

ДОСЛІДЖЕННЯ МОЛОДИХ УЧЕНИХ STUDY OF YOUNG SCIENTISTS

УДК 631.43:631.84

Якість гумусових речовин дерново-підзолистого ґрунту за різних систем удобрення¹

О. О. Шовкун^{а*}, М. А. Попірний^б

Національний науковий центр "Інститут ґрунтознавства та агрохімії імені О.Н. Соколовського", Харків, Україна

ІНФОРМАЦІЯ	АНОТАЦІЯ
Отримано 9.11.2024 Отримано після доопрацювання 17.12.2024 Затверджено до видання 18.12.2024 Доступно онлайн 27.12.2024	У статті представлено результати аналітичних досліджень якості гумусових речовин у дерново-підзолистому ґрунті залежно від системи удобрення. Актуальність роботи зумовлена необхідністю розробки ефективних підходів до підвищення родючості ґрунту шляхом управління трансформаціями якості складників його органічної речовини (гумусу). Проби ґрунту, відібрано у польовому досліді, закладеному у 1990 році на території Волинської державної сільськогосподарської дослідної станції у Волинській області в зоні Полісся. Ґрунт дослідної ділянки — дерново-слабопідзолистий глинисто-піщаний (Albic Agrenosols). Варіанти дослідів, обрані для досліджень: контроль (без добрив); гній 10 т/га; гній у поєднанні з мінеральними добривами або сидератами; сидерати. Методи дослідження гумусових речовин: (1) електронна спектроскопія в ультра-фіолетовому і видимому діапазонах (200–600 нм) для оцінки трансформацій ароматичних структур гумінових кислот; (2) проникаюча гель-хроматографія для вивчення молекулярної дисперсності та структурної організації гумусових речовин. Результати спектроскопічного аналізу показали, що гумінові кислоти у ґрунті з різних варіантів удобрення графічно характеризуються однотипною похилою лінією поглинання, що свідчить про подібність структурної організації гумусових речовин. Найвища інтенсивність поглинання спостерігається в УФ-діапазоні, що пов'язано з ароматичними структурами. Органічна та орґано-мінеральна системи удобрення сприяли підвищенню концентрації стійких ароматичних сполук у гумінових кислотах. Хроматографічний аналіз виявив бімодальний розподіл молекулярних фракцій гумінових речовин. Системи удобрення сидерат та сидерат+гній знижували вміст низькомолекулярних ароматичних структур у гумусових речовинах, що вказує на їхню значущість для підвищення стабільності органічної речовини. Встановлено, що системи удобрення значно впливають на якість гумусових речовин змінюючи співвідношення ароматичних і гідрофільних структур. Особливості молекулярної гетерогенності гумусових речовин визначають їхню стабільність у ґрунті. Для поліпшення якості органічної речовини (гумусу) необхідно враховувати трансформації низькомолекулярних ароматичних сполук і впроваджувати підходи, які сприятимуть акумуляції орґанічного вуглецю.

* E-mail: as131296123@gmail.com

ORCID: ^а0009-0008-4350-1071, ^б0009-0002-0651-9324

Форма цитування: Шовкун О. О., Попірний М. А. Якість гумусових речовин дерново-підзолистого ґрунту за різних систем удобрення. *Агрохімія і ґрунтознавство*. Міжвід. темат. наук. зб. / ННЦ "ІґА ім. О. Н. Соколовського". Харків: 2024. Вип. 97 С. 53–60. doi: 10.31073/acss97-06

1. Вступ

Сучасне уявлення про структурну організацію та розуміння властивостей гумусових речовин (ГР) базується на принципах ієрархічної самоорганізації гідрофільно-гідрофобних міцелярних частинок різного розміру, що існують у динамічній рівновазі, які за певних умов можуть зазнавати перетворень, змінюючи баланс якості органічної речовини та структури ґрунту [1]. Міцелярні частинки гумінових кислот (ГК) утворюються в результаті молекулярної або надмолекулярної асоціації низькомолекулярних амфіфільних дуже малого розміру різноманітних біомолекул, утворених в результаті біодеградації органічного матеріалу [1, 2]. Уявлення про ГР у ґрунті як гідрофобно-гідрофільні міцелярні

