



Абрамов Е.Г., Малышева А.Г.

## Биотрансформация мочевины в воде водных объектов

ФГБУ «Центр стратегического планирования и управления медико-биологическими рисками здоровью»  
Федерального медико-биологического агентства, 119121, Москва, Россия

**Введение.** Трансформация веществ — актуальная проблема гигиены окружающей среды. Мочевина (карбамид) — продукт жизнедеятельности человека и животных — поступает в водоёмы с хозяйственно-бытовыми коллекторными сточными водами, поверхностным стоком в районах, использующих карбамид как удобрение, со сбросами отходов животноводческих комплексов, стоками предприятий, производящих карбамид. Можно выделить два аспекта, связанных с загрязнением карбамидом водных объектов: отсутствие прямого инструментального метода контроля карбамида, а также отсутствие комплексного подхода к контролю мочевины и продуктов её биотрансформации: аммония, нитритов, нитратов. Эти два фактора определили актуальность исследований.

**Материалы и методы.** Исследование выполнено с использованием ионохроматографической системы «Стайер» с анионными и катионными разделяющими колонками: Phenomenex Star-Ion™ A300 — 100/4.6 (USA) и Shodex IC YS-50 150/4.6 (Japan). При разработке метода анализа мочевины применяли катионную колонку «Аквилон» Aquiline C1P, 5μ, 150/4.6 с кондуктометрическим и амперометрическим детектированием. Объектами исследований являлись поверхностная, бутилированная, водопроводная вода централизованной системы питьевого водоснабжения, модельные водные растворы карбамида. В качестве источника уреазы использована почва (дерново-подзолистая) из Учебно-опытного почвенно-экологического центра «Чашниково» МГУ им. М.В. Ломоносова.

**Результаты.** Предложен новый высокочувствительный ионохромато-графический метод определения мочевины в воде различных водных объектов с чувствительностью на уровне 5 мг/дм<sup>3</sup> при прямом вводе пробы и с использованием пробоподготовки — 0,5 мг/дм<sup>3</sup>. Представлены результаты исследований на содержание мочевины и продуктов её биохимической трансформации модельных водных растворов мочевины, поверхностной, водопроводной воды г. Москвы, ряда бутилированных вод. Выявлено присутствие мочевины в поверхностной воде и водопроводной воде г. Москвы, а также установлена корреляция между содержанием мочевины и ионами аммония, нитритами и нитратами в воде.

**Ограничения исследования.** Исследования ограничены водой водных объектов с общей минерализацией не выше 15 мг-экв/дм<sup>3</sup>, содержание мочевины в которых выше 0,5 мг/дм<sup>3</sup>.

**Заключение.** При проведении контроля за загрязнением мочевиной различных водных объектов установлена необходимость учёта продуктов её биотрансформации под действием уреазы, поскольку в результате процессов биотрансформации мочевины из малотоксичного вещества возможно образование более токсичных продуктов — нитритов, нитратов, аммония. Применение кинетического подхода для изучения процессов биотрансформации мочевины в воде в модельных условиях показало, что экстремальный тип кинетических кривых соответствует образованию промежуточных продуктов (нитритов), возрастающий тип — образованию и накоплению конечных продуктов (нитратов и ионов аммония).

**Ключевые слова:** биотрансформация; мочевина; уреазы; хроматография; аммоний; нитрит; нитрат

**Соблюдение этических стандартов:** не требуется представления заключения комитета по биомедицинской этике или иных документов.

**Для цитирования:** Абрамов Е.Г., Малышева А.Г. Биотрансформация мочевины в воде водных объектов. *Гигиена и санитария*. 2022; 101(1): 21-29. <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2022-101-1-21-29>

**Для корреспонденции:** Малышева Алла Георгиевна, доктор биол. наук, профессор, вед. науч. сотр. отд. гигиены ФГБУ «ЦСП» ФМБА России, 119121, Москва. E-mail: AMalysheva@cspmz.ru

**Участие авторов:** Абрамов Е.Г. — сбор и обработка материала, статистическая обработка, написание текста; Малышева А.Г. — концепция и дизайн исследования, написание текста, редактирование, утверждение окончательного варианта статьи, ответственность за целостность всех частей статьи.

**Конфликт интересов.** Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов в связи с публикацией данной статьи.

**Финансирование.** Исследование не имело финансовой поддержки.

Поступила: 04.08.2021 / Принята к печати: 25.11.2021 / Опубликована: 09.02.2022

Evgeny G. Abramov, Alla G. Malysheva

## Biotransformation of urea in the water of water bodies

Centre for Strategic Planning and Management of Biomedical Health Risks of the Federal Medical Biological Agency, Moscow,  
119121, Russian Federation

**Introduction.** The transformation of substances is an urgent problem of environmental hygiene. Urea (carbamide) is a product of human and animal life — enters water objects with household collector wastewater, surface runoff in areas that use urea as fertilizer, waste discharges from livestock complexes, and effluents of enterprises that produce carbamide. Two aspects of the problems associated with urea contamination of water bodies can be identified: the lack of a direct instrumental method for controlling urea and the lack of a comprehensive approach to controlling urea and its biotransformation products: ammonium, nitrites and nitrates. These two factors determined the relevance of the research.

**Materials and methods.** The studies used the «Stayer» ionic chromatography system with anionic and cationic separation columns: Phenomenex Star-Ion A-300 100/4.6 USA; Shodex IC YS-50 150/4.6 Japan; when developing the urea analysis method, the «Aquilon» cationic column AQUILINE C1P, 5μ, 150/4.6 was used. The detection is conductometric and amperometric. The research objects were: surface, bottled, tap water, model water solutions of carbamide. As a urease source, the soil (sod-podzolic) from the Educational and Experimental Soil-Ecological Center of the Lomonosov Moscow State University «Chashnikovo» was used.

**Results.** A new highly sensitive ion chromatographic method for determining urea in the water of various water bodies with a sensitivity of 5 mg/dm<sup>3</sup> with direct sample input and using sample preparation - 0.5 mg/dm<sup>3</sup> is proposed. The results of studies of model aqueous solutions of urea, surface water, tap water of Moscow, many bottled water samples on the content of urea and products of its biochemical transformation are presented. The presence of urea in the surface water and tap water of Moscow was revealed, and a correlation between the urea content and ammonium ions, nitrites and nitrates in the water was stated.

**Limitations of the study.** The studies were carried out with waters whose total mineralization did not exceed 15 mg-eq/dm<sup>3</sup> (water of river Don), and the urea content established in the water samples was not lower than 0.5 mg/dm<sup>3</sup>.

**Conclusion.** When monitoring urea contamination of various water bodies, it is necessary to consider the products of its biotransformation under the action of urease, for as a result of the processes of urea biotransformation, a low-toxic substance can form more toxic products: nitrites, nitrates and ammonium. Applying the kinetic approach to study the processes of urea biotransformation in water under model conditions showed that the extreme type of kinetic curves corresponds to the formation of intermediate products – nitrites, and the increasing type corresponds to the formation and accumulation of final products – nitrates and ammonium ions.

**Keywords:** biotransformation; urea; chromatography; ammonium; nitrite; nitrate

**Compliance with ethical standards.** The submission of the conclusion of the Biomedical ethics committee or other documents is not required.

**For citation:** Abramov E. G., Malysheva A. G. Biotransformation of urea in the water of water bodies. *Gigiena i Sanitariya (Hygiene and Sanitation, Russian journal)*. 2022; 101(1): 21–29. <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2022-101-1-21-29> (In Russian)

**For correspondence:** Alla G. Malysheva, MD, PhD. DSci., full professor, Leading researcher of the Department of Hygiene Centre for Strategic Planning and Management of Biomedical Health Risks of the Federal Medical Biological Agency, Moscow, 119121, Russian Federation. E-mail: AMalysheva@cspmpz.ru

**Information about the authors:** Malysheva A. G., <https://orcid.org/0000-0003-3112-0980>

**Contribution:** Abramov E. G. – collection and processing of material, statistics, writing a text. Malysheva A. G. – research concept and design, writing a text, editing, approval of the final version of the article, responsibility for the integrity of all parts of the article.

