

В книге: Проблемы нанотехнологий: «Сборник
памяти Л.В.
Киренского
1972

ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ РЕШЕНИЯ
ПРОБЛЕМЫ СОЗДАНИЯ ИСКУССТВЕННЫХ ЭКОСИСТЕМ,
СОПРОВОЖДАЮЩИХ ЧЕЛОВЕКА ПРИ ВЫХОДЕ В КОСМОС

Л.В.Киренский, И.И.Гительзон, И.А.Терсков,
Б.Г.Козров, Г.М.Лисовский, Ю.Н.Окладников

Институт физики им.акад.Л.В.Киренского
СО АН СССР

Надо ожидать, что достижением луны и вслед за тем ближайших планет завершается период интенсивного проникновения человека в космос и наступает период планомерного исследования и освоения человеком межпланетного пространства и планет — период действительного открытия космоса для человека. Этот период потребует возможности длительного свободного пребывания человека вне биосферы Земли.

Отсюда возникает новая научная задача нашего времени — обеспечения выхода жизни за пределы земной биосферы, реализация идей В.И.Вернадского и К.Э.Циолковского о космической функции жизни.

Все осуществленные до сегодняшнего дня полёты человека в космос были выходом человека за пределы земли лишь в механическом, но не в биологическом смысле, так как они были выполнены с помощью не восстанавливающихся на борту корабля запасов. Жизнь как самоподдерживающийся, самовоспроизводящийся процесс, ещё никогда не выходила за пределы земной биосферы.

Для того, чтобы такой выход состоялся, необходимо вычленив метаболические связи человека из земной биосферы и замкнуть их в такой малой системе круговорота веществ, которая может принять на себя функции земной биосферы по отношению к человеку.

Осуществим ли в принципе устойчивый малый замкнутый круговорот веществ ?

Эта проблема весьма интересна своей теоретической стороной — вопросом о принципиальной возможности существования малых замкнутых биологических систем, о пределе этой малости, то-есть о критических параметрах (минимуме массы и организации), начиная с которых возможно автономное без обмена веществом со средой существование биологических систем.

Анализ показывает, что основные механизмы, обеспечивающие устойчивость земной биосферы, теряют эффективность в малых системах. Можно выделить три главных фактора, обеспечивающих устойчивость земной биосферы: во-первых, это видовое разнообразие при способности многих видов замещать друг друга в трофических цепях; во-вторых, разнонаправленность флуктуаций в различных частях протяженной системы и в-третьих, наличие большой косной (по выражению В.И.Вернадского) массы, играющей роль буфера, размыкающего круговорот веществ.

Обобщая, можно определить одну общую черту всех трёх механизмов — все они основаны на стохастическом принципе, и эффективны только в условиях большой избыточности — в первом случае избыточность каналов, во-втором — избыточность условий, в третьем — избыточность массы. Следовательно, для стохастически организованной системы, каковой является земная биосфера, избыточность — необходимое свойство, обеспечивающее её устойчивость.

Возникновение в эволюции обладающих устойчивостью малых биологических систем-организмов, основано на совсем ином, отличном от биоценотического принципа, на управлении клеточными популяциями с помощью детерминированной структурной системы.

Перенесение этого организменного принципа на управление малыми замкнутыми системами круговорота веществ представляется нам ключом к решению задачи об устойчивости малых экосистем. Отсюда возникает экспериментальная задача — сочетать в одном объекте свойства двух биологических уровней — организма и биоценоза и сверх того придать этому объекту новое, не свойственное никаким биологическим системам качество — замкнутость материального обмена. В создании такого "тройственного гибрида", у которого нет полного аналога ни в природе, ни в технике заключается теоретическая новизна малых замкнутых систем круговорота веществ. Практически же её создание, или достаточно полное приближение к ней по степени замкнутости и устойчивости, будет означать принципиальное решение проблемы существования человека вне земной биосферы.