¹Роботу виконано під керівництвом д. с.-г. н., проф. Є. В. Скрильника

агрегати дає важливу інформацію щодо розуміння якості органічної речовини та структуроутворення у ґрунті: накопичення органічної речовини в ґрунті зумовлено гідрофобними взаємодіями; гумінова надмолекулярна структура може зазнавати процесів зміни з гідрофільними молекулами, що утворюються в результаті розкладу біологічних тканин; гідрофобні зв'язки також призводять до наступної стабілізації орґано-мінеральних комплексів і загальної структури ґрунту [2, 3, 4]. Зазначається що, фрактальні структури ГР у ґрунті є наслідком складних взаємодій на молекулярному рівні, що сприяють утворенню гомогенних агрегатів [5, 6].

Добре відомо, що збільшення кількості гідрофобних мотивів в ГК викликає підвищення коефіцієнта агрегації та появу великих агрегатів ГК, що закріплюються у ґрунті [5, 7, 8]. Процес прогресуючої акумуляції гідрофобних молекул ГК та їх агрегації у великі міцелярні агрегати призводить до утворення мікроагрегатів, гідрофобність яких підвищує структурну стабільність ґрунту та подовжує час перебування пулів органічного вуглецю ґрунту.

Гель-хроматографія є одним з основних інструментів для аналізу гумусових речовин, дозволяючи розділити фракції за молекулярною масою та структурою. Вона дає змогу визначити їхню роль у формуванні орґано-мінеральних комплексів та стабільності ґрунтових властивостей. Електронна спектроскопія дозволяє визначати характерні піки поглинання в ультрафіолетовому (UV) та видимому діапазонах, що пов'язано з різними типами електронних переходів у гумусових речовинах. Це допомагає ідентифікувати їх хімічні групи, такі як ароматичні ядра, альдегіди, карбоксильні та фенольні групи [3, 9].

Комбінація цих методів забезпечує поглиблене дослідження гумусових речовин. Гель-хроматографія дозволяє визначити фракції за молекулярною масою, тоді як спектроскопічні методи аналізують їхні функціональні групи та молекулярні зв'язки. Цей підхід сприяє детальному аналізу змін у гумусових речовинах під впливом різних факторів [2].

Актуальність вивчення змін якості ГР у дерново-підзолистих ґрунтах зумовлена поширенням цих ґрунтів у зоні Полісся та їх низькою природною родючістю. Одним із ключових чинників, що впливає на гумусові речовини, є система удобрення, якою можуть бути викликані зміни кількісних та якісних характеристик органічних речовин у ґрунті. Вивчення впливу органічного, мінерального і комбінованого удобрення на гумусові речовини дозволяє не лише оцінити інтенсивність дії, а й сприяє розробці ефективних підходів до підвищення родючості ґрунтів.

Таким чином, дослідження особливостей змін якості гумусових речовин дерново-підзолистого ґрунту за різних систем удобрення є актуальним завданням, що має як наукове, так і практичне значення.

Метою статті є оприлюднення результатів дослідження якості гумусових речовин дерново-підзолистого ґрунту за умов використання різних систем удобрення у польовому багаторічному досліді. Результати роботи дозволять оцінити ефективність органічної, мінеральної і комбінованої систем удобрення з огляду на їх вплив на органічну речовину ґрунту — гумус, що є ключовим фактором у забезпеченні сталого агропродукування.

2. Об'єкт та методи досліджень

Дослідження проводили в лабораторії органічних добрив і гумусу ННЦ «ІГА імені О. Н. Соколовського» в пробах ґрунту, відібраних у багаторічному польовому досліді, на території Волинської державної сільськогосподарської дослідної станції Інституту сільського господарства Західного Полісся НААН України, що розташована в селищі Рокині Луцького району Волинської області в природно-кліматичній зоні Полісся.

Ґрунт дослідної ділянки — дерново-слабопідзолистий глинисто-піщаний (Albic Arenosols). Дослід було закладено у 1990 р. і для досліджень обрано п'ять варіантів: 1 — без добрив; 3 — гній 10 т/га + $N_{60}P_{37}K_{50}$; 5 — гній 10 т/га; 7 — гній 10 т/га + сидерат; 11 — сидерат.