**Conflict of interest.** The authors declare no conflict of interest.

**Acknowledgement.** The study had no sponsorship.

Received: August 4, 2021 / Accepted: November 25, 2021 / Published: February 09, 2022

## Введение

Трансформация веществ – актуальная проблема гигиены окружающей среды. В воздухе городов, воздушной среде помещений, воде, почве обнаружены сотни органических соединений. Под влиянием естественных и техногенных физико-химических факторов в объектах окружающей среды происходят процессы трансформации этих веществ. Если при контроле ориентироваться только на исходные вещества, можно сделать ошибочный вывод о ситуации экологического благополучия, поскольку не учитывается, что при трансформации можно получить новый комплекс загрязнений, среди которых возможно присутствие веществ более токсичных и опасных, чем исходные [1–4].

Исследование процессов трансформации в воде проведено на примере мочевины – одного из основных в весовом отношении загрязняющих веществ, поступающих в окружающую среду с продуктами жизнедеятельности человека и животных. Здоровый человек выделяет ежедневно в среднем 30 г мочевины [5].

Мочевина (карбамид, амид карбаминовой кислоты), химическая формула  $(\text{NH}_2)_2\text{CO}$ , представляет собой главный конечный продукт азотистого обмена в организме человека и млекопитающих. Она образуется при распаде белков и выделяется с мочой. Мочевина поступает в водоёмы с хозяйственно-бытовыми коллекторными сточными водами, поверхностными стоками в районах, использующих карбамид как удобрение, с аварийными сбросами отходов животноводческих комплексов, со стоками предприятий, производящих карбамид. Если бы в окружающей среде отсутствовали естественные процессы деградации мочевины, гидросфера Земли оказалась бы пересыщенной этим азотистым шлаком. В окружающей среде (почве, воде и т. п.) присутствуют микроорганизмы, вырабатывающие фермент, активно гидролизующий поступающую мочевину. Этот фермент (уреаза) выполняет глобальную роль, катализируя реакцию разложения мочевины:



Эту реакцию можно рассматривать как процесс экологической минерализации органического азотистого шлака. В результате этого процесса водорастворимый нелетучий органический субстрат (мочевина) трансформируется в летучие продукты – аммиак и диоксид углерода. Однако следует отметить, что основная масса образовавшихся продуктов не улетучивается, а в нейтральной среде воды и почвы взаимодействует между собой с образованием гидрокарбоната аммония, который усваивается растениями и микроорганизмами и утилизируется как источник азота для биосинтеза протеинов, нуклеиновых кислот и других азотистых биологических компонентов. В результате уреазной реакции

биотический поллютант (карбамид) превращается в легкоусвояемый нутриент (аммонийную соль) автотрофных организмов гидросферы.

Следует отметить, что уреазная активность микроорганизмов природных вод хотя и обнаруживается, но находится на относительно низком уровне по ряду причин, в частности из-за невысокой концентрации уреазно-положительных микроорганизмов в естественных водоёмах и низкой фоновой концентрации мочевины, возможности ингибирования микробной уреазы ионами тяжёлых металлов и т. п. В связи с этим в образцах природной воды всегда обнаруживается некоторое количество неразложившейся «фоновой» мочевины. Так, уровень мочевины в водоёмах варьируется от 3,3 до 10,3 мкмоль/дм<sup>3</sup> [6, 7].

Гигиенический норматив мочевины (карбамида) в воде водных объектов хозяйственно-питьевого и культурно-бытового водопользования не установлен, но в водах водных объектов рыбохозяйственного назначения гигиенический норматив находится на уровне 80 мг/дм<sup>3</sup>, и карбамид отнесён к 4-му классу опасности\*. Согласно этому документу, контроль карбамида в воде водных объектов рыбохозяйственного назначения рекомендовано осуществлять по формальдегиду.

Отметим также, что методы прямого определения мочевины в воде водных объектов отсутствуют. Это обусловлено её относительной химической инертностью, поскольку симметричная молекула мочевины с насыщенными связями не сорбируется ни полярными (ионообменными материалами), ни гидрофобными сильно развитыми сорбентами (активированные угли).

Однако в биосредах определению мочевины уделяется большое внимание [7–11], как и проблеме контроля мочевины в стоках сельскохозяйственных производств и стоках промышленных предприятий по выпуску карбамида [12–14].

Значительное количество косвенных методов определения карбамида основано на реакции ферментативного гидролиза мочевины под действием уреазы до аммиака (иона аммония) и углекислого газа [15–21]. По количественному выходу аммиака (иона аммония) рассчитывается концентрация мочевины в соответствии с реакцией:

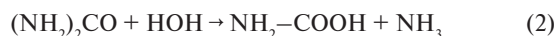


В основу количественного расчёта концентрации мочевины положено вытекающее из реакции соотношение:

$$C_{(\text{NH}_2)_2\text{CO}} = [M_{(\text{NH}_2)_2\text{CO}} / 2 M_{\text{NH}_3}] \cdot C_{\text{NH}_3} = 1,765 \cdot C_{(\text{NH}_3)}, \text{ мг/дм}^3.$$

\* Приложение к приказу Минсельхоза России № 552. Нормативы качества воды водных объектов рыбохозяйственного значения, в том числе нормативы предельно допустимых концентраций вредных веществ в водах водных объектов рыбохозяйственного значения. М.; 2016.

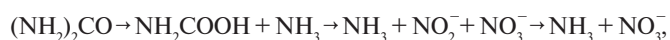
Концентрацию иона аммония определяли потенциометрическим методом с аммонийным ионоселективным электродом [21]. В некоторых случаях возможно также неполное протекание биохимической реакции:



с образованием промежуточного продукта (карбаминовой кислоты) [22–24]. Однако протекание гидролиза по этому механизму предполагает двукратное занижение результатов определения мочевины. Выход аммония в этом случае соответствует количеству мочевины, расчёт концентрации которой производится по соотношению:

$$C_{(\text{NH}_2)_2\text{CO}} = [M_{(\text{NH}_2)_2\text{CO}} / M_{\text{NH}_3}] \cdot C_{\text{NH}_3} = 3,529 \cdot C_{\text{NH}_3}, \text{ мг/дм}^3.$$

Необходимо отметить, что в природной воде в реальных условиях загрязнения водоёмов вероятно также биохимическая трансформация по цепочке превращений



из чего следует вероятность протекания параллельных процессов аммонификации и нитрификации [25–27].

Как показано выше, стадия ферментативной аммонификации под действием уреазы протекает в соответствии со схемой:



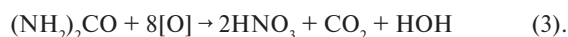
Далее аммиак окисляется под действием бактерий *Nitrosomonas* в нитрит:



Нитрит под действием бактерий *Nitrobacter* превращается в нитрат:



Суммарно образование нитрата как продукта трансформации в результате процесса условного (биохимического) окисления мочевины можно представить схемой реакции:



Поскольку выход нитрата сопровождается протонированием водной системы, можно предположить, что такой механизм при наличии влияния биохимических факторов возможен, например, в природной воде с высоким содержанием бикарбоната, нейтрализующего кислоту, что сдвигает равновесие процесса вправо. В этом случае аммиак отсутствует, а расчёт исходной концентрации мочевины можно сделать по нитрату:

$$C_{(\text{NH}_2)_2\text{CO}} = [M_{(\text{NH}_2)_2\text{CO}} / M_{\text{NO}_3^-}] \cdot C_{\text{NO}_3^-} = 0,48 \cdot C_{\text{NO}_3^-}, \text{ мг/дм}^3.$$

Таким образом, учитывая разнообразие теоретически возможных механизмов процессов трансформации мочевины и отсутствие прямого метода её контроля в воде, представлялось актуальным разработать хроматографический метод анализа карбамида в воде и использовать его для мониторинга содержания мочевины и азотсодержащих продуктов её трансформации в реальных условиях загрязнения различных водных объектов.

## Материалы и методы

В исследовании использован хроматограф «Стайер» с амперометрическим и кондуктометрическим детекторами.

При анионном анализе использована разделяющая колонка Phenomenex Star-Ion A-300 100/4.6 (США); элюент — 0,9 ммоль/дм<sup>3</sup> Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> + 0,85 ммоль/дм<sup>3</sup> NaHCO<sub>3</sub>; скорость потока — 1 см<sup>3</sup>/мин; детектирование кондуктометрическое со стандартным капиллярным подавлением фона, температура колонки 30 °С; объём петли дозатора 10 µl; давление 4,4 МПа.

При определении нитрита использована разделяющая колонка Phenomenex Star-Ion A-300 100/4.6 (США); элюент — 0,9 ммоль/дм<sup>3</sup> Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> + 0,85 ммоль/дм<sup>3</sup> NaHCO<sub>3</sub>;

скорость потока — 1 см<sup>3</sup>/мин; детектирование амперометрическое с капиллярным эксклюзивным подавлением фона [28, 29], U<sub>анодное</sub> = +1,05 V; температура колонки 30 °С; объём петли дозатора 10 µl; давление 4,4 МПа.

