isotope equation. Thus, the equation of the 1st order in terms of the substrate is only a special case in the derivation of the Rayleigh equation. It was shown that the dominant fractionation of carbon isotopes occurs in the process of the microbiological reaction of anaerobic oxidation of methane by nitrite, and not in the physical process of mass transfer of dissolved methane into the gas phase. In contrast to the static Rayleigh equation, the dynamic description of the process of fractionation of stable isotopes is important when describing the parallel transformations of the substrate.

Keywords: kinetic isotope effect, static Rayleigh equation, basic dynamic isotope equation, N-DAMO process

ВВЕДЕНИЕ

Углекислый газ и метан являются доминирующими парниковыми газами, а понимание механизмов, влияющих на их образование — необходимый элемент для перехода от локальных к глобальным оценкам их эмиссии в атмосферу [Bridgeham et al., 2013]. Отношение стабильных изотопов углерода $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ как в метане, так и углекислом газе могут свидетельствовать о климатических изменениях Земли [Hornibrook et al., 2000; Elsig et al., 2009; Bauska et al., 2016]. Одновременное протекание процессов образования и окисления метана определяет суммарную величину $\delta^{13}\text{C}-\text{CH}_4$. При этом существенную роль играет и величина $\delta^{13}\text{C}-\text{CO}_2$.

В изотопных исследованиях обычно рассматривают два основных типа изотопных эффектов — термодинамические и кинетические [Галимов, 1973]. Разделение изотопов в равновесных условиях, вызванное различием энергетических состояний молекул, содержащих разные изотопы, называют термодинамическим изотопным эффектом. Кинетический изотопный эффект заключается в изменении скорости химических, биологических и физических процессов при замене в молекуле реагирующего вещества какого-либо атома его изотопом.

Предлагаемый ниже подход опирается на уравнения формальной химической кинетики. В основе моделирования с использованием

стандартных изотопных динамических уравнений лежит совместное описание процессов, в которых изотопные уравнения не рассматриваются и изотопных уравнений. Предложенная в статье модель N-DAMO показала, что доминирующее фракционирование изотопов углерода происходит в процессе микробиологической реакции анаэробного окисления метана нитритом, а не в физическом процессе массопередачи газообразного метана в воду.

УРАВНЕНИЕ РЕЛЕЯ

В природе величина отношения стабильных изотопов углерода $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ составляет малую величину, порядка 0,01, и в этом случае она традиционно определяется при помощи разницы отношений $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ в исследуемом образце и стандарте, которые выражаются в про-миллях (тысячных долях). За стандарт Pee Dee Belemnite (PDB) берется отношение $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ в окаменелости моллюска *Belemnitella americana* из формации Пи-Ди, Южная Каролина, США, которая отличается высоким содержанием ^{13}C [Craig, 1957; Галимов, 1968]:

$$\delta^{13}\text{C}(\text{‰}) = \left[\frac{\left(\frac{^{13}\text{C}}{^{12}\text{C}} \right)_{\text{обр}}}{\left(\frac{^{13}\text{C}}{^{12}\text{C}} \right)_{\text{PDB}}} - 1 \right] \times 1000 \quad (1)$$

где величина $\delta^{13}\text{C}$ называется изотопной сигнатурой (signature). Концентрационные изменения более тяжелых изотопов в субстрате в ходе химико-биологических превращений, как правило, малы.

Уравнение Релея [1896], изначально предложенное для описания диффузии газов, обычно применяется и для вычисления фактора фракционирования (разделения) стабильных изотопов [Mariotti et al., 1981; Hornibrook et al., 2000; Holler et al., 2009; Galand et al., 2010; Conrad et al., 2011]:

$$\frac{R_t}{R_0} = \left(\frac{S_t}{S_0} \right)^{\frac{1}{\alpha} - 1} \quad (2)$$

где R_0 и R_t — отношение тяжелого и легкого стабильных изотопов в субстрате в момент времени 0 и t , соответственно; S_0 и S_t — начальная и текущая концентрации субстрата; α — фактор фракционирования стабильных изотопов между субстратом и продуктом в закрытой и полностью перемешиваемой системе. Величина α определяется по наклону прямой линии [Mariotti et al., 1981], полученной в двойных логарифмических координатах, следующих из уравнения Релея:

$$\ln \frac{\delta_t + 1000}{\delta_0 + 1000} = (1/\alpha - 1) \ln \left(\frac{S_t}{S_0} \right). \quad (3)$$

где δ_0 и δ_t соответствуют началу реакции $t = 0$ и текущему времени с характерными величинами факторов фракционирования стабильных изотопов α .

