

OFFICE DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE ET TECHNIQUE OUTRE-MER  
LABORATOIRE DE PEDOBIOLOGIE

COMPTE-RENDU DE TRAVAUX DE LABORATOIRE SUR LES  
SUBSTANCES HUMIQUES

N°1

G. BACHELIER

(rapport ronéotypé à 25 exemplaires)

- Préface.
- Principe de l'appareil de tamisage moléculaire à électrophorèse "Gradipore".
- Résultats d'électrophorèses de divers acides humiques sur plaque de gel de polyacrylamide avec tampon Tris-borate-EDTA.
- Comparaison avec les résultats de l'électrophorèse sur papier.
- Comparaison avec les résultats de la chromatographie sur colonne de gel Séphadex G 25.
- Essai de tableau comparatif des différentes fractions d'acides humiques.
- Recherche de colorations spécifiques des différentes fractions d'acides humiques.
- Conclusions.
- Auteurs cités.

## PREFACE

Ayant eu la possibilité de disposer d'un appareil de tamisage moléculaire à électrophorèse "Gradipore", nous avons cherché à en étudier l'éventuelle possibilité d'application au fractionnement des acides humiques.

Au cours de cette recherche technique, nous avons été amené, d'une part, à comparer nos résultats avec ceux obtenus par électrophorèse sur papier ou chromatographie sur colonne de gel Séphadex G 25, et, d'autre part, à essayer de colorer ou de reconnaître par fluorescence certaines des fractions d'acides humiques ainsi isolées.

L'ensemble de nos résultats et de nos diverses observations ne justifie pas une publication, mais peut éventuellement intéresser certains de ceux qui travaillent sur le même sujet. C'est la raison pour laquelle nous avons pensé utile de rédiger ce petit " compte-rendu de travaux " qui regroupe l'essentiel de nos notes et pourra ~~aussi~~, peut-être, nous servir aussi à nous-mêmes par la suite.

PRINCIPE DE L'APPAREIL DE TAMISAGE MOLECULAIRE A ELECTROPHORESE  
" GRADIPORE "

" L'originalité de ce procédé d'électrophorèse réside dans l'utilisation comme support d'un gel de polyacrylamide à concentration progressivement croissante, ce qui implique une diminution progressive des pores du gel.

" Les molécules à fractionner sont stoppées progressivement aussitôt que leur diamètre atteint celui des pores du gel et sont ainsi fixées d'après leur taille moléculaire plutôt que d'après leur motilité électrophorétique.

" Le résultat obtenu est un tamissage moléculaire aidé par la motilité électrophorétique.

En fait, le gel de polyacrylamide le plus dense ne peut actuellement retenir des molécules inférieures à 100 Å, c'est à dire des molécules d'acides humiques ayant un poids moléculaire d'environ 20.000 ; ce qui fait que les plaques de gel présentement vendues dans le commerce ne peuvent tamiser que des molécules d'acides humiques de poids moléculaires compris approximativement entre 1 à 2 millions et 20.000.

Or, si les agrégats moléculaires d'acides humiques ont un poids compris entre plusieurs millions et 50.000, les particules individuelles colorées d'acides humiques ont par contre un poids compris entre seulement 50.000 et 1.500. Quant aux molécules d'acides fulviques, elles ont généralement un poids moléculaire inférieur à 10.000 ( ORLOV et autres, 1971 ; ORLOV et GLEBOVA, 1972 ; CAMERON et autres, 1972 ).

BRUCKERT et JACQUIN (1971), étudiant des pluviollessivats de pin et de callune, ont trouvé que 50% des acides humiques présents avaient des poids moléculaires compris entre 20.000 et 17.000, 20% des poids moléculaires compris entre 17.000 et 5.000, et 30% des poids moléculaires inférieurs à 5.000. ( Par ailleurs, 20% des acides fulviques avaient des poids moléculaires de 6.000, 50% des poids moléculaires de 3.000 et 30% des poids moléculaires inférieurs à 1.000 ).

Les plaques de gel de polyacrylamide peuvent être utilisées comme support de l'électrophorèse, mais il ne semble pas, dans l'état actuel de la concentration des gels, qu'elles puissent servir au "tamissage moléculaire" des acides humiques.

L'expérience montre en effet que la plus grande partie des acides humiques traverse librement la plaque de gel et se perd dans la solution tampon qui baigne la plaque soumise au champ électrique. Il en est de même pour le cytochrome C de poids moléculaire 13.000. Par contre, le bleu dextran 2.000 de poids moléculaire 2 millions ne pénètre que d'un à deux millimètres dans la plaque de gel.