При катионном анализе ионов аммония использована разделяющая колонка Shodex IC YS-50 150/4,6 (Япония); элюент — 3 ммоль/дм<sup>3</sup> HNO<sub>3</sub>; скорость потока — 0,7 см<sup>3</sup>/мин; детектирование кондуктометрическое без подавления фона; температура колонки 30 °С; объём петли дозатора 50 µl; давление 6 МПа.

Для разработки метода определения мочевины использована стандартная катионная колонка фирмы «Аквилон» Aquiline C1P, 5 µ, 150 × 4,6 mm; элюент — водный раствор метановой кислоты 1 ммоль/дм<sup>3</sup>; скорость элюирования 1 см<sup>3</sup>/мин; температура колонки 30 °С; время выхода аналитического сигнала 14,5 мин; петля дозатора 200 µl; давление 6 МПа; детектирование амперометрическое U<sub>анодное</sub> = 1,75 V. В диапазоне концентраций мочевины 5–100 мг/дм<sup>3</sup> ввод пробы в хроматограф — прямой, без предварительного центрирования. Для обеспечения оптимального режима работы разделяющей колонки использована пробоподготовка, которая включала упаривание образца воды на водяной бане (t = 70 °С) и одновременное удаление солевого фона с использованием сорбента смешанного действия Пьюролайт MB 400 (1 г на 100 см<sup>3</sup> пробы, условия сорбции статические).

При проведении модельных экспериментов навеску (m = 75 мг) синтетического карбамида растворяли в бидистиллированной воде до получения раствора заданной концентрации (C<sub>0</sub> = 150 мг/дм<sup>3</sup>, V = 0,5 дм<sup>3</sup>). В качестве источника уреазы в раствор добавляли 10 г почвы. Как источник уреазы использована почва (дерново-подзолистая) из Учебно-опытного почвенно-экологического центра «Чашниково» МГУ им. М.В. Ломоносова. Процесс гидролиза проводили при 30 °С, выход продуктов контролировали ионохроматографическим методом с двумя детекторами (амперометрическим и кондуктометрическим) и двумя колонками (катионной и анионной). В ходе эксперимента определяли концентрации продуктов гидролиза: аммония, нитритов и нитратов.

Объектами исследований являлись:

- модельные водные растворы, приготовленные на бидистиллированной воде с различным содержанием синтетической мочевины;
- вода централизованной системы питьевого водоснабжения г. Москвы, отличающаяся разным минеральным составом (места отбора: Крокус Сити, ул. Тверская, ул. Беговая, ул. Погодинская, ул. Шверника, ул. Приорова, Фили, Варшавское ш., ул. Дубнинская, ул. Марфинская, Отрадное, ВВЦ, Останкино);
- питьевая бутилированная вода («Святой источник», «Архыз»);
- речная вода (место отбора):
  - р. Москва — правый берег, Бережковская наб., 30 м от пл. «Европа», метро «Киевская», 5 м от пешеходного моста, 5 м от берега, 55.743624° с.ш. 37.571818 в.д.;
  - р. Дон — левый берег, с. Романово, Липецкая область, 5 м от берега, рядом с мостом, 53.126549° с.ш. 39.164332° в.д.;
  - канал им. Москвы — 100 м от ж/д ст. Морозки, под мостом, 5 м от берега, 56.207493° с.ш. 37.526164° в.д.

## Результаты

Применение сорбента смешанного действия при разработке метода анализа мочевины позволило удалить не только неорганические компоненты, но и природные гуминовые и фульвокислоты, а в полученном концентрате степень центрирования составила 10–50 раз, что обеспечило нижний предел обнаружения мочевины на уровне 0,5 мг/дм<sup>3</sup>.

На рис. 1 приведены хроматограммы калибровочных растворов мочевины в бидистиллированной воде в диапазоне концентраций 5–100 мг/дм<sup>3</sup>.

Линейность зависимости площадей пиков от концентрации сохранялась в указанном диапазоне при относительной



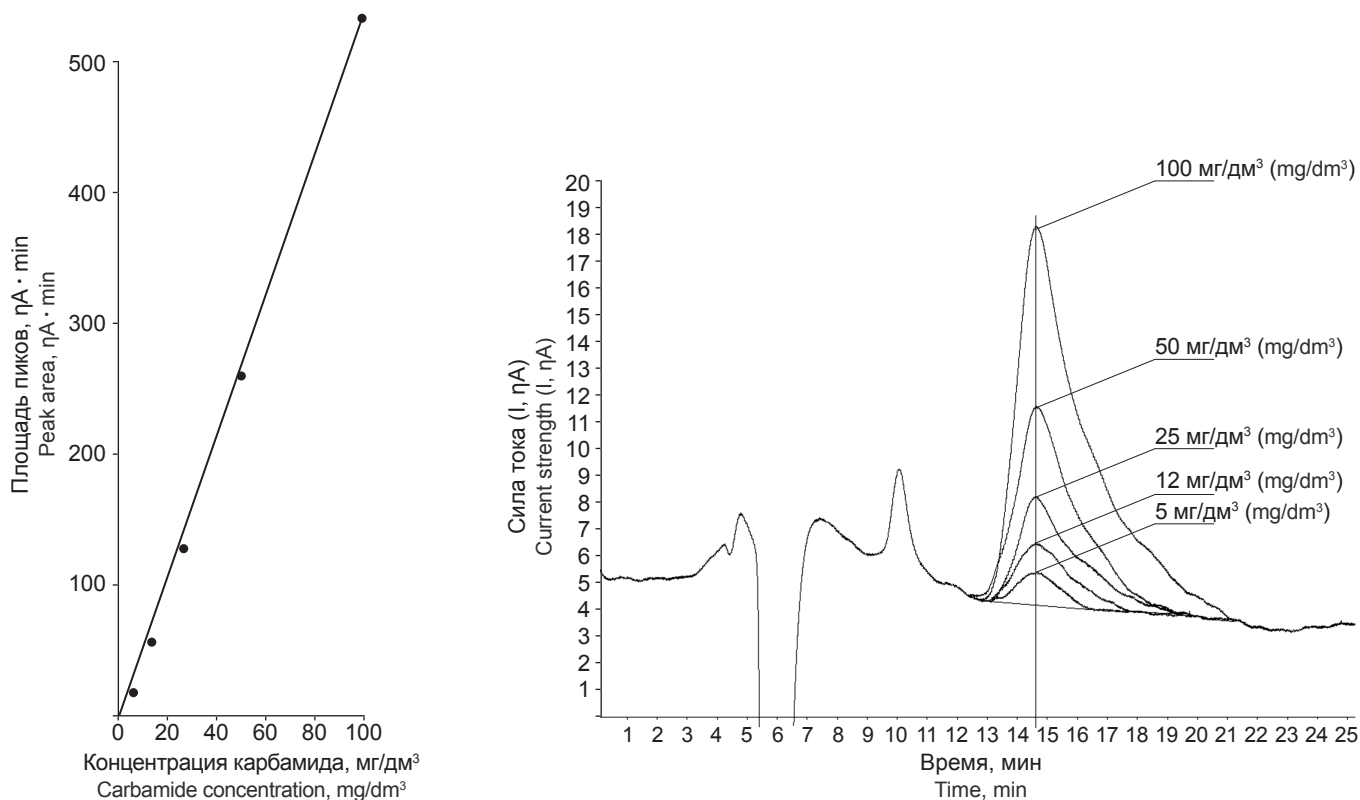


Рис. 1. Хроматограммы калибровочных растворов карбамида в бидистиллированной воде.

Fig. 1. Chromatograms of calibration solutions of carbamide in bidistilled water.

погрешности для 5 повторностей по каждой концентрации с относительной погрешностью  $\leq 1,5\%$ .