Рассмотрим для концентрации субстрата систему 2-х уравнений первого порядка для более легкого ^lS и более тяжелого ^hS субстратов:

$$\begin{cases} \frac{d^l\text{S}}{dt} = -k \cdot ^l\text{S} \\ \frac{d^h\text{S}}{dt} = -\frac{1}{\alpha} k \cdot ^h\text{S} \end{cases} \quad (4)$$

где константа скорости уменьшения концентрации субстрата 1-го порядка с более тяжелым изотопом $k_h = k/\alpha$ ($\alpha > 1$) будет несколько меньше, чем для общего субстрата, где изотопы не разделяются.

Решения обоих уравнений будут:

$$\begin{cases} ^l\text{S}_t = ^l\text{S}_0 \cdot e^{-k \cdot t} & \text{или} & \ln(^l\text{S}_t/^l\text{S}_0) = -k \cdot t \\ ^h\text{S}_t = ^h\text{S}_0 \cdot e^{-k/\alpha \cdot t} & \text{или} & \ln(^h\text{S}_t/^h\text{S}_0) = -k/\alpha \cdot t \end{cases} \quad (5)$$

Разделив 1-е уравнение на 2-е уравнение, для фактора фракционирования изотопов α получим:

$$\frac{\ln(^l\text{S}_t/^l\text{S}_0)}{\ln(^h\text{S}_t/^h\text{S}_0)} = \alpha. \quad (6)$$

Отсюда

$$\ln(^h\text{S}_t/^h\text{S}_0)^\alpha = \ln(^l\text{S}_t/^l\text{S}_0) \quad (7)$$

или

$$^h\text{S}_t/^h\text{S}_0 = (^l\text{S}_t/^l\text{S}_0)^{1/\alpha}. \quad (8)$$

Делим правую и левую часть уравнения на $^l\text{S}_t/^l\text{S}_0$ и, полагая, что концентрация более легкого и общего субстратов $^l\text{S} \approx \text{S} = ^l\text{S} + ^h\text{S}$ с большой точностью равны, получаем традиционное уравнение Релея (2):

$$\frac{^h\text{S}_t}{^l\text{S}_t} = \left(\frac{^h\text{S}_0}{^l\text{S}_0} \right)^{\left(\frac{1}{\alpha} - 1 \right)} \quad (9)$$

К настоящему времени, уравнение Релея (2) в изотопной литературе процитировано тысячи раз. Часто, цитирование самой работы не происходит, а упоминается лишь имя Релея. Для описания изотопного эффекта обычно предполагается химическая кинетика 1-го порядка по концентрации субстрата S , где кинетический коэффициент меньше у субстрата с более тяжелым изотопом. Традиционно, уравнением 1-го порядка и обосновывается применимость уравнения Релея. Используя линейную регрессию (3) легко найти фактор фракционирования α , который при этом считается величиной постоянной. Вместе с тем, эта величина может не быть характеристикой изучаемого процесса. Так, Холлер и др. [Holler et al., 2009] пришли к выводу, что не существует удовлетворительного объяснения значительного разброса факторов фракционирования стабильных изотопов в различных донных отложениях морей (углерод: 1,012–1,039; водород: 1,109–1,315). Фактически, традиционное уравнение Релея 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 .

ОСНОВНОЕ ДИНАМИЧЕСКОЕ ИЗОТОПНОЕ УРАВНЕНИЕ

Основное изотопное уравнение записывается в виде [Vavilin et al., 2014; Vavilin, Rytov, 2015]:

$$\frac{d^h\text{S}}{dt} = \frac{1}{\alpha} \frac{^h\text{S}}{\text{S}} \frac{d\text{S}}{dt} \quad (10)$$

где hS и $S = ^lS + ^hS \approx ^lS$ — концентрации более тяжелого и общего субстратов, соответственно; dS/dt — скорость изменения концентрации общего субстрата. Часто, для описания скорости биологического процесса с одним или двумя субстратами используется нелинейная функция типа Моно.

Из основного изотопного уравнения запишем величину α в виде:

$$\frac{\frac{dS}{dt}/S}{\frac{d^hS}{dt}/^hS} = \alpha \quad (11)$$

или

$$\frac{1}{\alpha} \frac{d \ln S}{dt} = \frac{d \ln ^hS}{dt} \quad (12)$$

После интегрирования от 0 до t получаем:

$$\ln(S_t)^{1/\alpha} - \ln(S_0)^{1/\alpha} = \ln(^hS_t) - \ln(^hS_0) \quad (13)$$

или

$$\ln\left(\frac{S_t}{S_0}\right)^{1/\alpha} = \ln\left(\frac{^hS_t}{^hS_0}\right) \quad (14)$$

т. е.

$$\left(\frac{S_t}{S_0}\right)^{1/\alpha} = \frac{^hS_t}{^hS_0}. \quad (15)$$

Делим правую и левую часть уравнения на $^lS_t/^lS_0$ и, кроме того, будем считать, что концентрации легкого и общего субстратов с большой точностью равны: $^lS \approx S = ^lS + ^hS$. В итоге, не задавая конкретную функцию скорости процесса dS/dt , из динамического изотопного уравнения (10) получаем традиционное уравнение Релея (2):

$$\frac{^hS_t/^lS_t}{^hS_0/^lS_0} = \left(\frac{S_t}{S_0}\right)^{\frac{1}{\alpha}-1}. \quad (16)$$