Результаты проведённого теоретического анализа приводят к выводу, что к решению задачи жизнеобеспечения человека путём включения его в малую замкнутую экосистему нужно идти не по аналогии с его земным окружением, сложившимся исторически и далёким от оптималь-

ности, а путём подбора в состав синтезируемой экосистемы видов по двум основным критериям.

Первый критерий — способность метаболически сопрягаться друг с другом, прежде всего с человеком так, чтобы образовать предельно близкое к замкнутому кольцо метаболических реакций; второй критерий — управляемость. Оба эти качества — биохимическое разнообразие, обеспечивающее высокую вероятность обменного сопряжения между видами — звеньями экосистем, и метаболическая управляемость наиболее выражены у одноклеточных организмов. К тому же они не обладают надклеточной детерминированной системой управления, подобной нервной системе многоклеточных, программа которой могла бы прийти в противоречие с предназначенной для них функцией в искусственной экосистеме.

Поэтому в качестве первых объектов для создания малых систем круговорота веществ с человеком были избраны микроорганизмы.

Основываясь на высказанных представлениях, мы попытались синтезировать систему круговорота веществ из окислительных обменных процессов человека и противостоящих им восстановительных фотосинтетических процессов микроводорослей, потребляющих вместе с симбиотическими бактериями экзометаболиты человека.

В выборе экспериментального объекта, следуя работам Tomija 1951, 1953, Majers 1953, Г.Г.Винберга, 1959г., А.А.Ничипоровича, 1961, мы избрали протококковую водоросль — хлореллу (*Chlorella vulgaris*), которая, образуя устойчивый симбиоз с рядом видов бактерий, главным образом из рода *Pseudomonas*, может потреблять практически все экзометаболиты человека (М.С.Рерберг с соавт., 1969, 1967, 1969).

При постановке задачи управления биосинтезом избрание клеточного уровня (популяций автономных клеток) приводит к двум существенным преимуществам — устойчивости системы и простоте внешнего управления.

Оба эти свойства вытекают из того, что программа биосинтетических процессов заложена в каждой клетке и самовоспроизводится автокаталитически в ходе биосинтеза. Для внешнего управления остаётся лишь задача поддерживать внешние условия на уровне, обеспечивающем оптимальную скорость и направленность биосинтеза в интересах системы в целом.

Реализация этой возможности проще всего обеспечивается

непрерывной культурой микроорганизмов, использующей их способность к неограниченному росту при создании оптимальной среды. Теория непрерывной культуры, созданная работами Monod 1930, Novick, 1950, Szilard 1950, Иерусалимского Н.Д., 1961г., позволяет описывать этот процесс простой системой уравнений, выражающей зависимость скорости биосинтеза (роста) от лимитирующего фактора среды.

Непрерывность биосинтеза в этих системах обеспечивается тем, что приростная биомасса и метаболиты вымываются из системы постоянным протоком свежей питательной среды. Но, как показал математический анализ регуляции в обычных проточных непрерывных культурах, непрерывный проток в них служит источником неустойчивости. Поэтому истинно непрерывные культуры, несмотря на то, что для них разработана хорошая теория, реализуются с трудом и на сравнительно короткое время.

Эту трудность удалось преодолеть, введя принцип квазинепрерывного культивирования. Сущность его заключается в том, что вместо непрерывного протока среды в нём используется её подача мелкими импульсами, причем каждый следующий импульс добавки свежей среды и отбора приростной биомассы происходит не раньше, чем от следящего устройства поступит сигнал о том, что предыдущая порция среды поглощена и биомасса приросла на заданную величину. Таким образом, используя обратную связь замыкающуюся через анализатор процесса, можно заставить культуру саму управлять скоростью протока среды, подстраивать её под скорость роста. (рис.1). Релейно-импульсный способ при этом защищает систему от перерегулирования, делает её устойчивой. Если величина импульса выбрана достаточно малой (выработаны строгие критерии этой малости), то процесс сохраняет свою стационарность, т.е. не отличается по другим свойствам от непрерывного, выигрывая лишь в устойчивости. Можно констатировать, что такие биолого-технические системы, в которых биологический процесс роста самоуправляется через технический регулятор, осуществлены и в соответствии с ожиданием оказались весьма устойчивыми. К настоящему времени мы располагаем опытом многомесячного непрерывного поддержания таких систем на основе альго-бактериальной поликультуры без симптомов изменения функций, вырождения или снижения скорости процесса. Их устойчивость можно характеризовать тем, что среднесуточные флуктуации продуктивности биосинтеза не выходят за пределы $\pm 10\%$. На рис.1 приведена запись