Аналогичные результаты получены с использованием пробоподготовки, включающей упаривание и применение сорбента смешанного действия Пьюролайт МВ 400. В качестве матрицы использована бутилированная вода «Архыз». Вносимые количества синтетической мочевины соответствовали диапазону 0,5–10  $\text{mg}/\text{dm}^3$ , пробы концентрировали в 10 раз, а предел обнаружения карбамида в линейном диапазоне для реального образца воды составил 0,5  $\text{mg}/\text{dm}^3$ . Применение сорбента обеспечило удаление солевого состава до следовых значений, что позволило использовать деионизированную воду в качестве фоновой при получении хроматограмм. Оптимальным для анализа (с учётом времени, расхода сорбента Пьюролайт МВ 400 и качества аналитического сигнала) являлось упаривание 500  $\text{cm}^3$  воды до 50  $\text{cm}^3$  с добавлением 5 г сорбента. Кратковременное использование метода без применения сорбента (и/или концентрирования) возможно, однако удаление солевого фона являлось необходимым условием для длительной работы разделяющей колонки без дополнительной регенерации более сильным элюентом, поскольку ионная сила раствора муравьиной кислоты недостаточна для вымывания сильно удерживаемых компонентов: натрия, калия, аммония. В то же время слабое элюирующее действие раствора муравьиной кислоты позволило сформировать аналитически значимый концентрационный пик карбамида, который не удерживался в случае использования других колонок, как ионных, так и традиционных, для высокоэффективной жидкостной хроматографии. Применение амперометрического детектора также явилось определяющим фактором. Анодный потенциал в 1,75 В не обеспечивал разряд вещества, что также свидетельствовало о химической стойкости мочевины и уникальности природного уреазного гидролиза. Тем не менее относительно малая фоновая электропроводность раствора метановой кислоты позволила фиксировать достаточный по величине электри-

ческий сигнал при локальном концентрационном изменении электропроводности из-за наличия пика мочевины.

В табл. 1 приведены результаты анализа солевого состава воды, полученные стандартными методами ионной хроматографии.

Из таблицы видно, что:

- существуют различия в солевом составе московской водопроводной воды, снабжающей четырьмя станциями водоподготовки (Рублёвской, Западной, Северной и Восточной). При этом Рублёвская и Западная станции осуществляют водозабор из р. Москвы, Северная — из канала им. Москвы, Восточная — из Акуловского водохранилища. Эти водоисточники имеют разный исходный солевой состав;
- обнаружено разное содержание некоторых компонентов в воде водоисточника и водопроводной воде. Так, содержание кальция и сульфатов в воде водоисточника (р. Москва) и водопроводной воде (ЮЗАО и САО) отличалась почти в  $\sim 1,5$  раза. В исходной воде канала им. Москвы кальция и сульфатов в  $\sim 1,5$  раза меньше, чем в водопроводной воде (СВАО);
- показано увеличение концентрации хлорида натрия за последние годы в источниках водоснабжения. Так, в воде р. Москвы с 2013 по 2020 год концентрация хлоридов и натрия выросла почти в 2 раза, в воде р. Дон — в 1,5 раза;
- установлено различие в содержании бикарбоната в речной воде: р. Дон ( $\sim 310 \text{ mg}/\text{dm}^3$ ) и р. Москвы ( $\sim 190 \text{ mg}/\text{dm}^3$ ).

На рис. 2 приведены хроматограммы мочевины в речной воде (р. Москвы, р. Дон, канала им. Москвы), а также водопроводной воде. Из рисунка видно, что максимальная концентрация карбамида обнаружена в воде р. Дон — 7,5  $\text{mg}/\text{dm}^3$ , в воде р. Москвы, в воде канала им. Москвы и водопроводной воде — 6,5; 3,8; 1,5  $\text{mg}/\text{dm}^3$  соответственно. Отметим, что выявленные концентрации карбамида в исследованных водах почти на порядок выше фоновое содержание для поверхностных вод, равного 10  $\mu\text{g}/\text{dm}^3$ -экв/ $\text{dm}^3$ , что соответствует  $\sim 0,6 \text{ mg}/\text{dm}^3$  [6].

**Минеральный состав (мг/дм<sup>3</sup>) воды различных водных объектов**  
**Mineral composition (mg/dm<sup>3</sup>) in the water of various water bodies**

Водный объект Water body	Показатель / Indicator						
	Na <sup>+</sup>	K <sup>+</sup>	Mg <sup>2+</sup>	Ca <sup>2+</sup>	Cl <sup>-</sup>	SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup>
Водопроводная вода ЦАО, ЮЗАО (водозабор – р. Москва) Tap water of the Central Administrative District, South-West Administrative District (water intake is Moscow River)	17–18	3.0–3.5	15–17	70–75	25–27	39–40	250
Река Москва, 2020 год / Moscow River, 2020	<b>17–18</b>	2.7–3.0	12–15	53–55	<b>25–27</b>	17–20	180–190
Река Москва, 2013 год / Moscow River, 2013	<b>10–12</b>	2.7–3.0	12–14	50–54	<b>14–16</b>	17–20	185–190
Водопроводная вода САО, СВАО (водозабор – канал им. Москвы) Tap water of the Northern Administrative District, North-East Administrative District (water intake is Moscow Canal)	7–8	1.7–2.0	8–9	37–40	7.5–8.0	27–30	250
Канал имени Москвы / Moscow Canal	7–8	1.7–2.0	7–9	27–30	7.5–8.0	18–20	175–180
Река Дон (с. Романово), 2020 год / Don river (Romanovo village), 2020	<b>9.5–11.5</b>	2.0–2.2	27–29	80–90	<b>16–18</b>	70–90	300–310
Река Дон (с. Романово) 2013 год / Don river (Romanovo village), 2013	<b>4–6</b>	2.0–2.2	27–29	80–90	<b>12–13</b>	70–90	300–310
Бутилированная вода «Архыз» / Bottled water «Arkhyz»	14	0.2	13	30	4.4	6.8	180
Бутилированная вода «Святой источник» Bottled water «Svyatoy Istochnik»	6	6.7	11	34	33	10	180

Примечание. Жирным шрифтом выделены концентрации контролируемых показателей, которые увеличились за последние 7 лет.  
 Note. The concentrations of controlled indices that have increased over the past seven years are shown in bold type.

Большее содержание мочевины в воде р. Дон по сравнению с другими водными источниками можно объяснить расположением данного региона вблизи зоны интенсивного сельскохозяйственного использования. Мониторинг мочевины осуществляли систематически в течение полугодового временного периода, отбор проб и анализы выполнялись не реже 1 раза в неделю.

Для сравнения в качестве контрольной воды на содержание мочевины исследована бутилированная вода двух торговых марок – «Архыз» и «Святой источник». В обоих случаях карбамид не был обнаружен, о чём свидетельствует хроматограмма на рис. 3.

После установления присутствия карбамида в речной воде представляло интерес осуществить процесс ферментативного гидролиза и изучить его особенности для трёх вариантов водных объектов с применением: 1 – модельного раствора мочевины в бидистиллированной воде, используемой в качестве контрольной; 2 – воды р. Москвы, содержащей бикарбонат в концентрации 190 мг/дм<sup>3</sup>; 3 – воды р. Дон, содержащей бикарбонат в концентрации 310 мг/дм<sup>3</sup>.

Кинетические кривые процесса гидролиза мочевины в бидистиллированной воде приведены на рис. 4.

Кинетические кривые продемонстрировали комплексный характер биохимического гидролиза, включающего

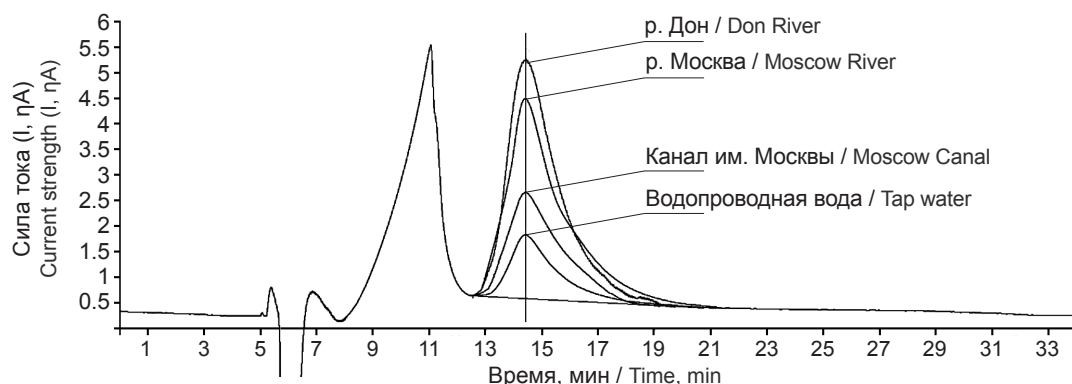


Рис. 2. Хроматограммы мочевины в воде водных объектов.  
 Fig. 2. Chromatograms of urea in water bodies

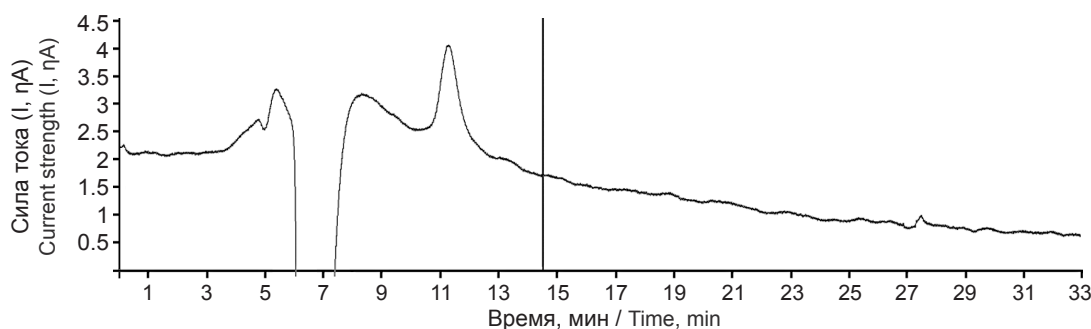


Рис. 3. Хроматограмма бутилированной воды на содержание мочевины.  
 Fig. 3. Chromatogram of bottled water for urea content.