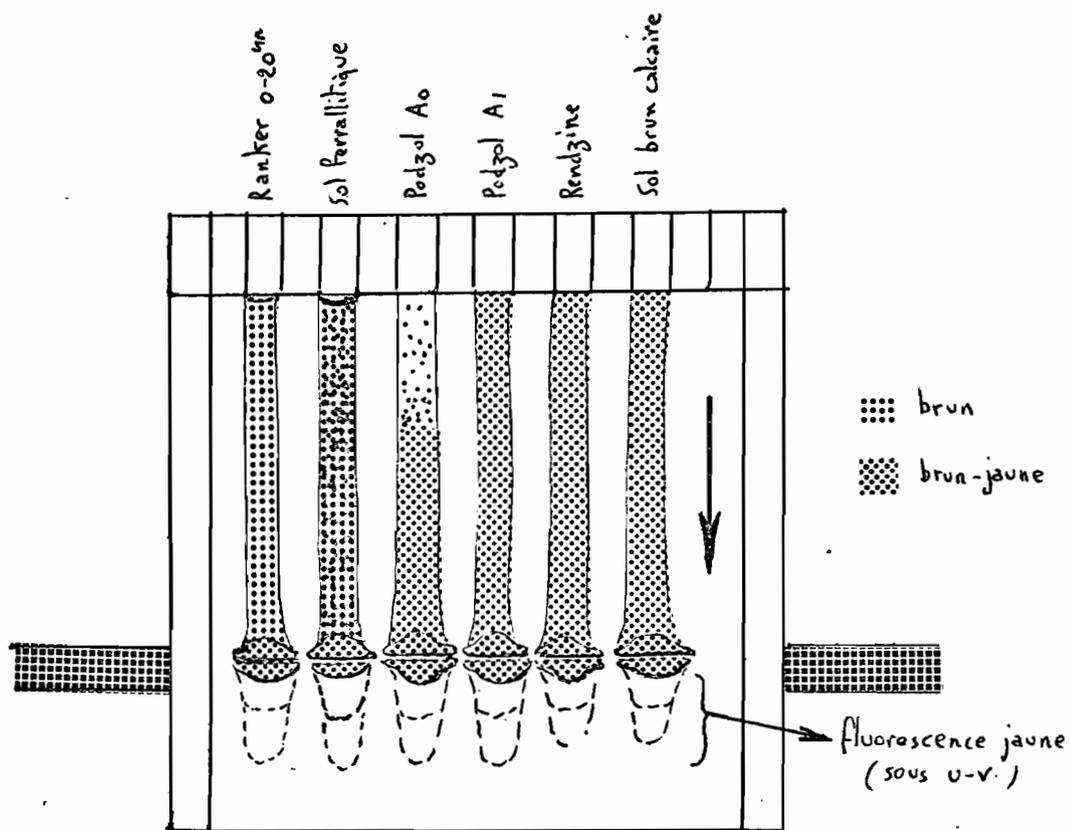


Figure 1 - Electrophorèse d'acides humiques sur plaque de gel de polyacrylamide à porosité décroissante.

RESULTATS D'ELECTROPHORESE DE DIVERS ACIDES HUMIQUES SUR PLAQUE  
DE GEL DE POLYACRYLAMIDE AVEC TAMPON TRIS-BORATE-EDTA.(1)

Acides humiques étudiés :

Rendzine de Montainville, hor. 5-15cm.  
Rendzine à horizons de Brunoy, hor. 0-20cm.  
Sol brun calcaire de Bondy, hor. 0-15cm.  
Ranker du Mont Aigoual, hor. 0-20cm.  
" " " " , hor. 60-80cm.  
Podzol d'Ermenonville, hor. Ao  
" " " " , hor. Al  
Alios des landes  
Sol ferrallitique de R.C.A., hor. 0-20cm.

Extraction des acides humiques par le pyrophosphate de sodium M/10, précipitation par l'acide sulfurique et redissolution par la soude N/10.

Observations communes à l'ensemble des échantillons :

- migration de la dépose avec formation d'une trainée continue par blocage progressif des plus gros agrégats moléculaires.

- dédoublement de la tache d'acides humiques au cours de sa descente à travers la plaque de gel; la fraction demeurant en arrière correspond aux gros agrégats moléculaires encore non bloqués, car de taille moins forte.