показаний оптического анализатора, ведущего квазинепрерывную культуру хлореллы, по которой можно оценить устойчивость этого процесса. У этой устойчивости есть хорошо объяснимая основа: программа процесса биосинтеза надёжно дублирована астрономическим числом клеток, населяющих реактор. В принципе, достаточно сохраниться способности делиться у одной клетки, чтобы процесс роста в плотностатной культуре самопроизвольно восстановился. Э.К.Родичева (1969) в нашей лаборатории провела серию экспериментов с повреждением хлореллы в проточной культуре ультрафиолетом и исследовала соответствие динамики восстановления скорости роста предложенной математической модели:

$$t = \frac{\tau \ln \left[\frac{h(1-K)}{K} \right]}{\ln m}$$

где K - доля функционирующих клеток, τ - время генерации, h - коэффициент восстановления, t - время восстановления, m - число клеток образующихся при делении материнской.

Как видно из рис.2, даже если будет убито 90% клеток, через 45 часов скорость биосинтеза спонтанно вернётся к исходному уровню, за счет размножения сохранившейся части популяции и элиминации погибших клеток.

Интересно заметить, что плотностатная культура защищена также от опасности накопления мутантов с пониженной скоростью роста, она обладает свойствами селектора, имитирующего естественный отбор клеток по наибольшей в данных условиях скорости роста. Этот процесс может быть описан уравнением:

$$t = \frac{\ln \frac{N_0 Z}{m_1}}{\frac{\ln m_1}{\tau_1} - \frac{\ln m_2}{\tau_2}}$$

N_0 - число клеток в системе, m_1, m_2 - число клеток, образующихся при делении материнской, Z - коэффициент замещения.

На рис.3 представлены рассчитанные кривые вытеснения исходных форм положительными по скорости роста мутантами. Эксперимент дал хорошее совпадение с расчетным предсказанием (Н.С.Печуркин, 1969).

Устойчивый непрерывный процесс позволил исследовать параметры, определяющие скорость фотосинтеза в плотностатной культуре хлореллы и определить их оптимальное сочетание (Ф.Я.Сидько и В.Н.Бедкин, 1969). Опыты с культурой хлореллы в плотностатном режиме показали, что для плотных суспензий удельная производительность культуры, рассчитанная на единицу клеточного хлорофилла (A),

имеет линейный характер зависимости от средней облученности (Е) клеток. На основе этого биосинтез хлореллы можно описать с помощью математической модели, включающей следующие уравнения:

$$A = \frac{M}{\beta} = \frac{K}{E_0 + q} \bar{E} - \frac{M_0}{\beta}, \quad (1)$$

$$M = \frac{K\beta}{E_0 + q} \bar{E} - M_0, \quad (2)$$

$$P = MX = \frac{K}{\ell} \cdot \frac{E_0}{E_0 + q} - M_0 X, \quad (3)$$

$$\eta = \frac{Q}{E_0 T} P \quad (4)$$

где M — относительная скорость роста культуры, β — относительное содержание хлорофилла в биомассе клеток, E_0 — поверхностная освещенность культуры, M_0 — относительная скорость дыхания клеток, X — концентрация биомассы микроводорослей, ℓ — интегральный коэффициент поглощения света, P — продуктивность культуры, K и q — эмпирические коэффициенты, η — КПД света, Q — удельная калорийность биомассы, T — нормирующий множитель.

Экспериментальные результаты хорошо согласуются с зависимостями, рассчитанными по уравнениям 1-4, что позволяет использовать найденные зависимости для инженерного расчета фотосинтетических микроводорослевых реакторов по заданным показателям КПД фотосинтеза, скорости роста, продуктивности.