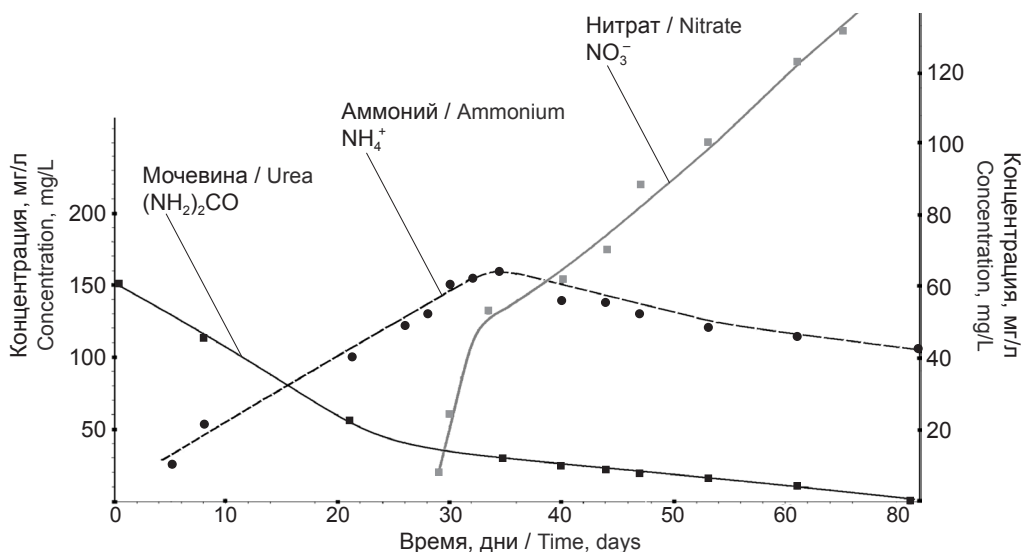


Рис. 4. Кинетические кривые трансформации мочевины и образования промежуточного и конечного продуктов в бидистиллированной воде: мочевины, аммония и нитрата.

Fig. 4. Kinetic curves of urea transformation and formation of intermediate and final products in bidistilled water: urea, ammonium and nitrate.

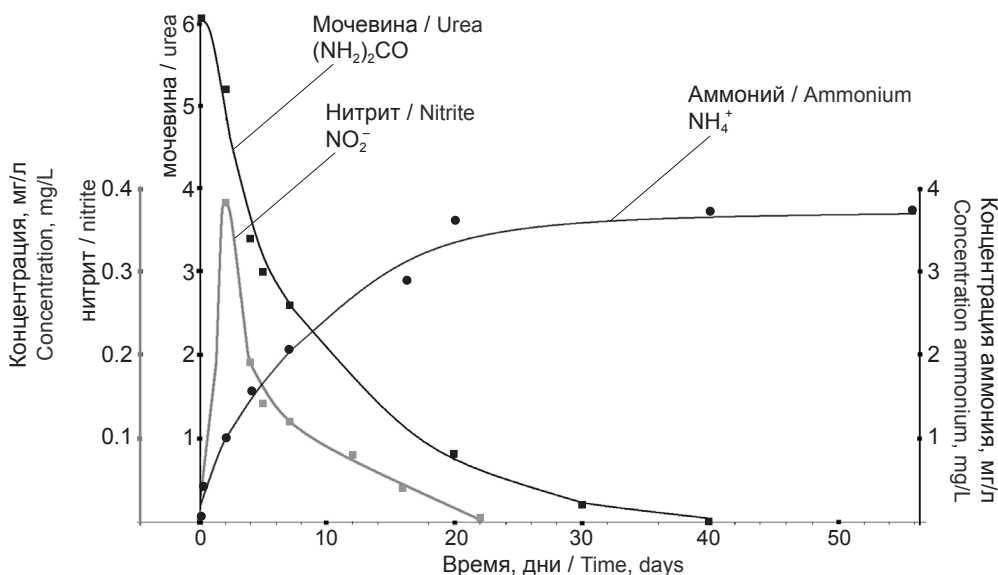


Рис. 5. Кинетические кривые биотрансформации мочевины и образования промежуточного и конечного продуктов в воде р. Москвы: мочевины, нитрита и аммония.

Fig. 5. Kinetic curves of biotransformation of urea and formation of intermediate and final products in the Moscow River water: urea, nitrite and ammonium.

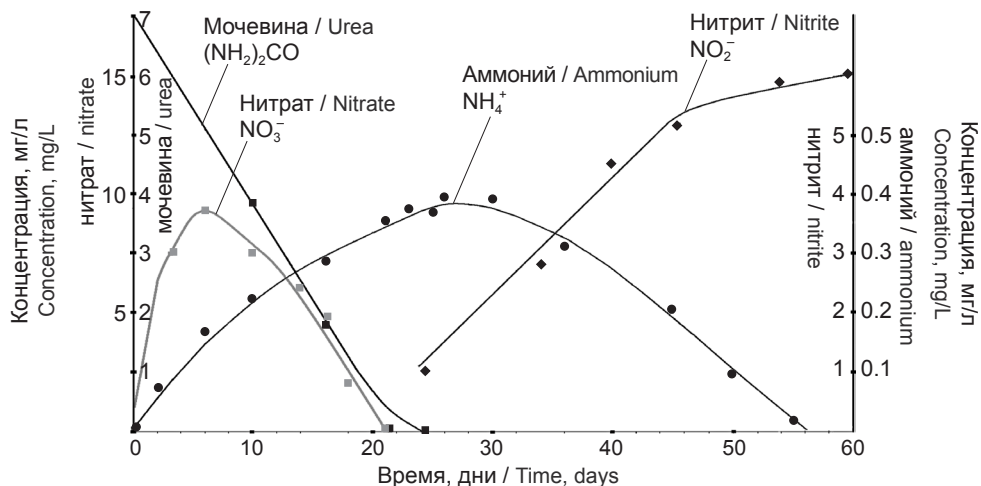


Рис. 6. Кинетические кривые трансформации мочевины и образования промежуточных и конечного продуктов в воде р. Дон: мочевины, нитрита, аммония и нитрата.

Fig. 6. Kinetic curves of biotransformation of urea and formation of intermediate and final products in the Don River water: urea, nitrite, ammonium and nitrate.