Уравнение (10), где переменная относится к субстрату, необходимо дополнить изотопными уравнениями для продукта реакции (P) и биомассы (B), осуществляющей саму реакцию:

$$\begin{aligned} \frac{d^hP}{dt} &= \frac{1}{\alpha} \frac{^hS}{S} \frac{dP}{dt} \\ \frac{d^hB}{dt} &= \frac{1}{\alpha} \frac{^hS}{S} \frac{dB}{dt} \end{aligned} \quad (17)$$

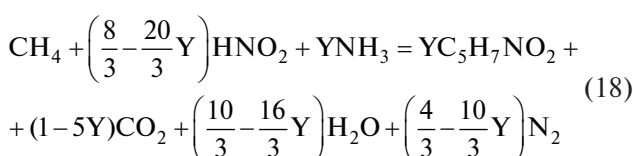
где hP , hB и P , B , S — концентрации продукта и биомассы, содержащих более тяжелый изотоп и общего субстрата, соответственно.

Необходимо подчеркнуть, что изотопные уравнения (10), (17) описывают динамику

перераспределения отношения стабильных изотопов в субстрате, продукте и биомассе в процессе образования продукта реакции (P) из субстрата (S), осуществляемого микроорганизмами (B). В исходных и конечных субстрате, продукте и биомассе это отношение разное. Заметим, что в процессе реакции остающийся субстрат CH_{4dis} “обогащается” более тяжелым изотопом ^{13}C .

ДИНАМИЧЕСКАЯ МОДЕЛЬ ПРОЦЕССА НИТРИТ-ЗАВИСИМОГО АНАЭРОБНОГО ОКИСЛЕНИЯ МЕТАНА

Нитрит-зависимое окисление метана (N-DAMO) характерно для пресноводных водоемов [Deutzmann et al., 2014]. Общее стехиометрическое уравнение анаэробного окисления метана нитритом рассматривалось в статье как:



Вводя функцию $R = \rho_m B \frac{CH_{4dis}}{K_{SCH_4} + CH_{4dis}} \frac{HNO_2}{K_{SHNO_2} + HNO_2}$, динамическая модель записывалась в виде следующей системы дифференциальных уравнений:

$$\begin{aligned} \frac{dCH_{4dis}}{dt} &= -R + K_L(SS - CH_{4dis}) \\ \frac{dCH_{4gas}}{dt} &= -K_L(SS - CH_{4dis}) \\ \frac{d^{13}CH_{4dis}}{dt} &= -\frac{1}{\alpha_{CB}} \frac{^{13}CH_{4dis}}{CH_{4dis}} R + \frac{1}{\alpha_g} K_L(^{13}SS - ^{13}CH_{4dis}) \\ \frac{d^{13}CH_{4gas}}{dt} &= -\frac{1}{\alpha_g} K_L(^{13}SS - ^{13}CH_{4dis}) \\ \frac{dB}{dt} &= YR \\ \frac{d^{13}B}{dt} &= \frac{1}{\alpha_{CB}} \frac{^{13}CH_{4dis}}{CH_{4dis}} YR \\ \frac{dCO_2}{dt} &= (1-5Y)R \\ \frac{d^{13}CO_2}{dt} &= \frac{1}{\alpha_{CB}} \frac{^{13}CH_{4dis}}{CH_{4dis}} (1-5Y)R \\ \frac{dHNO_2}{dt} &= -\left(\frac{8}{3} - \frac{20}{3}Y\right)R \\ \frac{dN_2}{dt} &= \left(\frac{4}{3} - \frac{10}{3}Y\right)R. \end{aligned} \quad (19)$$