Для детального вивчення якості гумусових речовин і процесів їх самоорганізації за різних систем удобрення було проведено виділення гумусових речовин з ґрунту та подальше їх екстрагування для виділення гумінових кислот (ГК) згідно з методикою Тюріна

в модифікації Пономарьової та Плотникової за ДСТУ 7828-2015². ГК виділяли із лужного екстракту ГР осадженням за стандартними методами лугово-кислотної екстракції [10]. Для дослідження розчинів ГР та ГК було застосовано методи, які дозволяють виявити особливості якості гумусових речовин і процеси їх самоорганізації в умовах різних систем удобрення.

1. Метод електронної спектроскопії у видимому та УФ спектрах довжин хвиль застосовували для аналізування препаратів ГК, отриманих після процедури групового фракціонування органічної речовини дерново-підзолистого ґрунту. Електронні спектри поглинання препаратів ГК були отримані на спектрофотометрі UIT SF-0171 у спектральному діапазоні 200–600 нм. Вимірювання проводили у кварцових кюветах з оптичним шляхом 1 см, використовуючи розчин 0,1-н NaOH як стандарт для виключення впливу спектра поглинання лугового розчинника, який застосовували для виділення ГК.

2. Проникаюча гель-хроматографія препаратів ГК і ГР виконувалась відповідно до класичного методу Остермана [11] із модифікаціями Познера, Сфіфта та Пиколо, розробленими спеціально для аналізу гумусових речовин [12, 13].

У проникаючій гель-хроматографії розділення відбувається завдяки різній здатності молекул проникати в пори сорбенту, який зазвичай є гелем з пористою структурою. Молекули з великими розмірами не проникають у пори і рухаються швидше, в той час як молекули з меншими розмірами проникають у пори і затримуються, що призводить до їх повільнішого руху. Таким чином, компоненти суміші виходять з колонки в порядку зменшення їхніх розмірів.

Гель-хроматографію препаратів ГР та ГК виконано з гранульованим гелем Сефадекс G-25. Для фракціонування препаратів використовували стандартну хроматографічну колонку об'ємом 200 мл, заповнену Сефадексом G-25 (діапазон розміру гранул 20-80 мкм, об'єм поглинання 4-6 мл на 1 г гелю).

Вилучення з колонки (елюцію) ГР та ГК виконували за допомогою дистильованої води як елюента, і окремі різномолекулярні фракції вимитих ГК (гумінові фракції) збирали в пробірки об'ємом 3 мл. Реєстрацію гумінових фракцій після проведення хроматографічного розділення здійснювали за допомогою того ж спектрофотометра UIT SF-0171. Вимірювання проводили при довжині хвилі 270 нм, яка відповідає характеристичному поглинанню поліфенольних кетонних груп ароматичних структур, властивих гуміновим кислотам.