Таблица 2 / Table 2

**Изменение концентраций (мг/дм<sup>3</sup>) азотсодержащих компонентов в речной воде в результате ферментативного гидролиза мочевины**  
**Changes in the concentrations (mg/dm<sup>3</sup>) of nitrogen-containing components in river water as a result of enzymatic hydrolysis of urea**

Водный объект Water body	Мочевина Urea (NH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> CO		Аммоний Ammonium NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>		Нитрит Nitrite NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>			Нитрат Nitrate NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	
	С <sub>исх</sub>	С <sub>кон</sub>	С <sub>исх</sub>	С <sub>кон</sub>	С <sub>исх</sub>	С <sub>макс</sub>	С <sub>кон</sub>	С <sub>исх</sub>	С <sub>кон</sub>
Река Москва / Moscow river	6.5	< 0.5	< 0.1	3.7	0.08	0.4	< 0.01	2.2	1.7
Канал имени Москвы / Moscow canal	4.0	< 0.5	< 0.1	2.4	< 0.01	0.3	< 0.01	0.2	< 0.1
Река Дон / Don river	7.5	< 0.5	< 0.1	< 0.1	< 0.01	0.4	< 0.01	4.0	15.5
<i>ПДК (вода водных объектов рыбохозяйственного значения) МРС (water of water objects of commercial fishing importance)</i>	80		0.5		0.08			40	
Вода бутилированная «Архыз» Bottled water «Arkhyz»	< 0.5	< 0.5	< 0.1	< 0.1	< 0.01	< 0.01	< 0.01	0.7	0.7
Вода бутилированная «Святой источник» Bottled water «Svyatoy Istochnik»	< 0.5	< 0.5	< 0.1	< 0.1	< 0.01	< 0.01	< 0.01	0.5	0.5
<i>ПДК (вода, расфасованная в ёмкости, – I-й категории / высшей категории) МРС (water packaged in storage reservoirs – I<sup>st</sup> category / highest category)</i>	Не установлена Not established		0.1 / 0.05		0.5 / 0.005			20 / 5	

Примечание. Концентрация компонентов: С<sub>исх</sub> – исходная; С<sub>макс</sub> – максимальная; С<sub>кон</sub> – конечная.

Note. The concentration of components: С<sub>исх</sub> – initial; С<sub>макс</sub> – maximum; С<sub>кон</sub> – final.

Таблица 3 / Table 3

**Мониторинг воды централизованных систем питьевого водоснабжения г. Москвы и воды водоисточников (для сравнения)**  
**за период май – октябрь 2020 г. на содержание мочевины и продуктов её трансформации, мг/дм<sup>3</sup>**

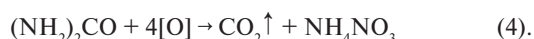
**Water monitoring of centralized drinking water supply systems in Moscow and for comparison of water-source water for the period May – October 2020 for the content of urea and its transformation products, mg/dm<sup>3</sup>**

Станция водоподготовки Water treatment plant	Место отбора проб воды Sampling site of water	Показатель / Index			
		(NH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> CO	NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>
Рублёвская, водозабор – река Москва Rublyovskaya water treatment plant, Moscow river being water supply intake	<b>Река Москва / Moscow river</b>	<b>6.5–7.0</b>	<b>0.08–0.12</b>	<b>&lt; 0.1</b>	<b>2.2–2.8</b>
	Ул. Беговая / Begovaya str.	1.5–2.0	0.45–0.50	0.45–0.60	3.0–3.2
	Ул. Тверская / Tverskaya str.	1.5–2.0	0.40–0.45	0.45–0.60	3.0–3.2
	ТЦ «Крокус Сити» / Crocus-city	1.5–2.0	0.40–0.45	0.30–0.50	3.3–3.5
	Ул. Погодинская / Pogodinskaya str.	1.0–1.5	0.25–0.30	0.40–0.55	3.9–4.5
	Ул. Шверника / Shvernica st.	0.8–1.4	0.07–0.10	0.15–0.20	4.5–5.5
	Ул. Пирогова / Pirogova str.	0.8–1.2	0.05–0.08	0.10–0.15	4.7–5.7
Северная, водозабор – канал имени Москвы Northern water treatment plant, Moscow canal being water supply intake	<b>Канал им. Москвы / Moscow canal</b>	<b>3.5–4.6</b>	<b>&lt; 0.01</b>	<b>&lt; 0.1</b>	<b>0.2–0.3</b>
	Ул. Дубнинская / Dubninskaya str.	1.0–1.3	0.10–0.15	0.30–0.40	1.0–1.5
	Ул. Марфинская / Marphinskaya str.	1.0–1.5	0.07–0.10	0.40–0.60	1.0–1.5
	Останкино, ВДНХ Ostankino, All-Russia Exhibition Center	1.0–1.5	0.07–0.10	0.30–0.40	1.2–1.5
	Отрадное / Otradnoe	1.0–1.5	0.10–0.15	0.30–0.40	1.0–1.5
Западная, водозабор – река Москва Western water treatment plant, Moscow river being water supply intake	Фили / Fili	1.5–2.0	0.24–0.3	0.20–0.25	4.0–4.5
	Варшавское шоссе Varshavskoe highway	1.5–2.0	0.18–0.25	0.20–0.25	4.0–4.5
<i>ПДК (в питьевой воде централизованного водоснабжения) / МРС (water pipe)</i>		–	3.3	2.0	45.0

Примечание. Жирным шрифтом выделены результаты мониторинга воды водоисточников.

Note. The results of water treatment plant monitoring are highlighted in bold.

три процесса: 1) гидролиз или трансформацию мочевины (убывающая кривая), 2) образование, увеличение и последующее снижение концентрации аммония (экстремальный характер кривой), который можно рассматривать как промежуточный продукт трансформации, и 3) образование и увеличение концентрации нитрата (возрастающий тип кривой), являющегося конечным продуктом трансформации. Через 80 дней от начала эксперимента водная система характеризовалась следующими параметрами:  $(\text{NH}_2)_2\text{CO}$  — исчезла,  $\text{NO}_3^-$  — 150 мг/дм<sup>3</sup>;  $\text{NH}_4^+$  — 43 мг/дм<sup>3</sup> при исходной концентрации мочевины в воде, равной 150 мг/дм<sup>3</sup>. По окончании опыта система представляла собой слабоконцентрированный раствор аммиачной селитры в воде. По результатам ионохроматографического анализа соотношение  $\text{NO}_3^- / \text{NH}_4^+ = C_{\text{NO}_3^-} / C_{\text{NH}_4^+} = 150/43 = 3,49$ ; эквимолярное соотношение  $\text{NO}_3^- / \text{NH}_4^+ = M_{\text{NO}_3^-} / M_{\text{NH}_4^+} = 62/18 = 3,44$ , то есть эти соотношения были практически одинаковыми, что позволило рассматривать превращение мочевины в модельном эксперименте в соответствии с реакцией:



Материальный баланс по продукту в соответствии с реакцией (4) показал следующий результат:  $C_{\text{NH}_4\text{NO}_3} = [M_{\text{NH}_4\text{NO}_3} / M_{(\text{NH}_2)_2\text{CO}}] \cdot C_0 = (80/60) \cdot 150 = 200 \text{ мг/дм}^3$ , а фактическое содержание  $C_{\text{NH}_4\text{NO}_3}$  (по результатам анализа) = 150 + 43 = 193 мг/дм<sup>3</sup>, то есть выход продукта составил 96,5%.

Аналогичные опыты (рис. 5, 6) проведены с использованием воды рек Москвы и Дона. Как видно из табл. 1, за период с 2013 по 2020 год в воде этих рек наблюдалось увеличение хлоридов, в частности, в воде р. Дон от 11,7 до 17 мг/дм<sup>3</sup>, а в р. Москве — от 16 до 25 мг/дм<sup>3</sup>, то есть почти в 1,6 раза за 7 лет. В то же время известно, что хлориды наряду с натрием, креатинином, мочевой кислотой являются основными компонентами в моче. Рост концентрации хлоридов в летний период в речной воде можно объяснить сбросом стоков животноводческих производств. Так, вверх по течению, на расстоянии 5–7 км от места отбора проб воды из р. Дон, расположены свиноводческие хозяйства.

В табл. 2 приведены результаты ферментативного гидролиза мочевины (с добавлением почвы в качестве источника уреазы), содержащейся в воде трёх речных систем, являющихся источниками питьевого водоснабжения. Для трёх образцов речной воды состав азотсодержащих компонентов изменялся существенным образом.

В табл. 3 приведены результаты мониторинга содержания мочевины и азотсодержащих продуктов её трансформации в водопроводной воде г. Москвы, поступающей от трёх станций водоподготовки, в частности Рублёвской, Западной и Северной с водозабором из р. Москвы и из канала им. Москвы соответственно. В целом на качественном уровне результаты, полученные при исследовании водопроводной воды г. Москвы, коррелируют с теоретическими механизмами процессов трансформации карбамида. Так, содержание нитритов, нитратов и аммония в водопроводной воде, поступающей от разных станций водоснабжения, по всем исследованным точкам превосходит их содержание в исходной речной воде.

## Обсуждение

Исследования ограничены водой водных объектов с общей минерализацией не выше 15 мг-экв/дм<sup>3</sup>, содержание мочевины в которых выше 0,5 мг/дм<sup>3</sup>.