- précession de cette double tache d'acides humiques par des composés phénoliques, visibles seulement sous lumière ultraviolette. Il est, là aussi, possible de distinguer deux fractions de composés phénoliques dont la plus avancée s'avère la moins fluorescente.

Observations propres aux divers échantillons :

- Les deux échantillons du Ranker de l'Aigoual ont montré de gros agrégats moléculaires de couleur brune; les particules humiques plus petites qui ont traversé la plaque étaient de couleur brun-jaune.

---

(1) Tris 10,75g.; Na<sub>2</sub>EDTA 0,93g.; acide borique 5,04g.; eau q.s. 1l.

- Le sol ferrallitique a montré de gros agrégats moléculaires d'acides humiques de couleur brun foncé, ces agrégats renfermant de la kaolinite et du fer. Le noyau d'acides humiques migrant à travers la plaque, bien qu'étant de couleur brun-jaune foncé, a laissé derrière lui jusqu'à sa sortie de la plaque (éléments inférieurs à 100 A° et P.M. voisins de 20.000) une trainée brune très marquée.

- La rendzine de Montainville a montré des agrégats moléculaires plus foncés que la rendzine à horizons de Brunoy pour laquelle ces agrégats étaient nettement de couleur brun-jaune.

- Le sol brun calcaire de Bondy ne renfermait que peu de gros agrégats moléculaires d'acides humiques bruns, le noyau d'acides humiques migrant devenant rapidement brun-jaune dès le premier tiers de la plaque.

- Le podzol d'Ermenonville ne possédait pratiquement pas de gros agrégats moléculaires d'acides humiques dans son horizon A<sub>0</sub>, mais il en possédait par contre de couleur brun-jaune dans son horizon A<sub>1</sub>. Il y a vraisemblablement dans ce podzol hétéro-condensation des acides humiques au cours de leur pénétration dans le sol.

- L'aliôs des landes de même possède peu de gros agrégats moléculaires d'acides humiques.

Il a été constaté que tous les échantillons possèdent en tête de migration des composés à fluorescence jaune sous lumière ultra-violette et de nature vraisemblablement phénolique. Ce furent le sol ferrallitique et l'aliôs des landes qui en présentèrent le plus; venait ensuite l'horizon A<sub>1</sub> du podzol.

Une répétition de ces diverses électrophorèses effectuée cette fois sur les substances humiques simplement solubilisées par le pyrophosphate de sodium, concentrées par évaporation et reprises par de la soude N (et donc n'ayant pas été précipitées par de l'acide sulfurique) nous a donné des figures de fractionnement identiques. Les composés phénoliques fluorescents semblaient toutefois plus abondants.

SWIFT et POSNER (1972) ont montré que la soude N, surtout en présence d'oxygène, pouvait diminuer le poids moléculaire des acides humiques.

Inversement, travaillant avec des extraits humiques de champignons, il nous a été permis de constater que l'acide sulfurique concentré pouvait déterminer une nette condensation des acides humiques, principalement dans le cas des acides humiques encore peu évolués.

## COMPARAISON AVEC LES RESULTATS DE L'ELECTROPHORESE SUR PAPIER.

Nous avons utilisé pour l'électrophorèse sur papier la méthode classique utilisée et enseignée par les Services d'analyse de Pédologie de l'ORSTOM.

Electrophorèse sur papier avec tampon phospho-sodique (2)

Classiquement, on distingue dans les électrophorèses sur papier des acides humiques qui ne migrent pas ou qui ne migrent que très peu, dits acides humiques "gris" (G) et des acides humiques qui migrent en tache homogène, dits acides humiques "bruns" (B). Les acides humiques compris entre ces deux pics sont dits "intermédiaires" (I).

" Parfois il peut exister une tache distincte d'acides humiques "gris" mobiles (gm) qui occupe souvent une situation correspondant aux acides humiques intermédiaires et, de plus, le pic principal des acides humiques gris peut présenter suivant les cas un ou deux maximums distincts. DUCHAUFOR donne au second maximum le nom d'acides humiques gris chernozemiques (Gch), car on le trouve dans les chernozems " (Analyse des matières humiques des sols. Publication du Laboratoire de Chimie des sols et Pédologie appliquée. S.S.C.-ORSTOM ).