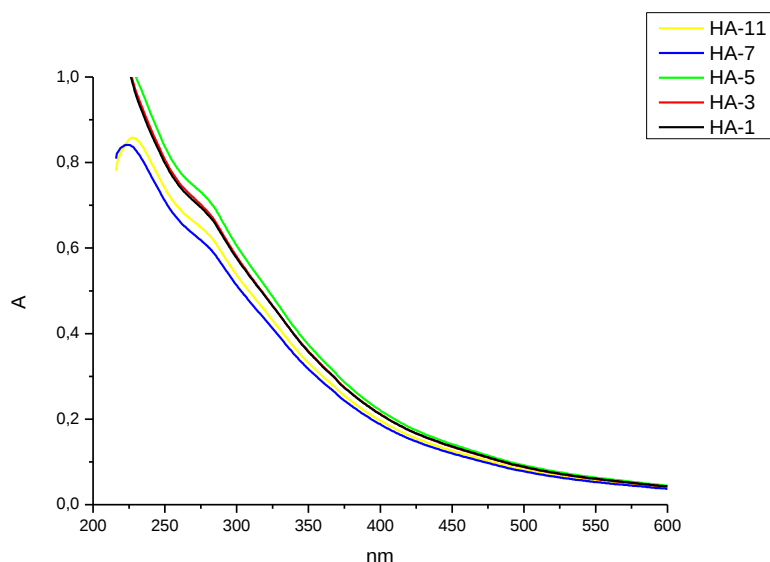
3. Результати дослідження

3.1. Електронні спектри препаратів ГК у видимому та УФ діапазонах довжин хвиль

На рисунку 1 представлено спектри поглинання препаратів ГК, виділених із ґрунту методом лугово-кислотної екстракції. На різних варіантах досліду лінії спектру відрізняються за амплітудою і нахилом. Загалом спектри демонструють похилу лінію з інтенсивністю поглинання, яка зменшується зі збільшенням довжини хвиль. Це є типовою ознакою загалом всіх гумусових речовин — складних гетерогенних полідисперсних систем з варіативним складом та відсутністю чіткої структури. Подібність форм спектральних кривих свідчить про однакову структурну організацію ГК у виділених препаратах, що відповідає відомим з літератури характеристикам гумусоподібних речовин. Метод електронної спектроскопії поглинання в УФ/видимому діапазонах дозволив виявити трансформаційні зміни ГК під впливом різних систем удобрення. Основні зміни спостерігаються в УФ-діапазоні довжини хвиль (200–400 нм), що пов'язано з ароматичними структурами та поліфенольними функціональними групами.

Найбільш висока інтенсивність поглинання спостерігається в УФ-діапазоні, що зумовлено значною кількістю ароматичних вуглецевих структур. Це пов'язано з наявністю подвійних зв'язків (C=C) в ароматичних кільцях, які поглинають у діапазоні 220–240 нм, а також з поліфенольними системами, кетонами (C=O) і карбоксильними групами, що забезпечують поглинання у смузі 270–280 нм.

² ДСТУ 7828:2015. Якість ґрунту. Визначення групового та фракційного складу гумусу за методом Тюріна у модифікації Пономарьової та Плотникової [Чинний від 2015-22-06] Київ : Держспоживстандарт України, 2015. 9 с.



Позначення. Варіанти дослідів: HA-1 — без добрив (контроль), HA-3 — органо-мінеральна система удобрення; HA-5 — органічна система удобрення; HA-7 — сидерати сукупно з гноєм; HA-11 — сидерати.
A — інтенсивність амплітуди поглинання; *nm* — довжина хвилі у нанометрах

Рис. 1. Спектри поглинання препаратів ГК в УФ і видимому діапазонах

У спектрах в УФ діапазоні було зафіксовано значні зміни амплітуди поглинання препаратами ГК, що свідчить про різну концентрацію ароматичних структур у досліджуваних зразках.

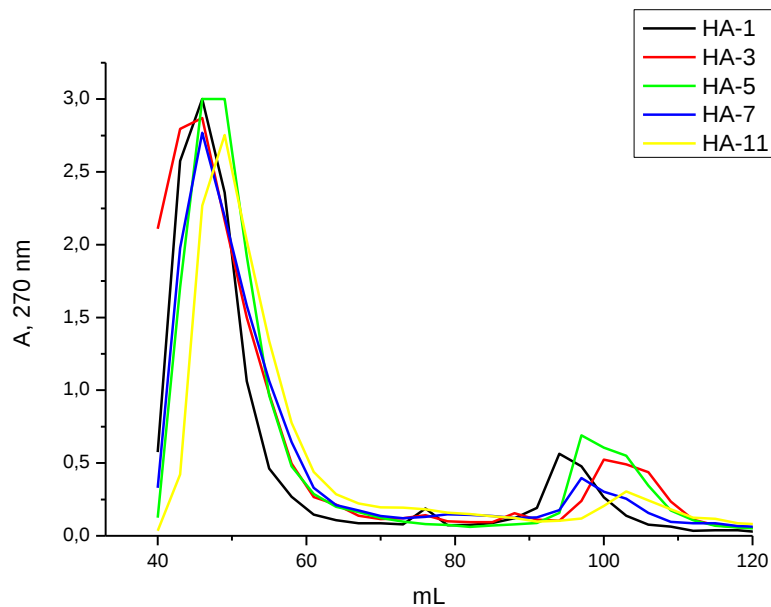
У той же час спостерігається підвищення амплітуди (інтенсивності) УФ-поглинання ГК у варіантах з органічною (№ 5) та органо-мінеральною (№ 3) системами удобрення. Це вказує на вплив типу удобрення на вміст і концентрацію стійких ароматичних структур у гумінових кислотах, що може бути наслідком трансформацій якості гумусу за різного удобрення.