Эти результаты вместе с рядом других предваряющих исследований позволили осуществить непрерывный фотобиосинтез в культуре микроводорослей с бактериями с такой высокой продуктивностью и степенью надёжности, что стало возможным создание на этой основе экспериментальной экосистемы, включающей человека.

Скандывающиеся в системе метаболические взаимоотношения между человеком и управляемой культурой поясняются рис. 4.

Человек, помещенный в гермокабину образует 1-е метаболическое звено системы.

Все его газообразные метаболиты: углекислота, окись углерода, аммиак и др. микрометаболиты поступают в культуру микроводорослей и ей испрльзуются в фотосинтезе. Выделяющийся при этом кислород возвращается к человеку и вновь используется для окисления, — так замыкается газовый круговорот. Газовое равновесие обеспечено таким рационом питания человека, что его дыхательный коэффициент составляет физиологически оптимальную величину 0,88; к этой же величине приведен ассимиляционный коэффициент культуры за счет её питания азотом в карбамидной форме.

Все жидкие метаболиты человека и несущая их вода выводится из гермокабины и используется в качестве питательной среды фотосинтезирующей культуры. Испаренная человеком вода конденсируется и попадает в тот же поток. Растворимые метаболиты человека состоят из двух фракций — окисленных, минерализованных продуктов (фосфатов, сульфатов и др.) и группы неокисленных веществ, из которых основную массу составляет мочевины, затем в убывающем порядке идут мочевая кислота, креатинин, аминокислоты, пигменты и другие органические мономеры. В реакторе минерализованные вещества и мочевины непосредственно поглощаются водорослевыми клетками и используются в синтезе биомассы. Другие органические вещества, недоступные водорослям, предварительно разлагаются сопутствующими бактериями и затем уже поглощаются водорослями.

Такой же предварительной минерализации подвергаются и твердые выделения человека в отдельном бактериальном реакторе с интенсивной аэрацией. Вода, освобожденная таким образом от выделений человека, возвращается к нему для повторного использования в пище и быту. Дополнительное количество воды, образующееся в метаболизме человека, возмещает расход воды на фотосинтез в реакторе. Таким образом замыкается круговорот воды. Заметим, что в замкнутой экосистеме круговороты воды и дыхательных газов оказываются связанными между собой через метаболическую воду.

Потребности человека в газообмене и водообмене полностью обеспечивались культурой микроводорослей, растущей непрерывно в реакторе, объемом в 17 литров со светоприемной поверхностью 8 м², при освещенности 60-70 килолюкс, что составляет около 1/3 полной солнечной освещенности на границе атмосферы Земли. Коэффициент

преобразования лучистой энергии в фотосинтезе при этом составил 5-6 %. Живой вес культуры в 1,5 кг. достаточен для уравнивания метаболизма человека весом в 70 кг.

Третья связь, которая должна замыкать систему, трофическая - заключается в том, что противостоящие в круговороте веществ звенья должны питаться метаболитами друг друга. В описываемой системе на сегодня эта связь полузамкнута - водоросли действительно питаются метаболитами человека, но ещё не решена проблема питания человека синтезируемой биомассой. Она содержит почти все известные необходимые человеку соединения, но их соотношение не соответствует оптимальному рациону питания человека. Необходимая трансформация биомассы возможна биологическим и физико-химическим путями, но требует еще большой работы.

Другим путём решения пищевой проблемы является введение в систему традиционных для человека продуцентов необходимых веществ.

Чтобы ликвидировать наиболее существенный при биосинтезе хлореллы дефицит рациона в углеводах мы ввели в систему непрерывную культуру пшеницы, выращиваемую без почвы субиригационным методом. В ходе эксперимента, в котором фитотрон с пшеницей был замкнут по газу с остальной системой и обслуживался самим живущим в системе испытателем, было найдено, что растительная доля белковой и значительная доля углеводной части рациона могут быть удовлетворены 20 м² конвейерной культуры пшеницы. В этом варианте ею будут полностью удовлетворены так же газо- и водообменные потребности человека. Однако будет произведено значительное количество биомассы в форме тупикового пока для системы вещества-клетчатки.