Cette appellation d'acides humiques "gris" et d'acides humiques "bruns" peut porter à confusion, car les acides humiques "gris" sont en fait de couleur brun-sépia ( à brun-gris, il est vrai, dans les sols calcaires ou calciques ) et les acides humiques "bruns" sont nettement de couleur brun-jaune à café au lait. C'est la raison pour laquelle nous préférons personnellement parler d'acides humiques fixes ou peu mobiles, d'acides humiques moyennement mobiles (= acides humiques gm), d'acides humiques intermédiaires et d'acides humiques mobiles.

---

(2) PO<sub>4</sub>H<sub>2</sub>K 6,8g.; NaOH 1,2g.; eau q.s. un litre; ajuster le pH à 7,4 avec Na OH N/5.

De plus, étudiant les électrophorèses sur papier sous lumière ultra-violette, il nous est apparu qu'on pouvait très facilement déceler en tête de migration une fluorescence jaune vif qui précède immédiatement les acides humiques mobiles et paraît correspondre à des composés phénoliques. Cette fluorescence se conserve très bien et est encore bien visible dans des électrophorèses sur papier vieilles d'une dizaine d'années.

Inversement, à proximité de la dépose, une fluorescence orange encadre très souvent les acides humiques peu mobiles, mais elle peut parfois les précéder (sol brun calcaire de Bondy) ou migrer dans les acides humiques intermédiaires et parfois même migrer encore plus en avant puisque, dans l'électrophorèse des acides humiques du sol ferrallitique, on a retrouvé cette fluorescence orange intercalée entre la fluorescence jaune vif de tête et la tache d'acides humiques mobiles.

Concernant les quelques acides humiques étudiés par nous, il a pu être distingué dans chaque cas : une tache d'acides humiques fixes ou peu mobiles, une fluorescence orange deux fois plus large et encadrant souvent les acides humiques fixes, une trainée continue d'acides humiques intermédiaires, avec, dans le cas de l'altos des landes, une petite tache d'acides humiques plus foncée et bien localisée en leur milieu (acides humiques moyennement mobiles gm), une tache homogène d'acides humiques mobiles de couleur brun-jaune et enfin une fluorescence jaune vif, soit 5 à 6 fractions bien distinctes.

Sous lumière ultra-violette, les taches d'acides humiques apparaissaient plus sombres, mais, fait curieux, pour l'horizon profond du ranker du Mont Aigoual, la tache des acides humiques fixes ou peu mobiles ne se superposait pas avec la tache sombre observée sous lumière ultra-violette. Le décalage était très net puisque les deux taches en question étaient toutes deux bien délimitées et ne se superposaient que sur la moitié de leur largeur. Un phénomène analogue, mais moins affirmé, a été aussi observé avec l'horizon 0-20cm de la rendzine à horizons de Brunoy.

En fait, la tache sombre observée sous lumière ultra-violette correspond à la surface de dépôt, alors que les acides humiques fixes ou peu mobiles peuvent légèrement se décaler par rapport à celle-ci; c'est précisément ce qui est arrivé pour les acides humiques du ranker (électroosmose) et ceux de la rendzine (très légère migration positive).

Il existe donc dans les constituants de la dépose un composé chimique électriquement neutre (et donc qui ne migre pas), qui apparaît sombre sous lumière ultra-violette et qui n'est pas lié aux acides humiques fixes.