Системи удобрення, такі як сидерат (№ 11) та сидерат + гній (№ 7), на дерново-підзолиستому ґрунті знижують концентрацію ароматичного вуглецю у ГК, виділених після декальціювання ґрунту. Це вказує на зменшення вмісту термодинамічно стійких органічних сполук у новоутворених рухомих і стабільних гумінових кислотах ґрунту, що може впливати на стабільність та якість органічної речовини ґрунту загалом.

3.4. Хроматографічні профілі препаратів ГК і ГР

На рисунках 2 і 3 показано хроматографічні профілі розділення препаратів гумінових кислот (ГК) і гумусових речовин (ГР) на фракції. Як видно на рисунку 2, всі хроматографічні профілі ГР, екстрагованих із ґрунту на різних варіантах дослідів за вищенаведеним методом мають однакову форму кривих, що вказує на подібність молекулярного складу та структурної організації гумусових речовин як дуже полідисперсних, молекулярно-гетерогенних і складних колоїдних систем. Профілі характеризуються бімодальним розподілом, що є типовим для гумусоподібних речовин.

Усі хроматографічні профілі ГР поділяються на дві чітко виражені високомолекулярну та низькомолекулярну гумусові фракції з більшим об'ємом утримання. Низькомолекулярні фракції мають більш виражений гідрофільний характер, що зумовлений наявністю низькомолекулярних полярних структур [3, 11]. Форма кривих та інтенсивність поглинання високомолекулярної фракції залишаються однаковими для всіх варіантів, що свідчить про стабільність структури та властивостей цієї фракції незалежно від змін. Друга — низькомолекулярна фракція гумусових речовин має низьку інтенсивність поглинання та менший об'єм елюції порівняно з першою фракцією.



Позначення. Варіанти дослідів: HA-1 — без добрив (контроль), HA-3 — органо-мінеральна система удобрення; HA-5 — органічна система удобрення; HA-7 — сидерати сукупно з гноєм; HA-11 — сидерати.
A — інтенсивність амплітуди поглинання, mL — об'єм елюції, мл

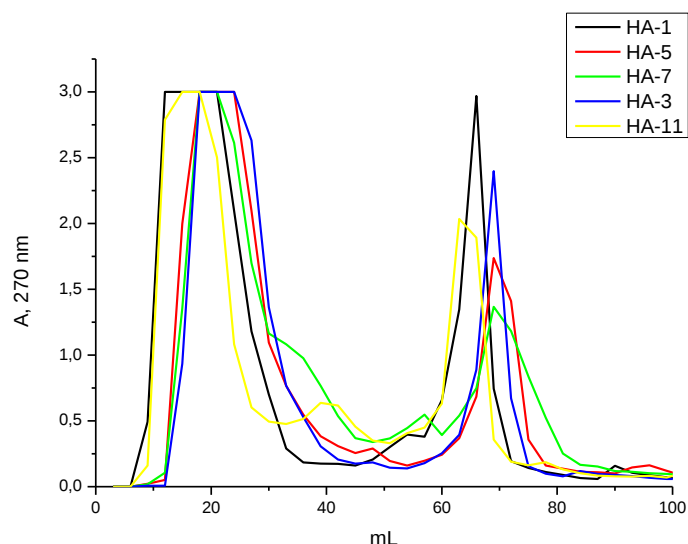
Рис. 2. Хроматографічний профіль фракціонування зразків препаратів ГР

Профілі другої фракції ГР на всіх варіантах мають подібні форми кривих, що відрізняються лише інтенсивністю. Спостерігається зниження інтенсивності поглинання низькомолекулярної фракції ГР ґрунту з варіантів удобрення сидерат (№ 11) і сидерат+гній (№ 7), що вказує на зниження кількості низькомолекулярних ароматичних сполук у гумусових речовинах.