Процесс трансформации карбамида в воде зависит не только от присутствия, концентрации и длительности влияния деструктирующего фактора (уреазы), но и от качественно-количественного состава загрязняющих веществ в воде. Данные, представленные на рис. 4–6, иллюстрируют, что гидролиз мочевины может протекать по разным меха-

низмам, а именно: в дистиллированной воде по реакции (4) со стехиометрическим образованием нитрата аммония; в воде р. Москвы по классической схеме (1) с преимущественным образованием ионов аммония ( $C \sim 3,7\text{--}3,8 \text{ мг/дм}^3$ ); в воде р. Дон по реакции (3) с преимущественным образованием ионов нитрата ( $C \sim 15,5 \text{ мг/дм}^3$ ).

В речной воде (как р. Москвы, так и р. Дон) в качестве промежуточного продукта трансформации обнаружено значимое количество нитрита (до  $\sim 0,4 \text{ мг/дм}^3$ ). Отметим, что эта концентрация коррелирует с содержанием нитрита в водопроводной воде (см. табл. 3), поступающей с Рублёвской станции водоподготовки.

Существенным отличием воды р. Москвы от воды р. Дон является не только разница в солесодержании, но и разница в концентрации бикарбонатных ионов [30], а именно:  $\sim 190$  и  $\sim 310 \text{ мг/дм}^3$  соответственно. Показано, что состав воды, в частности большая концентрация бикарбонатных ионов в воде р. Дон, способствовала более глубокому «окислению» мочевины до нитрата в соответствии с реакцией (3) из-за сдвига равновесия при нейтрализации кислотности в процессе реакции.

В процессе ферментативного гидролиза мочевины до равновесного состояния концентрация аммония в воде р. Москвы почти в два раза превышала ПДК ( $\sim 3,7 \text{ мг/дм}^3$ ), концентрация нитрита в процессе превращений достигала значимой величины  $\sim 0,4 \text{ мг/дм}^3$ . Концентрация нитрата, образовавшегося из мочевины в воде р. Дон, составила третью часть от величины ПДК. Эти результаты показали потенциальную гигиеническую значимость присутствия в воде водоисточника даже в небольших концентрациях малотоксичного карбамида, способного трансформироваться с образованием более токсичных продуктов.

## Заключение

Предложен высокочувствительный ионохроматографический метод определения мочевины в воде водных объектов с чувствительностью на уровне 0,5 мг/дм<sup>3</sup>.

Выявлено, что в результате процессов биотрансформации мочевины из малотоксичного вещества возможно образование более токсичных продуктов — нитритов, нитратов, ионов аммония.

При контроле за загрязнением мочевиной различных водных объектов показана необходимость учёта продуктов её биотрансформации под действием уреазы, в противном случае рекомендации по мониторингу загрязнения водных объектов могут быть направлены на контроль не тех веществ, а в научном плане усилия будут сосредоточены на разработке не наиболее опасных веществ.

На способность к трансформации мочевины в воде влияет не только присутствие, концентрация и длительность влияния деструктирующего фактора, но и качественно-количественный состав веществ, загрязняющих воду.

Применение кинетического подхода для изучения процессов биотрансформации мочевины в воде в модельных условиях показало, что экстремальный тип кинетических кривых соответствует образованию и накоплению промежуточных продуктов — нитритов, возрастающий тип соответствует накоплению конечных продуктов — нитратов и ионов аммония.

Мониторинг воды централизованной системы питьевого водоснабжения г. Москвы на содержание мочевины и продуктов её биотрансформации — нитритов, нитратов и ионов аммония — показал присутствие мочевины на уровне 0,8–2 мг/дм<sup>3</sup>, нитритов — 0,07–0,45 мг/дм<sup>3</sup>, нитратов — 1–5,7 мг/дм<sup>3</sup>, ионов аммония — 0,1–0,6 мг/дм<sup>3</sup>, что ниже гигиенических нормативов для воды питьевого водоснабжения, однако их содержание может изменяться в зависимости от концентрации мочевины и качественно-количественного состава загрязняющих воду веществ.



## ЛИТЕРАТУРА

(п.п. 15, 18–23, 26, 27, 30 см. References)

1. Малышева А.Г., Козлова Н.Ю., Юдин С.М. Неучтенная химическая опасность процессов трансформации веществ в окружающей среде при оценке эффективности технологий. *Гигиена и санитария*. 2018; 97(6): 490–7. <https://doi.org/10.18821/0016-9900-2018-97-6-490-497>
2. Малышева А.Г., Рахманин Ю.А. *Физико-химические исследования и методы контроля веществ в гигиене окружающей среды*. СПб.: Профессional; 2012.
3. Малышева А.Г., Юдин С.М. Трансформация химических веществ в окружающей среде как неучтенный фактор опасности для здоровья населения. *Химическая безопасность*. 2019; 3(2): 45–66. <https://doi.org/10.25514/CHS.2019.2.16005>
4. Некрасова Л.П., Малышева А.Г., Абрамов Е.Г. Трансформация фенола и двухатомных фенолов в поверхностной воде под действием природных физико-химических факторов. *Гигиена и санитария*. 2019; 98(11): 1206–11. <https://doi.org/10.18821/0016-9900-2019-98-11-1206-1211>
5. Каррер П. *Курс органической химии*. Пер. с нем. Ленинград.: Госхимиздат; 1962.
6. Тихоненко С.А., Дубровский А.В., Ким А.Л., Мусин Е.В. Диагностическая пластина для определения концентрации мочевины. Патент RU 2710268 С2; 2019.
7. Иванов А.В., Милейко В.Е. Способ исследования уреазной активности. Патент RU 2236792 С2; 2001.
8. Родионов Ю.Б., Язвовская С.С. Способ определения мочевины в биологических жидкостях и набор реактивов для его осуществления. Патент RU 2122740 С1; 1998
9. Федотов Г.Н., Неклюдов А.Д., Горшкова А.В., Пахомов Е.И., Поздняков А.И. Способ определения скорости гидролиза мочевины уреазой в почвах. Патент RU 2236004 С1; 2004.
10. Гиззатова Г.Л., Шипаева Т.А. Уреаза – ключевой фермент биодеградации мочевины. *Международный научно-исследовательский журнал*. 2016; (3–3): 88–90. <https://doi.org/10.18454/IRJ.2016.45.175>
11. Рыжаков А.В., Кукконен Н.А. Мочевина в водных объектах гумидной зоны. *Экологическая химия*. 2014; 23(1): 44–8.
12. Кирсанов В.В. Трансформация соединений азота при аномальных сбросах сточных вод химического предприятия. *Вестник технологического университета*. 2017; 20(13): 128–9.
13. Судаков В.Г., Коваленко Л.А., Неверова О.П., Тошова Е.Ю., Кадочников М.Ю. Способ оценки состояния водисточника в зоне стоков сельскохозяйственного предприятия. Патент RU 2256176 С1; 2005.
14. Амбросова Г.Т., Санников В.А., Булатов Н.И., Крисанов В.Ю., Курдяева М.В., Волошина Н.А. Способ очистки сточных вод животноводческих комплексов. Патент RU 2067967 С1; 1996.
15. Забелина О.Н. Ферментативная активность почвы природно-рекреационных ландшафтов урбанизированных территорий. *Современные проблемы науки и образования*. 2014; (2): 493.
16. Авдеенков П.П., Чистяков Н.Е. Биохимический механизм аммонификации. В кн.: *Сборник трудов XXII научно-практической конференции «Российская наука в современном мире»*. М.; 2019: 16–7.
17. Блайхер К., Мютель В., Виайра Э., Вихманн Ю., Волтеринг Т.И. *Производные эфиров карбаминной кислоты, их получение (варианты) и их применение в качестве лигандов метаболитных глутаматных рецепторов*. Патент RU 2248349 С2; 2005.
18. Чистяков Н.Е., Авдеенков П.П., Пудовкин М.М. Физиологические аспекты процессов нитрификации и денитрификации. В кн.: Шувалов М.В., Пищулов А.А., Стрелков А.К., ред. *Традиции и инновации в строительстве и архитектуре. Строительные технологии*. Самара; 2019: 220–6.
19. Абрамов Е.Г., Малышева А.Г. Ионохроматографическое амперометрическое определение нитритов, йодидов и железа двухвалентного в воде. *Гигиена и санитария*. 2020; 99(11): 1288–93. <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2020-99-11-1288-1293>
20. Абрамов Е.Г., Малышева А.Г. Трансформация йодид- и бромид-ионов при обеззараживании воды. В кн.: *Современные проблемы оценки, прогноза и управления экологическими рисками здоровью населения и окружающей среды, пути их рационального решения. Материалы III Международного форума Научного совета Российской Федерации по экологии человека и гигиене окружающей среды*. М.; 2018: 8–11.