В описанной системе проведен ряд экспериментов с несколькими испытуемыми, мужчинами и женщинами, общей длительностью до 6000 часов. Непрерывная длительность функционирования системы достигла более ста дней, а жизнь человека в ней трёх месяцев. При этом не выявлено биологических препятствий к более продолжительному функционированию системы.

В условиях прямого сопряжения газового и водного обмена человека с включенными в систему видами растений и сопутствующими микроорганизмами без введения каких-либо стерилизующих барьеров между ними, показана их биологическая совместимость. У человека не

обнаружено отклонений от нормального состояния по многочисленным исследованиям физиологическим параметрам его основных функциональных систем: дыхания, кровообращения, выделения, пищеварения и в нервно-психической деятельности. Не обнаружено также реакций стрессового типа. Иммунологические исследования не обнаружили сенсибилизации человека чужеродными антигенами.

Результаты выполненной работы могут быть сформулированы следующим образом:

1. Осуществлен устойчивый управляемый биосинтез в непрерывной моно- и поликультуре микроорганизмов. Разработаны способы его количественного описания и расчёта. Осуществлена система круговорота веществ на основе качественного и количественного сопряжения водного и газового метаболизма человека и альго-бактериальной культуры, биосинтез которой поставлен под параметрическое управление.

2. Осуществлена четырехзвенная система человек-микроводоросли-бактерии-высшие растения, поглощающая выделения человека, возвращающая ему кислород и воду и частично пищу. Длительность существования такой системы в эксперименте уже достигла трех месяцев, без препятствия к её продлению, т.е. сомкнулось с предполагаемыми сроками космических полетов людей в предстоящем десятилетии.

3. Выполнены длительные эксперименты по существованию человека за счёт обеспечения его жизнедеятельности в этой системе, позволившие измерить основные процессы массо- и энергообмена в ней и у человека, включенного в систему своим метаболизмом.

4. Показана биологическая совместимость сопряженных в систему видов организмов.

5. Исследованы некоторые специфические черты регуляторных и авторегуляторных процессов, обеспечивающие устойчивость малой замкнутой системы круговорота веществ.

Выявляются две основные особенности биологического принципа регенерации среды: - 1) возможность значительного упрощения внешнего управления системой вследствие того, что все три основные задачи - регенерации атмосферы воды и пищи выполняются

единым биосинтетическим процессом, снабженным внутренней генетической программой; 2) высокая устойчивость системы, основанная на специфической способности биологических систем к самоподдержанию и самовосстановлению.

Своим сообщением мы попытались показать, что малая замкнутая экосистема реально осуществима и содержит в себе возможности дальнейшего совершенствования вплоть до способности обеспечить биологический выход человека за пределы земной биосферы, снабдив его "органами" фотосинтеза, позволяющими существовать, потребляя извне только энергию и не выделяя в среду никаких метаболитов. По видимому, такая элементарная экосистема представляет собой ту идеальную форму, в которой ноосфера может начать распространение за пределы земной биосферы, не угрожая другим телам солнечной системы необратимыми изменениями вследствие вторжения земных веществ.

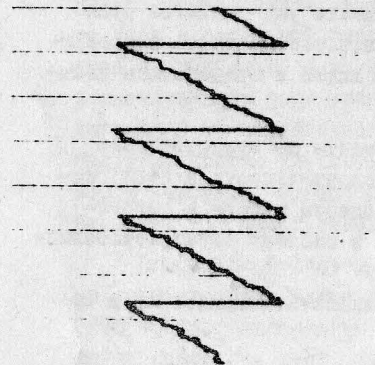


Рис.1.
Запись оптической плотности культуры
проточным фотоэлектрическим датчиком.