Виявлено (Рис. 3), що хроматографічний профіль препарату гумінових кислот (ГК) на контрольному варіанті без удобрення (№ 1) демонструє виражену другу фракцію низькомолекулярних органічних сполук. Це свідчить про більшу молекулярну гетерогенність гумінової фракції порівняно з іншими варіантами, де можливе додавання мінеральних добрив або інших чинників, які сприяють стабілізації молекулярної структури. Високий вміст низькомолекулярних сполук може впливати на властивості препарату, зокрема його розчинність, біологічну активність та здатність взаємодіяти з поживними речовинами. Таким чином, контрольний варіант демонструє суттєву гетерогенність гумінової фракції, яка може мати вплив на ефективність застосування препарату.

Для характеристики цієї другої фракції було додатково проведено спектроскопічний аналіз в УФ та видимому діапазонах, за результатами якого було виявлено поглинання в області 400-500 нм, що відповідає поглинанню пігменту хлорофілу b, а також інших низькомолекулярних ароматичних структур, таких як флавоноїди (похідні фенольних структур), що підвищують гідрофільність гумінової системи.

Таким чином, результати хроматографічного розділення препаратів ГК і ГР показують, що всі досліджувані системи удобрення призвели до зниження вмісту низькомолекулярних фракцій ароматичних структур у ГК. Разом з тим, на хроматографічному профілі ГК ґрунту під сидератом (№ 11) спостерігається наявність незначної фракції низькомолекулярних сполук, що, ймовірно, пов'язано із включенням рослинних пігментів сидерату до складу гумінової молекулярної системи.



Позначення. Варіанти дослідів: HA-1 — без добрив (контроль), HA-3 — органо-мінеральна система удобрення; HA-5 — органічна система удобрення; HA-7 — сидерати сукупно з гноєм; HA-11 — сидерати. A — інтенсивність амплітуди поглинання, mL — об'єм елюції, мл

Рис. 3. Хроматографічний профіль розділення зразків препаратів ГК

4. Висновки

В результаті проведених досліджень препаратів гумусових речовин ґрунту за різних систем удобрення встановлено, що їхній якісний склад визначається низькомолекулярними сполуками ароматичної природи, включаючи пігменти. Системи удобрення впливають на молекулярний розподіл у фракціях ГК, що призводить до збільшення молекулярної дисперсності але зниження молекулярної гетерогенності порівняно з неудобреним варіантом дослідів, особливо в ГК ґрунту під сидератом та сидерат + гній. Ці трансформації складу впливають на якість гумінової системи та ґрунту, що, своєю чергою, викликає перерозподіл фракційного складу гумусу, що змінює його якість.

Таким чином, необхідно звернути увагу на зміни низькомолекулярних ароматичних сполук у ГК, а також розробляти методи стабілізації менших за розмірами амфіфільних і низькомолекулярних органічних сполук у ґрунті, щоб підвищити стабільність, якість органічної речовини (гумусу) та сприяти акумуляції органічного вуглецю.

Список використаних джерел

1. Angelico R., Colombo C., Di Iorio E., Brtnický M., Fojt J., Conte P. Humic substances: from supramolecular aggregation to fractal conformation — is there time for a new paradigm? *Applied Sciences*. 2023. Vol. 13(4). 2236. <https://doi.org/10.3390/app13042236>
2. Baveye P. C., Wander M. The (Bio)Chemistry of Soil Humus and Humic Substances: Why Is the “New View” Still Considered Novel After More Than 80 Years? *Frontiers in Environmental Science*. 2019. Vol. 7. 27. <https://doi.org/10.3389/fenvs.2019.00027>
3. Piccolo A., Drosos M. Chapter Seven - The supramolecular structure of the soil humeome and the significance of humification. *Advances in Agronomy*. 2024. Vol. 188. P. 405–455. <https://doi.org/10.1016/bs.agron.2024.06.006>
4. Escalona Y., Petrov D., Galicia-Andrés E., Oostenbrink C. Exploring the macroscopic properties of humic substances using modeling and molecular simulations. *Agronomy*. 2023. Vol. 13(4). 1044. <https://doi.org/10.3390/agronomy13041044>
5. Sutton R., Sposito G. Molecular structure in soil humic substances: the new view. *Environmental science & technology*. 2005. Vol. 39(23). 9009-9015. <https://doi.org/10.1021/ES050778Q>
6. Janoš P., Tokarová V. Characterization of coal-derived humic substances with the aid of low-pressure gel permeation chromatography. *Fuel*. 2002. Vol. 81(8). P. 1025-1031. [https://doi.org/10.1016/S0016-2361\(02\)00010-8](https://doi.org/10.1016/S0016-2361(02)00010-8)
7. Esfahani M. R., Stretz H. A., Wells M. J. M. Abiotic reversible self-assembly of fulvic and humic acid aggregates in low electrolytic conductivity solutions by dynamic light scattering and zeta potential investigation. *Sci. Total Environ*. 2015. Vol. 537. P. 81–92. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.08.001>