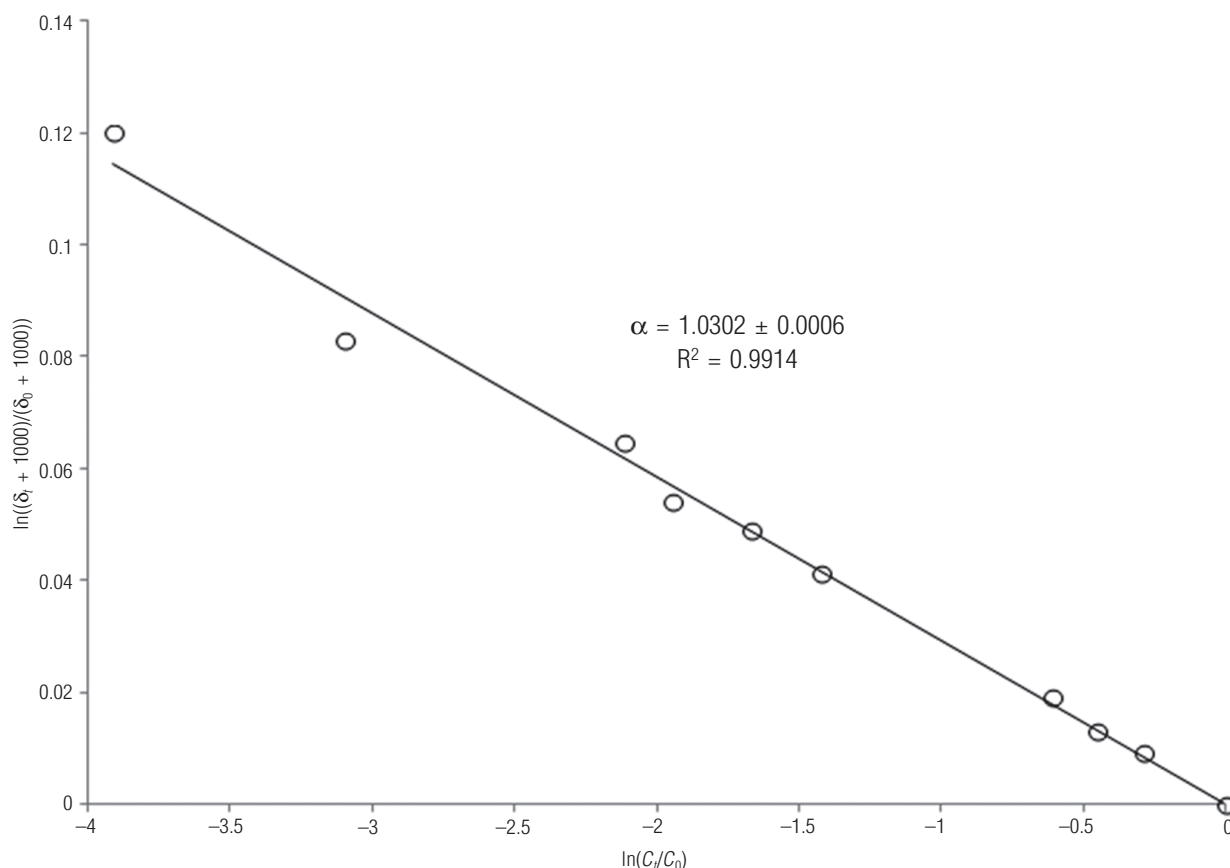


Рис. 1. Графическое определение фактора фракционирования изотопов углерода по уравнению (3). Символы: эксперимент [Rasigraf et al., 2012].

где $\text{CH}_{4\text{dis}}$ и $^{13}\text{CH}_{4\text{dis}}$ — общая концентрации метана и концентрация метана, содержащего изотопы ^{13}C в жидкой фазе; $\text{CH}_{4\text{gas}}$ и $^{13}\text{CH}_{4\text{gas}}$ — концентрации метана в газовой фазе; B , ^{13}B — концентрации метанотрофов, не рассматривающих изотопы и содержащих изотопы ^{13}C , соответственно; ρ_m — максимальная удельная скорость их потребления; K_{SCH_4} , K_{SHNO_2} — константы полу-насыщения при потреблении CH_4 и HNO_2 , соответственно; Y — экономический коэффициент, связанный с ростом биомассы и отражающий долю превращения субстрата в биомассу; α_{CB} , α_g — факторы фракционирования изотопов углерода в процессе окисления метана и массопередачи метана между газовой и жидкой фазами, соответственно. В исследуемой системе принималось, что аммоний находится в избытке. Массопередача для диоксида углерода и молекулярного азота в модели не рассматривалась из-за отсутствия экспериментальных данных, так и их влияния на биохимический процесс. Таким образом, CO_2 , $^{13}\text{CO}_2$ и N_2 — концентрации соответствующих продуктов в системе.

В реакции (18) субстратами являются метан и нитрит, а продуктами реакции — угле-

кислый газ и азот. В конце реакции метан потребляется полностью, в то время как нитрит еще остается (Fig. 2, d). Максимальная удельная скорость потребления субстратов, экономический коэффициент и константы полу-насыщения равны, соответственно: $\rho_m = 0,93 \text{ ч}^{-1}$, $Y = 0,00185 \cdot \mu\text{M} \cdot \mu\text{M}^{-1}$, $K_{\text{SCH}_4} = 2 \mu\text{M}$ и $K_{\text{SHNO}_2} = 43 \mu\text{M}$. Приведенные значения соответствуют небольшой начальной концентрации биомассы.