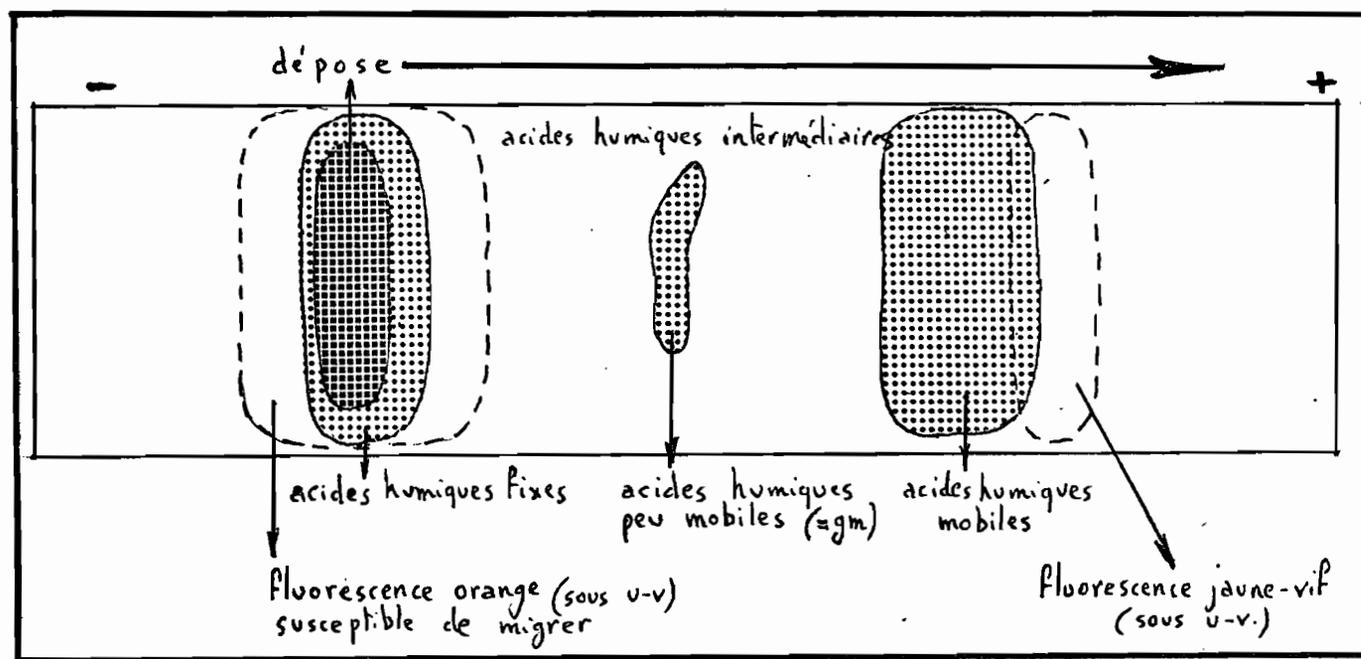


Figure 2 - Electrophorèse sur papier avec tampon phospho-sodique

Parfois, certains acides humiques mobiles peuvent aussi apparaître beaucoup plus sombres que les autres sous lumière ultra-violette, tel fut le cas avec la tache d'acides humiques mobiles de la rendzine de Montainville (hor. 0-20cm); échantillon où paradoxalement les acides humiques fixes (qui ici se superposaient aux contours de la dépose) n'apparaissaient pas sombres sous lumière ultra-violette. Faudrait-il donc admettre que le composé que nous avons décrit comme absorbant les ultra-violets, au lieu de demeurer sur la surface de dépose, aurait migré dans ce cas précis avec les acides humiques mobiles ? Nous ne pouvons répondre à cette question.

Electrophorèse sur papier avec tampon tris-borate-EDTA.

Ce tampon, que nous avons utilisé pour les électrophorèses sur gel de polyacrylamide, tend dans les électrophorèses sur papier à déterminer une certaine migration des acides humiques peu mobiles.

De plus, avec ce tampon et sous lumière ultra-violette, les acides humiques intermédiaires présentent une certaine fluorescence jaune et il existe toujours une bande sombre violette en tête de migration; ce qui dénote la présence de composés chimiques absorbant les ultra-violets et migrant encore plus facilement que les composés phénoliques donnant la fluorescence jaune vif.