8. Jovanovic U. D., Marcovic M. M., Čokeša Đ. M., Živković N. V., Radmanović S. B. Self-aggregation of soil humic acids with respect to their structural characteristics. *J. Serb. Chem. Soc.* 2022. Vol. 87(6). P. 761–773. <https://doi.org/10.2298/JSC211125010J>
9. Mignone R., Martin M., Vieyra F., Palazzi V., De Mishima B., Mártire D., Borsarelli C. (). Modulation of Optical Properties of Dissolved Humic Substances by their Molecular Complexity †. *Photochemistry and Photobiology*. 2012. 88(4). P. 792-800. <https://doi.org/10.1111/j.1751-1097.2012.01135.x>
10. Piccolo A. Characteristics of soil humic extracts obtained by some organic and inorganic solvents and purified by HCl-HF treatment. *Soil Science*. 1988. 146(6). P. 418–426. <https://doi.org/10.1097/00010694-198812000-00003>
11. Osterman L. A. *Chromatography of proteins and nucleic acids*. Nauka, 1985. 536 p.
12. Swift R. S., Posner A. M. Gel chromatography of humic acid. *Journal of Soil Science*. 1971. 22. P. 237–249. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2389.1971.tb01610.x>
13. Piccolo A., Nardi S., Concheri G. Micelle-like conformation of humic substances as revealed by size-exclusion chromatography. *Chemosphere*. 1996. 33(4). P. 595–602. [https://doi.org/10.1016/0045-6535\(96\)00210-x](https://doi.org/10.1016/0045-6535(96)00210-x)

UDC 631.43:631.84

Quality of humus substances in sod-podzolic soil under different fertilization systems

O. O. Shovkun*, M. A. Popirny

National Scientific Center “Institute for Soil Science and Agrochemistry Research named after O. N. Sokolovsky”, Kharkiv, Ukraine

* Corresponding author: as131296123@gmail.com

Received 9.11.2024, Revised 17.12.2024, Accepted 18.12.2024, Available online 27.12.2024

Abstract

The article presents the results of analytical studies of the quality of humus substances in sod-podzolic soil depending on the fertilization system. The relevance of the work is due to the need to develop effective approaches to increasing soil fertility by managing transformations of the quality of its organic matter (humus) components. Soil samples were taken in a field experiment established in 1990 on the territory of the Volyn State Agricultural Experiment Station in the Volyn region in the Polissya zone. The soil of the experimental site is sod-weakly podzolic clayey-sandy (Albic Arenosols). Experiment options selected for research: control (without fertilizers); manure 10 t/ha; manure in combination with mineral fertilizers or green manure; green manure. Methods for studying humic substances: (1) electron spectroscopy in the ultraviolet and visible ranges (200–600 nm) to assess the transformations of aromatic structures of humic acids; (2) gel permeation chromatography to study the molecular dispersion and structural organization of humic substances. The results of spectroscopic analysis showed that humic acids in soil from different fertilizer options are graphically characterized by the same type of inclined absorption line, which indicates the similarity of the structural organization of humic substances. The highest absorption intensity is observed in the UV range, which is associated with aromatic structures. Organic and organo-mineral fertilizer systems contributed to an increase in the concentration of stable aromatic compounds in humic acids. Chromatographic analysis revealed a bimodal distribution of molecular fractions of humic substances. The siderate and siderate+manure fertilization systems reduced the content of low-molecular aromatic structures in humic substances, which indicates their importance for increasing the stability of organic matter. It was established that fertilization systems significantly affect the quality of humic substances by changing the ratio of aromatic and hydrophilic structures. The features of the molecular heterogeneity of humic substances determine their stability in the soil. To improve the quality of organic matter (humus), it is necessary to take into account the transformations of low-molecular aromatic compounds and implement approaches that will contribute to the accumulation of organic carbon