При описании процесса массопередачи между жидкой и газовой фазами равновесные концентрации $\text{CH}_{4\text{dis}}$ и $^{13}\text{CH}_{4\text{dis}}$ вычислялись как $\text{SS} = K_H \cdot P_{\text{CH}_4}$ и $^{13}\text{SS} = K_H \cdot P^{13}\text{CH}_4$, где K_H — константа Генри, $P_{\text{CH}_4} = (V_L \cdot \text{CH}_{4\text{gas}} \cdot 22.4/V_G)/1000000$ и $P^{13}\text{CH}_4 = (V_L \cdot ^{13}\text{CH}_{4\text{gas}} \cdot 22.4/V_G)/1000000$ парциальные давления метана и метана, содержащего ^{13}C , выраженные в атм; V_L , V_G — объемы жидкости и газа в исследуемом реакторе в литрах, соответственно. В модели (19), в соответствии с работой [Кнох et al., 1992], факторы фракционирования в реакции окисления метана ($\alpha_g = 1,001$) и массопередачи ($\alpha_{\text{CB}} = 1,03$) резко отличаются. Таким образом, доминирующее фракционирование изотопов углерода происходит в процессе микробиологической реакции анаэробного окисления метана нитритом, а не

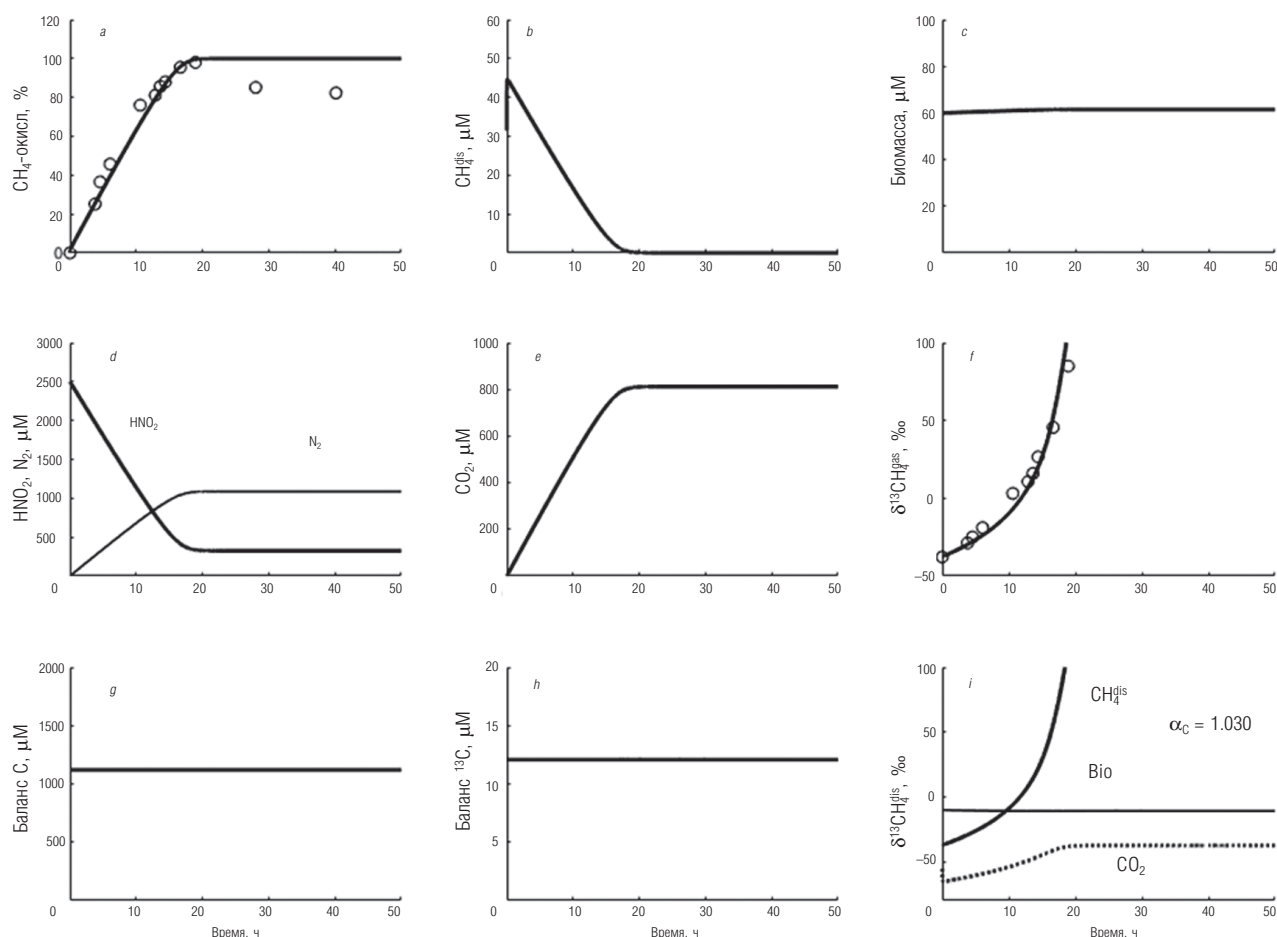


Рис. 2. Динамическая модель, описывающая анаэробное окисление метана нитритом при начальной концентрации $\text{CH}_4^0 = 790 \text{ } \mu\text{M}$, $\text{HNO}_2^0 = 2500 \text{ } \mu\text{M}$. Символы: эксперимент [Rasigraf et al., 2012], из которых две последние точки при $t > 25$ сут, были исключены, поскольку являлись артефактами [Vavilin, Rytov, 2013]; кривые: модель (19). Отношение входящих концентраций метана и нитрита составляет $790/250 = 0,316$, что явно меньше чем $3/8 = 0,375$. Таким образом, нитрит остается при исчерпании метана (рис. 2, d).