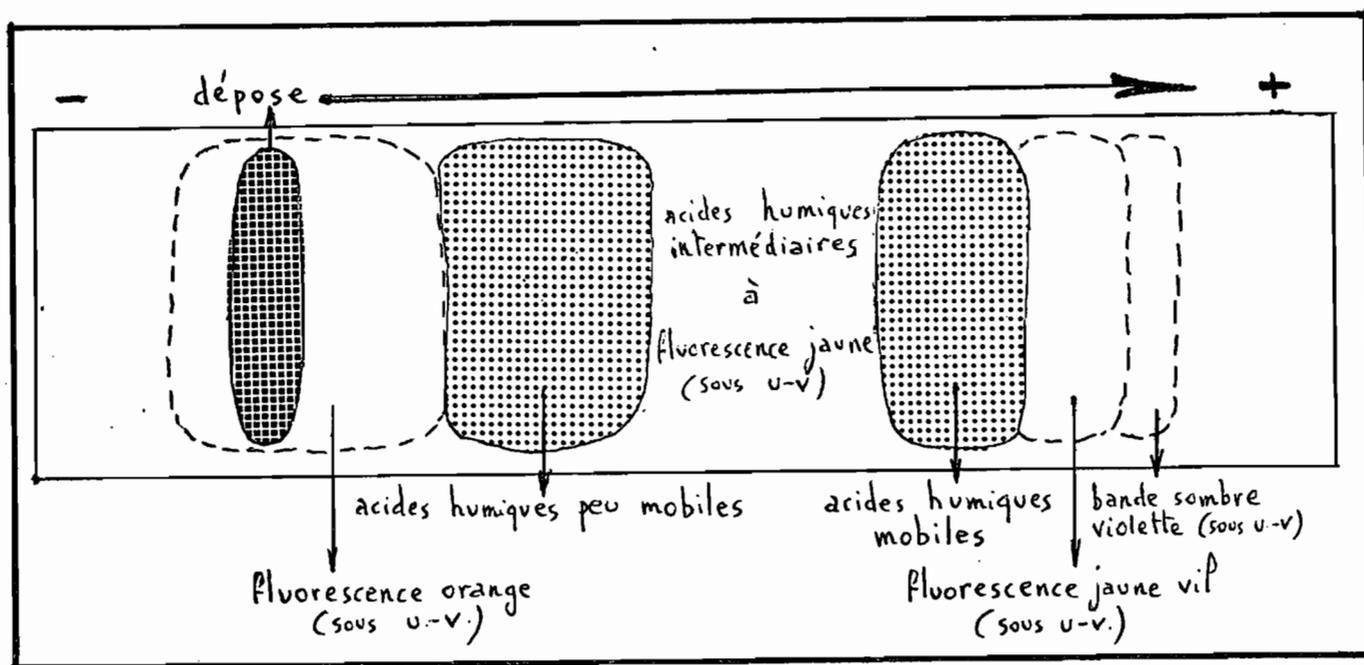


Figure 3 - Electrophorèse sur papier avec tampon tris-borate-EDTA.

Une répétition de l'électrophorèse sur papier des acides humiques du sol brun calcaire, du podzol et du sol ferrallitique a été effectuée sur ces substances humiques simplement solubilisées par le pyrophosphate de sodium, concentrées par évaporation et reprises par de la soude N (et donc n'ayant pas été précipitées par de l'acide sulfurique). Ces nouvelles électrophorèses nous ont permis de constater que la précipitation des acides humiques par l'acide sulfurique concentré tendait, d'une part, à rendre

plus nette et mieux délimitée la tache des acides humiques peu mobiles et contribuait, d'autre part, à libérer des composés phénoliques, la fluorescence jaune vif étant beaucoup plus vive en tête de migration; constatations qui vont dans le sens des travaux de SWIFT et POSNER (1972) déjà cités.

Une comparaison entre le fractionnement des acides humiques par électrophorèse sur plaque de polyacrylamide et le fractionnement de ces mêmes acides par électrophorèse sur papier sera esquissée plus loin, après examen du fractionnement de deux acides humiques sur colonnes de gel Séphadex; technique qui actuellement apparaît certainement comme la plus intéressante.



Nous avons indiqué sur cette figure le numéro des pics I à V qui, dans les travaux de BAILLY et TITTONEL (1971, 1972), nous paraissent correspondre aux diverses fractions d'acides humiques obtenus.

La fraction des gros agrégats humiques de poids moléculaire supérieur à 50.000 est certainement assez complexe puisque BAILLY et TITTONEL, travaillant sur les acides humiques d'un chernozem, d'un sol gris forestier et d'un sol podzolique de prairie, ont repris cette fraction correspondant au pic V et ont pu la fractionner sur gel Séphadex G 75 en obtenant les pics VI, VII et VIIa, puis VIII. Les acides humiques de ce dernier pic, passés à leur tour sur gel Séphadex G 200, ont donné les pics IX, Xa et Xb (poids moléculaires supérieurs à 1,5 et 2 millions).

Une expérience a été faite avec les gros agrégats moléculaires d'acides humiques de couleur brune (c'est à dire avec les acides humiques récoltés les premiers en bas de colonne).

Ces agrégats humiques ont été récupérés, concentrés à sec, repris par de la soude N/10 et repassés sur colonne de gel Séphadex G 25. Il n'a pas été constaté de dissociation de ces agrégats et donc l'apparition éventuelle de molécules d'acides humiques brun-jaune, mais simplement, sous lumière ultra-violette, l'existence d'une légère fluorescence jaune en arrière de la tache d'acides humiques.

Il ne semble donc pas que, dans le cas présent, la soude N/10 ait modifié les gros agrégats moléculaires d'acides humiques, tout au plus en aurait-elle facilité la libération de quelques composés phénoliques. Les travaux de BAILLY et TITTONEL (1971, 1972) ont cependant clairement montré le danger de la formation d'artéfacts au cours de l'extraction des acides humiques et des divers traitements que demande leur étude.