## REFERENCES

1. Malysheva A.G., Kozlova N.Yu., Yudin S.M. The unaccounted hazard of processes of substances transformation in the environment in the assessment of the effectiveness of the application of technologies. *Gigiena i Sanitariya (Hygiene and Sanitation, Russian journal)*. 2018; 97(6): 490–7. <https://doi.org/10.18821/0016-9900-2018-97-6-490-497> (in Russian)
2. Malysheva A.G., Rakhmanin Yu.A. *Physical and Chemical Studies and Methods of Control of Substances in Environmental Hygiene [Fiziko-khimicheskie issledovaniya i metody kontrolya veshchestv v gigiene okruzhayushchey sredy]*. St. Petersburg: Professional; 2012. (in Russian)
3. Malysheva A.G., Yudin S.M. Transformation of chemicals in the environment as an overlooked hazard factor for public health. *Khimicheskaya bezopasnost'*. 2019; 3(2): 45–66. <https://doi.org/10.25514/CHS.2019.2.16005> (in Russian)
4. Nekrasova L.P., Malysheva A.G., Abramov E.G. Transformation of phenol and diatomic phenols in surface water under the action of natural physico-chemical factors. *Gigiena i Sanitariya (Hygiene and Sanitation, Russian journal)*. 2019; 98(11): 1206–11. <https://doi.org/10.18821/0016-9900-2019-98-11-1206-1211> (in Russian)
5. Karrer P. *Lehrbuch der Organischen Chemie*. Shtuttgart: Georg Thieme Verlag; 1959.
6. Tikhonenko S.A., Dubrovskiy A.V., Kim A.L., Musin E.V. Diagnostic plate for determination of urea concentration. Патент RU 2710268 С2; 2019. (in Russian)
7. Ivanov A.V., Mileyko V.E. A method for studying urease activity. Патент RU 2176792 С2; 2001. (in Russian)
8. Rodionov Yu.B., Yazvovskaya S.S. A method for determining urea in biological fluids and a set of reagents for its implementation. Патент RU 2122740 С1; 1998. (in Russian)
9. Fedotov G.N., Neklyudov A.D., Gorshkova A.V., Pakhomov E.I., Pozdnyakov A.I. Method for determining the rate of hydrolysis of urea by urease in soils. Патент RU 2236004 С1; 2004. (in Russian)
10. Gizatova G.L., Shipaeva T.A. Urease is a key urea degradation enzyme. *Mezhdunarodnyy nauchno-issledovatel'skiy zhurnal*. 2016; (3–3): 88–90. <https://doi.org/10.18454/IRJ.2016.45.175> (in Russian)
11. Ryzhakov A.V., Kukkonen N.A. Urea in water bodies of the humid zone. *Ekologicheskaya khimiya*. 2014; 23(1): 44–8. (in Russian)
12. Kirsanov V.V. Transformation of nitrogen compounds in abnormal wastewater discharges of a chemical enterprise. *Vestnik tekhnologicheskogo universiteta*. 2017; 20(13): 128–9. (in Russian)
13. Sudakov V.G., Kovalenko L.A., Neverova O.P., Toshova E.Yu., Kadochnikov M.Yu. Патент RU 2256176 С1; 2005. (in Russian)
14. Ambrosova G.T., Sannikov V.A., Bulatov N.I., Krisanov V.Yu., Kurdyayeva M.V., Voloshina N.A. Method of wastewater treatment of livestock complexes. Патент RU 2067967 С1; 1996. (in Russian)
15. Kappaun K., Piovesan A.R., Carlini C.R., Ligabue-Braun R. Ureasases: historical aspects, catalytic, and non-catalytic properties – a review. *J. Adv. Res.* 2018; 13: 3–17. <https://doi.org/10.1016/j.jare.2018.05.010>
16. Zabelina O.N. Enzymatic activity of the soil of natural and recreational landscapes of urbanized territories. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya*. 2014; (2): 493. (in Russian)
17. Avdeenkov P.P., Chistyakov N.E. Biochemical mechanism of ammonification. In: *Proceedings of the XXII Scientific and Practical Conference «Russian Science in the Modern World» [Sbornik трудов XXII nauchno-prakticheskoy konferentsii «Rossiyskaya nauka v sovremennom mire»]*. Moscow: 2019: 16–7. (in Russian)
18. Udert K.M., Larsen T.A., Biebow M., Gujer W. Urea hydrolysis and precipitation dynamics in a urea collecting system. *Water Res.* 2003; 37(11): 2571–82. [https://doi.org/10.1016/s0043-1354\(03\)00065-4](https://doi.org/10.1016/s0043-1354(03)00065-4)
19. Lv S., Bai F.Y., Pan X.M., Zhao L. Theoretical insight into the role of urea in the hydrolysis reaction of NO<sub>x</sub> as a source of hono and aerosols. *Environ. Chem.* 2018; 15(6): 372–85. <https://doi.org/10.1017/EN18083>
20. Nicolle A., Cagnina S., de Bruin T. First-principle based modeling of urea decomposition kinetics in aqueous solutions. *Chem. Phys. Lett.* 2016; 664: 149–53.
21. Silva F.V., Nogueira A.R.A., Souza G.B., Reis B.F., Araujo A.N., Montenegro M.C.M.B.S., et al. Potentiometric determination of urea by sequential injection using Jack bean meal crude extract as a source of urease. *Talanta*. 2000; 53(2): 331–6. [https://doi.org/10.1016/s0039-9140\(00\)00490-2](https://doi.org/10.1016/s0039-9140(00)00490-2)
22. Jamroz M.H., Dobrowolski J.C. Theoretical IR spectra and stability of carbamic acid complexes. *Vib. Spectrosc.* 2002; 29(1–2): 217–21.
23. Butkovskaya N.I., Setser D.W. Infrared chemiluminescence study of the reaction of hydroxyl radical with formamide and the secondary unimolecular reaction of chemical activated carbamic acid. *J. Phys. Chem. A*. 2018; 122(15): 3735–46. <https://doi.org/10.1021/acs.jpca.8b01512>
24. Blaykher K., Myutel' V., Viayra E., Vikhmann Yu., Voltering T.I. Derivatives of carbamic acid esters, their preparation (variants) and their use as ligands of metabotropic glutamate receptors. Патент RU 2248349 С2; 2005. (in Russian)
25. Chistyakov N.E., Avdeenkov P.P., Pudovkin M.M. Physiological aspects of nitrification and denitrification processes. In: *Traditions and Innovations in Construction and Architecture. Construction Technologies [Traditsii i innovatsii v stroitel'stve i arkhitekture. Stroitel'nye tekhnologii]*. Samara; 2019: 220–6. (in Russian)
26. Sonthiphand P., Neufeld J.D. Nitrifying bacteria mediate aerobic ammonia oxidation and urea hydrolysis within the Grand River. *Aquat. Microb. Ecol.* 2014; 73(2): 151–62.
27. Balvert S.V., Luo J., Schipper L.A. Do glucosinolate hydrolysis products reduce nitrous oxide emission from urine affected soil? *Sci. Total Environ.* 2017; 603–4: 370–80. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.06.089>
28. Abramov E.G., Malysheva A.G. Ionic chromatographic determination of iodides, nitrites and bivalent iron in water with amperometric detector. *Gigiena i Sanitariya (Hygiene and Sanitation, Russian journal)*. 2020; 99(11): 1288–93. <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2020-99-11-1288-1293> (in Russian)
29. Abramov E.G., Malysheva A.G. Transformation of iodide and bromide ions in water disinfection. In: *Modern Problems of Assessment, Forecasting and Management of Environmental Risks to Public Health and the Environment, Ways of Their Rational Solution. Proceedings of the III International Forum of the Scientific Council of the Russian Federation on Human Ecology and Environmental Hygiene [Sovremennye problemy otsenki, prognoza i upravleniya ekologicheskimi riskami zdorov'yu naseleniya i okruzhayushchey sredy, puti ikh ratsionalnogo resheniya. Materialy III Mezhdunarodnogo foruma Nauchnogo sovet Rossiyskoy Federatsii po ekologii cheloveka i gigiene okruzhayushchey sredy]*. Moscow: 2018: 8–11. (in Russian)
30. Abramov E.G. Bicarbonate dualism of river water on the example of Eurasian rivers. In: *International Conference Scientific Research of the SCO Countries: Synergy and Integration*. Beijing; 2019: 209–13.