в физическом процессе массопередачи газообразного метана в воду.

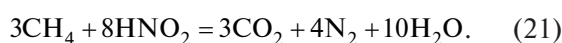
Величины сигнатур $\delta^{13}\text{C}$ для газообразного и растворенного метана, углекислого газа и биомассы вычислялись как

$$\begin{aligned} \delta^{13}\text{C CH}_4\text{ gas}[\text{‰}] &= 10^3 \left[\frac{^{13}\text{C CH}_4\text{ gas} / (\text{CH}_4\text{ gas} - ^{13}\text{C CH}_4\text{ gas})}{0.0112372} - 1 \right] \\ \delta^{13}\text{C CH}_4\text{ dis}[\text{‰}] &= 10^3 \left[\frac{^{13}\text{C CH}_4\text{ dis} / (\text{CH}_4\text{ dis} - ^{13}\text{C CH}_4\text{ dis})}{0.0112372} - 1 \right] \\ \delta^{13}\text{C CO}_2[\text{‰}] &= 10^3 \left[\frac{^{13}\text{C CO}_2 / (\text{CO}_2 - ^{13}\text{C CO}_2)}{0.0112372} - 1 \right] \\ \delta^{13}\text{C B}[\text{‰}] &= 10^3 \left[\frac{^{13}\text{C B} / (\text{B} - ^{13}\text{C B})}{0.0112372} - 1 \right]. \end{aligned} \quad (20)$$

На рис. 1 показан график Релея в двойных логарифмических координатах (3), а на рис. 2 — решение динамической модели про-

цесса анаэробного окисления метана нитритом (19). В рис. 1 и рис. 2 используется один и тот же фактор фракционирования изотопов углерода ^{12}C и ^{13}C ($\alpha_{\text{CB}} = 1,030$). Величины $\delta^{13}\text{C CH}_4$ в воде и газе близки друг другу (рис. 2f, 2i), поскольку $\alpha_g = 1,001$. Если увеличение $\delta^{13}\text{C CO}_2$ следует за увеличением $\delta^{13}\text{C CH}_4$ (рис. 2, i), то величина $\delta^{13}\text{C B}$ остается приблизительно постоянной вследствие незначительного увеличения концентрации биомассы B в процессе реакции (рис. 2, c). На рис. 3 приведены результаты динамической модели с тремя разными факторами фракционирования изотопа углерода $\alpha_C = 1,030$, $\alpha_C = 1,025$ и $\alpha_C = 1,035$. Видно, что $\alpha_{\text{CB}} = 1,030$ обеспечивает лучшее согласие модели и эксперимента.

Не учитывая рост биомассы ($Y = 0$), стехиометрическое уравнение (18) упрощается к традиционному виду [Ettwig et al., 2010]:



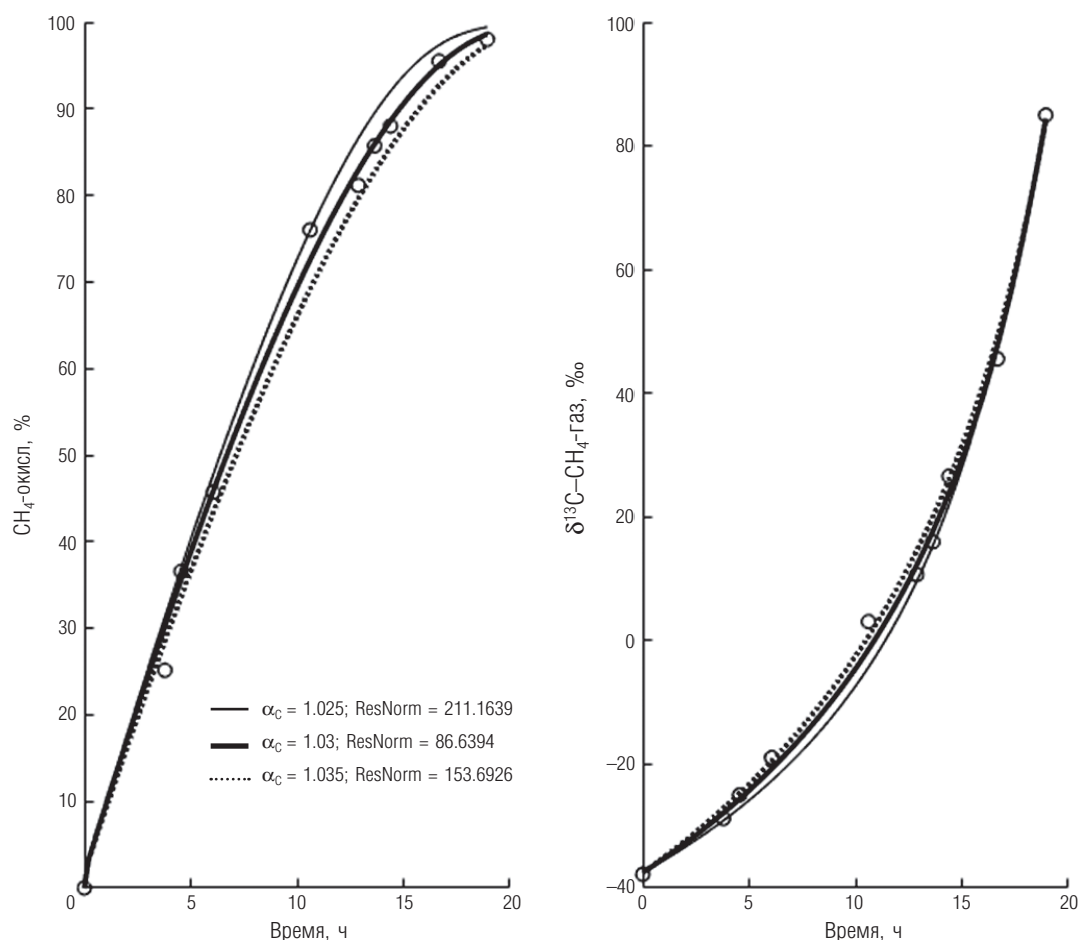


Рис. 3. Динамика окисления метана и изотопной сигнатуры метана для трех значений фактора фракционирования изотопа углерода.

Нами утверждается, что динамика фракционирования стабильных изотопов лишь в исключительных случаях может следовать простой кинетике 1-го порядка по концентрации субстрата. Любая математическая модель основана на неизбежном упрощении свойств реального объекта. Измерение изотопных переменных и их математическое описание позволяет, по возможности, заглянуть внутрь "черного ящика". Такое описание микробиологических процессов, учитывающих изотопы, может быть довольно сложным, поскольку оно всегда должно опираться на баланс химических элементов, в том числе их изотопов. Это становится оправданным, если при этом открываются новые знания о системе. Так, в естественных экосистемах часто идет конкуренция за один и тот же субстрат между различными микроорганизмами. В таких условиях более сложная динамическая модель микробной экосистемы, включающая и изотопные переменные, описывает перераспределение доминирования процессов потребления субстрата различными микроорганизмами и

соответствующее изменение фактора фракционирования стабильного изотопа в субстрате [Vavilin, Rytov, 2017; Vavilin et al., 2017].

Как отмечалось во Введении, статья опирается на уравнения формальной химической кинетики, где переменными являются те или иные химические соединения, а более тонкий механизм самих биохимических реакций, например, с участием электронов, не рассматривается.

ВЫВОДЫ

Не задавая конкретную функцию скорости процесса, из основного динамического изотопного уравнения, предложенного нами ранее, выведено традиционное статическое уравнение Релея для субстрата. Показано, что динамика фракционирования стабильных изотопов лишь в исключительных случаях следует простой кинетике 1-го порядка по концентрации субстрата.

Предложенная в статье нелинейная модель N-DAMO (19), включающая описание пере-

распределения отношения стабильных изотопов углерода в ходе реакции, показала, что доминирующее фракционирование изотопов углерода происходит в процессе микробиологической реакции анаэробного окисления метана нитритом, и, практически, не зависит от физического процесса массопередачи газобразного метана в воду.

Совместное описание нелинейной динамики общих и изотопных переменных позволяет стандартным способом математически анализировать последовательные и параллельные метаболические пути превращений различных субстратов в природных и техногенных химико-биологических системах.

БЛАГОДАРНОСТЬ

Работа выполнена согласно плану Института водных проблем РАН (номер государственной регистрации ААА-А18-118022090104-8). Автор признателен Л.Я. Локшиной и безвременно ушедшему от нас С.В. Рытову за многолетнее сотрудничество.