La fraction des acides humiques lourds (concentrés à sec et repris cette fois par de la soude N) a été aussi soumise à l'électrophorèse sur papier et à l'électrophorèse sur plaque de gel de polyacrylamide.

Dans l'électrophorèse sur papier, il n'a pas été constaté, là non plus, de dissociation de cette fraction d'acides humiques; il n'est pas apparu de taches d'acides humiques mobiles, mais une légère fluorescence jaune pouvait, sous lumière ultra-violette, être vue en tête de migration, ainsi d'ailleurs qu'une certaine fluorescence orange en avant des acides humiques fixes ou peu mobiles.

Par contre, dans l'électrophorèse sur gel de polyacrylamide, il est apparu l'aspect classique de répartition des acides humiques, tel qu'il est représenté sur la figure 1. Ceci est dû au fait qu'on a dans ces plaques un tamisage moléculaire arrêté avant la séparation complète entre les gros agrégats moléculaires brunâtres et les particules colorées d'acides humiques de couleur brun-jaune. Ces dernières, si on voulait aller jusqu'au bout du tamisage moléculaire, sortiraient de la plaque. La tache migrante d'acides humiques dépose, jusqu'à sa sortie de la plaque, une trainée continue d'agrégats moléculaires d'acides humiques; cette double tache migrante d'acides humiques ne peut donc être regardée comme une fraction bien définie.

Ceci confirme qu'on ne peut actuellement utiliser les plaques de gel de polyacrylamide pour le fractionnement des acides humiques.

Une légère fluorescence jaune était, là encore, observable en tête de migration.

ESSAI DE TABLEAU COMPARATIF DES DIFFERENTES FRACTIONS  
D'ACIDES HUMIQUES.

PLAQUE DE GEL DE POLYACRYLAMIDE	ELECTROPHORESE SUR PAPIER	CHROMATOGRAPHIE SUR GEL SEPHADEX G 25	d'après BAILLY, TITTONEL (1972)
dépose	dépose	<sup>sous U.V.</sup> fluorescence violette (éch. ranker 70cm)	
trainée continue d'agrégats moléculaires	acides humiques fixes ou peu mobiles (= acides humiques gris)	acides humiques grossiers	pic V <sup>(1)</sup>
	fond homogène des "acides humiques intermédiaires" (avec éventuellement une tache d'ac. hum.) moyennement mobiles [= ac. hum. g.m.]	fluorescence orange	fluorescence jaune éventuelle (éch. ranker 70cm)
acides humiques migrant { 1 (non colorables APS) / 2 (colorables APS)	acides humiques mobiles (= acides humiques bruns)	acides humiques brun-jaune { 2 <sup>e</sup> anneau fluorescence jaune-vif. / 1 <sup>er</sup> anneau fluorescence jaune-vif	pic IV / pic III b
composés phénoliques fluorescence jaune { 1 vive / 2 pâle	fluorescence jaune vif (visible par coloration à la ninhydrine)	acides humiques brun-verdâtre accolés au 1 <sup>er</sup> anneau (pigments végétaux)	pic III a
	bande sombre de couleur violet foncé (avec tampon tris-borate-EDTA)	fluorescence violette (type nylon) (éch. ranker 0-20 cm)	zone II

migration

ambiguïté

migration

grosses molécules

petites molécules

très petites molécules

séphadex G 75 | séphadex G 200

(1) pic V { VIII / VII et VIII a / VI } { X b / X a / IX }

## RECHERCHE DE COLORATIONS SPECIFIQUES DES DIFFERENTES FRACTIONS D'ACIDES HUMIQUES.

Cette recherche, encore à peine abordée, n'a jusqu'ici fourni que très peu de résultats positifs.

Des diverses colorations que nous avons essayées, trois seulement méritent d'être citées. Les autres seront simplement rappelées pour mémoire, n'ayant rien donné d'intéressant.

### Colorations d'électrophorèses sur plaque de gel de polyacrylamide

#### - Coloration A.P.S.

Cette coloration a bien montré le dédoublement de la phase migrante en colorant très nettement en orange sa fraction la plus avancée. La fraction postérieure de la phase migrante est par contre demeurée très brune (ranker, alios, sol ferrallitique), simplement brune (horizon Ao du podzol) ou brun-jaune (rendzines et sol brun calcaire). Cette fraction qui ne s'est pas colorée doit vraisemblablement correspondre, comme nous l'avons vu dans le chapitre précédent, aux agrégats moléculaires non encore bloqués dans le gel de polyacrylamide et avec lesquels elle est évidemment en continuité.