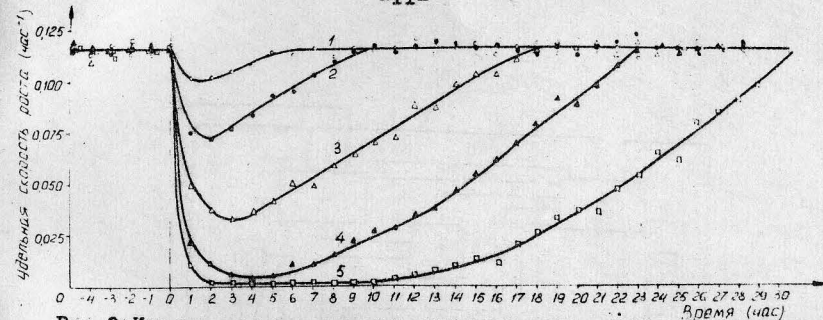


Рис.2. Кривые восстановления скорости роста хлореллы после подавления ультрафиолетом: 1. $2,8 \cdot 10^9$ эрг/г; 2. $5,6 \cdot 10^9$ эрг/г; 3. $11,2 \cdot 10^9$ эрг/г; 4. $16,8 \cdot 10^9$ эрг/г; 5. $22,4 \cdot 10^9$ эрг/г.

Рис.3.
Динамика вытеснения исходной формы
положительным по скорости роста
мутантом.

Семейство кривых:

$$I - \gamma_{\lambda} \frac{M_m}{M_i} = 2; \quad II - \gamma_{\lambda} \frac{M_m}{M_i} = 1,1;$$

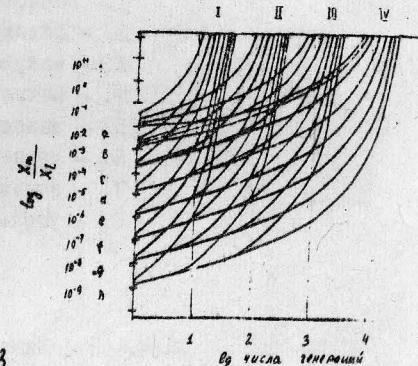
$$III - \gamma_{\lambda} \frac{M_m}{M_i} = 1,01; \quad IV - \gamma_{\lambda} \frac{M_m}{M_i} = 1,001;$$

$$a'' - \text{для } \frac{X_{m0}}{X_{i0}} = 10^{-2}; \quad b'' - \text{для } \frac{X_{m0}}{X_{i0}} = 10^{-3}$$

$$c'' - \text{для } 10^{-4}; \quad d'' - \text{для } 10^{-5}; \quad e'' - \text{для } 10^{-6};$$

$$f'' - 10^{-7}; \quad g'' - 10^{-8}; \quad h'' - 10^{-9}.$$

$$\lg \frac{X_m}{X_i} = f \left(\lg \frac{t}{\tau_i} \right).$$



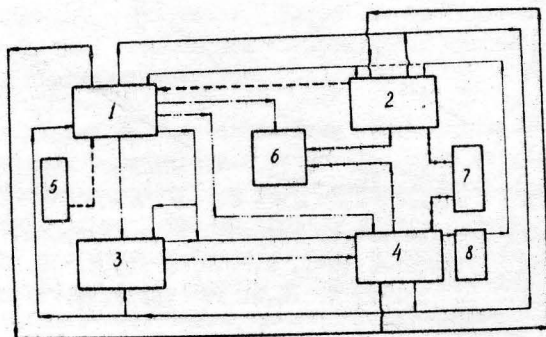


Рис.4. Схема биологической системы:

- 1. - гермокабина с человеком
- 2. - фитотрон с высшими растениями
- 3. - микробный культиватор
- 4. - микроводорослевый культиватор
- 5. - запас пищи
- 6. - тупики
- 7. - запас биогенных элементов
- 8. - угольный фильтр

Институт физики им. Л.В. Киренского СО АН СССР
 Красноярск, 36, Академгородок
 заказ 229, тир.100 АЛ00620
 13 мая 1970 года