REFERENCES

1. Галимов Э.М. 1968. Геохимия стабильных изотопов углерода. М.: Недра. С. 16. [Galimov E.M. 1968. *Geokhimiya stabil'nykh izotopov ugleroda*. Moscow: Nedra. P. 16. (In Russian)]
2. Галимов Э.М. 1973. Изотопы углерода в нефтегазовой геологии. М.: Наука. 384 с. [Galimov E.M. 1968. *Geokhimiya stabil'nykh izotopov ugleroda*. Moscow: Nedra. P. 16. (In Russian)]
3. Bauska T.K., Baggenstos D., Brook E.J., Mix A.C., Marcott S.A., Petrenko V.V., Schaefer H., Severinghaus J.P., Lee J.E. 2016. Carbon isotopes characterize rapid changes in atmospheric carbon dioxide during the last deglaciation // *PNAS*. V. 113. P. 3465–3470.
4. Conrad R., Noll M., Claus P., Klose M., Bastos W.R., Enrich-Prast A. 2011. Stable carbon isotope discrimination and microbiology of methane formation in tropical anoxic lake sediments // *Biogeosciences*. V. 8. P. 795–814.
5. Craig H. 1957. Isotopic standards for carbon and oxygen and correction factors for mass-spectrometric analysis of carbon dioxide // *Geochim. Cosmochim. Acta*. V. 12. P. 133–149.
6. Deutzmann J.S., Stief P., Brandes J., Schink B. 2014. Anaerobic methane oxidation coupled to denitrification is the dominant methane sink in a deep lake // *PNAS*. V. 111. P. 18273–18278.
7. Elsig J., Schmitt J., Leuenberger D., Schneider R., Eyer M., Leuenberger M., Joos F., Fischer H., Stocker T. 2009. Stable isotope constraints on Holocene carbon cycle from an Antarctic ice core // *Nature Letter*. V. 461 (24 September 2009). P. 507–510.
8. Etwig K.F., Butler M.K., Le Paslier D., Pelletier E., Manganot S., Kuypers M.M.M., Schreiber F., Dutilleul E., Zedelius J., de Beer D., Gloerich J., Wessels H.J.C.T., van Alen T., 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*. V. 464. P. 543–548.
9. Galand P., Yrjälä K., Conrad R. 2010. Stable carbon isotope fractionation during methanogenesis in three boreal peatland ecosystems // *Biogeosciences*. V. 7. P. 3893–3900.
10. Holler T., Wegener G., Knittel K., Boetius A., Brunner B., Kuypers M.M.M., Widdel F. 2009. Substantial $\delta^{13}\text{CH}_4/\delta^{12}\text{CH}_4$ and D/H fractionation during anaerobic oxidation of methane by marine consortia enriched *in vitro* // *Env. Microbiol. Reports*. V. 1. P. 370–376.
11. Hornibrook E.R.C., Longstaffe F.J., Fyfe W.S. 2000. Evolution of stable carbon isotope compositions for methane and carbon dioxide in freshwater wetlands and other anaerobic environments // *Geochim. Cosmochim. Acta*. V. 64. P. 1013–1027.
12. Knox M., Quay P.D., Wilbur D. 1992. Kinetic isotopic fractionation during air-water gas transfer of O_2 , N_2 , CH_4 , and H_2 // *J. Geophys. Res.* V. 97(C12). P. 20335–20343.
13. Mariotti A., Germon J.C., Hubert P., Kaiser P., Letolle R., Tardieu A. and Tardieu P. 1981. Experimental determination of nitrogen kinetic isotope fractionation: some principles; illustration for the denitrification and nitrification processes // *Plant and soil*. V. 62. P. 413–430.
14. Rasigraf O., Vogt C., Richnow H.H., Jetten M.S.M., Etwig K.F. 2012. Carbon and hydrogen isotope fractionation during nitrite-dependent anaerobic methane oxidation by *Methyloirabilis oxyfera* // *Geochim. Cosmochim. Acta*. V. 89. P. 256–264.
15. Rayleigh J.W.C. 1896. Theoretical consideration respecting the separation of gases by diffusion and similar processes // *Philos. Mag.* V. 42. P. 493–498.
16. Vavilin V.A., Rytov S.V. 2013. Non-linear dynamics of carbon and hydrogen isotopic signatures based on a biological kinetic model of nitrite-dependent methane oxidation by “*Candidatus Methyloirabilis oxyfera*” // *Ant. Leewenh.* V. 104. P. 1097–1108.
17. Vavilin V.A., Rytov S.V., Lokshina L.Y.. 2014. Non-linear dynamics of nitrogen isotopic signature based on biological kinetic model of uptake and assimilation of ammonium, nitrate and urea by a marine diatom // *Ecol. Modell.* V. 279. P. 45–53.

18. Vavilin V.A., Rytov S.V. 2015. Nitrate denitrification with nitrite or nitrous oxide as intermediate products: Stoichiometry, kinetics and dynamics of stable isotope signatures // *Chemosphere*. V. 134. P. 417–426.
19. Vavilin V., Rytov S., Conrad R. 2017. Modelling methane formation in sediments of tropical lakes focusing on syntrophic acetate oxidation: Dynamic and static carbon isotope equations // *Ecol. Modell.* V. 363. P. 81–95.

Received: 11.01.2021

Revised: 20.05.2021

Accepted: 20.09.2021