Cette coloration A.P.S. a aussi coloré en rose clair la fraction des composés phénoliques seulement visible normalement en lumière ultra-violette, sous l'action de laquelle elle donne une coloration jaune souvent assez vive.

#### - Coloration vert de méthyl-fuschine en milieu acétique.

Sous l'effet de cette double coloration classique, les gros agrégats moléculaires d'acides humiques tendent à se colorer en violet et les particules individuelles en vert.

Les gros agrégats moléculaires du sol ferrallitique, riches en kaolin et en fer, se sont toutefois colorés en gris.

Colorations d'électrophorèses sur papier

- Coloration à la ninhydrine.

Une solution de ninhydrine à 1% colore à chaud, très facilement et en jaune les composés phénoliques qui sont en tête de migration et qui apparaissent ordinairement jaune vif sous lumière ultra-violette

Pour mémoire : Colorations essayées, mais n'ayant rien donné d'intéressant.

- Recherche des substances muqueuses : Coloration de Mann-Dominici, coloration au bleu alcian, coloration au tannin-fer.
- Coloration des protéines : réaction du biuret, réaction glyoxylique, réaction du soufre, coloration au bleu de bromophénol, coloration à l'amidoschwartz, coloration à l'azocarmin B.
- Coloration des aldéhydes : réactif de Schiff après ou non hydrolyse par HCl.
- Coloration des argiles : coloration à la safranine.

## CONCLUSIONS

De cette brève étude technique, il résulte que :

1- Le tamisage moléculaire avec électrophorèse (appareil de type Gradipore) ne paraît pas pouvoir actuellement aider au fractionnement des acides humiques, car les gels de polyacrylamide sont encore trop grossiers pour permettre un tamisage moléculaire assez poussé de ces acides.

2- Seuls demeurent vraiment valables pour le fractionnement des acides humiques l'électrophorèse sur papier et surtout la chromatographie sur gel Séphadex, déjà utilisée avec succès par de nombreux chercheurs, dont notamment BAILLY et TITTONEL (1971, 1972).

3- Une définition plus complète des diverses fractions d'acides humiques devrait pouvoir se réaliser dans l'avenir, tant par l'étude des fluorescences sous lumière ultra-violette que, peut-être, pour les électrophorèses sur papier, par des colorations spécifiques (réaction à la ninhydrine par exemple)

4- La recherche de l'évaluation quantitative des différentes fractions d'acides humiques ainsi définies sera ensuite à envisager.

## AUTEURS CITES

=====

- BAILLY (J.R.), TITTONEL (E.), 1971 - Fractionnement des acides humiques de quelques sols sur gel de dextrane. Nouveaux résultats. C.R.Acad.Sci.(Paris), T.273, sér.D, n°3, 306-309.
- BAILLY (J.R.), TITTONEL (E.), 1972 - Etude de quelques acides humiques sur gel de dextrane (II)  
Plant and Soil, 37, 1, 57-80.
- BRUCKERT (S.), JACQUIN (F.), 1971 - Contribution à l'étude de la condensation des composés organiques au cours de l'humification en milieu podzolique.  
Bull.Ecole Nat.Sup.Agron.Nancy, T.XIII, fasc.I-II, 28-35.
- CAMBERON (R.S.), THORNTON (B.K.), SWIFT (R.S.), POSNER (A.M.), 1972 - Molecular weight and shape of humic acid from sedimentation and diffusion measurements on fractionated extracts.  
Journal of Soil Sci., 23, 4, 394-408.
- ORLOV (D.S.), AMMOVA (Ya.M.), GLEBOVA (G.I.), GORSHKOVA (Ye.I.), IL'IN (N.P.) et KOLESNIKOV (M.P.), 1971 - Molecular weights, sizes and configuration of humic-acid particles.  
Soviet Soil Sci., 3, 6, 673-687.
- ORLOV (D.S.), GLEBOVA (G.I.), 1972 - Microscopie électronique des acides humiques (en russe).  
Agrokimiya, n°7, 131-136.
- SWIFT (R.S.), POSNER (A.M.), 1972 - Autoxidation of humic acid under alkaline conditions.  
Journal of Soil Sci., 23, 4, 381-393.