Keywords: humic substances; sod-podzolic soil; fertilization systems; gel chromatography; UV spectroscopy; aromatic structures

Citing: Shovkun, O. O., Popirny, M. A. (2024). Quality of humus substances in sod-podzolic soil under different fertilization systems. *AgroChemistry and Soil Science*, 97, 53-60. [doi: 10.31073/acss97-06](https://doi.org/10.31073/acss97-06) [in Ukrainian]

References

1. Angelico, R., Colombo, C., Di Iorio, E., Brtnický, M., Fojt, J., & Conte, P. (2023). Humic substances: from supramolecular aggregation to fractal conformation — is there time for a new paradigm? *Applied Sciences*, 13(4), 2236. <https://doi.org/10.3390/app13042236>
2. Baveye, P. C., & Wander, M. (2019). The (bio)chemistry of soil humus and humic substances: why is the “new view” still considered novel after more than 80 years? *Frontiers in Environmental Science*, 7, 27. <https://doi.org/10.3389/fenvs.2019.00027>
3. Piccolo, A., & Drosos, M. (2024). Chapter Seven – The supramolecular structure of the soil humeome and the significance of humification. *Advances in Agronomy*, 188, 405–455. <https://doi.org/10.1016/bs.agron.2024.06.006>
4. Escalona, Y., Petrov, D., Galicia-Andrés, E. & Oostenbrink, C. (2023). Exploring the macroscopic properties of humic substances using modeling and molecular simulations. *Agronomy*, 13(4), 1044. <https://doi.org/10.3390/agronomy13041044>
5. Sutton, R., & Sposito, G. (2005). Molecular structure in soil humic substances: the new view. *Environmental science & technology*, 39(23), 9009-9015. <https://doi.org/10.1021/ES050778Q>
6. Janoš, P., & Tokarová, V. (2002). Characterization of coal-derived humic substances with the aid of low-pressure gel permeation chromatography. *Fuel*, 81(8), 1025-1031. [https://doi.org/10.1016/S0016-2361\(02\)00010-8](https://doi.org/10.1016/S0016-2361(02)00010-8)

7. Esfahani, M. R., Stretz, H. A., & Wells, M. J. M. (2015). Abiotic reversible self-assembly of fulvic and humic acid aggregates in low electrolytic conductivity solutions by dynamic light scattering and zeta potential investigation. *Sci. Total Environ*, 537, 81–92. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.08.001>
8. Jovanovic, U. D., & Marcovic, M. M., Čokeša, Đ. M., Živković, N. V., & Radmanović, S. B. (2022). Self-aggregation of soil humic acids with respect to their structural characteristics. *J. Serb. Chem. Soc.*, 87(6), 761–773. <https://doi.org/10.2298/JSC211125010J>
9. Mignone, R., Martin, M., Vieyra, F., Palazzi, V., De Mishima, B., Mártire, D., & Borsarelli, C. (2012). Modulation of Optical Properties of Dissolved Humic Substances by their Molecular Complexity †. *Photochemistry and Photobiology*, 88(4), 792-800. <https://doi.org/10.1111/j.1751-1097.2012.01135.x>.
10. Piccolo, A. (1988). Characteristics of soil humic extracts obtained by some organic and inorganic solvents and purified by HCl-HF treatment. *Soil Science*, 146(6), 418–426. <https://doi.org/10.1097/00010694-198812000-00003>
11. Osterman, L. A. (1985). *Chromatography of proteins and nucleic acids*. Nauka.
12. Swift, R. S., & Posner, A. M. (1971). Gel chromatography of humic acid. *Journal of Soil Science*, 22, 237–249. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2389.1971.tb01610.x>
13. Piccolo, A., Nardi, S., & Concheri, G. (1996). Micelle-like conformation of humic substances as revealed by size-exclusion chromatography. *Chemosphere*, 33(4). 595–602. [https://doi.org/10.1016/0045-6535\(96\)00210-x](https://doi.org/10.1016/0045-6535(96)00210-x)