

Jolanta KWIATKOWSKA-MALINA

Politechnika Warszawska, Katedra Gospodarki Przestrzennej
i Nauk o Środowisku Przyrodniczym, pl. Politechniki 1, 00-661 Warszawa

Analiza struktury substancji humusowych gleb po wprowadzeniu węgla brunatnego na podstawie widm fluorescencyjnych

Badania dotyczyły analizy właściwości substancji humusowych (SH) oraz kształtowania struktury kwasów huminowych (KH) gleb po wprowadzeniu preparatu wytworzonego na bazie (85%) odpadowego węgla brunatnego. Do badań wykorzystano materiał glebowy z wieloletnich statycznych doświadczeń polowych i mikropoletkowych, a jako źródło materii organicznej Rekulter - preparat wyprodukowany na bazie węgla brunatnego odpadowego i węgla brunatnego typu ziemistego z Zagłębia Konińskiego (KWB Konin). Niższe wartości intensywności fluorescencji na widmach 3-D EEM dla KH z gleby rdzawej (piaszczystej) wskazują na większy wpływ materii organicznej z węgla brunatnego na gleby bardzo lekkie piaszczyste w porównaniu do gleb cięższych (brunatna kwaśna, płowa). Wyniki ponad 20-letnich doświadczeń polowych na glebie rdzawej potwierdziły korzystne, długotrwałe oddziaływanie węgla brunatnego na właściwości gleby oraz na stan materii organicznej z tego źródła.

Słowa kluczowe: materia organiczna z węgla brunatnego, substancje humusowe gleb, struktura kwasów huminowych, spektroskopia fluorescencyjna

Wprowadzenie

Gleba stanowi integralny i wielofunkcyjny element ekosystemów lądowych i niektórych wodnych, będący produktem wzajemnego oddziaływania lito-, hydro-, atmo- i biosfery. W jej skład wchodzi składniki mineralne, materia organiczna, woda, powietrze oraz żywe organizmy [1]. Materię organiczną w środowisku naturalnym stanowią: (i) materiały niehumusowe (białka, polisacharydy, kwasy nukleinowe) oraz (ii) makromolekularne substancje humusowe [2]. Gleba ma podstawowe znaczenie dla funkcjonowania ekosystemów i działalności człowieka. Zgodnie z Dyrektywą Parlamentu Europejskiego i Rady ustanawiającej ramy dla ochrony gleby [3], stanowią one zasób zasadniczo nieodnawialny, ponieważ procesy degradacji mogą zachodzić znacznie szybciej niż procesy glebotwórcze i naprawcze. W szóstym wspólnotowym programie działań w zakresie środowiska przyjęto strategię tematyczną w dziedzinie ochrony gleb, zmierzającą do zatrzymania i odwrócenia procesów jej degradacji. W komunikacie „W Kierunku Tematycznej Strategii Ochrony Gleb” z 2002 r. [4], wśród ośmiu głównych zagrożeń dla gleb na terenie UE, szczególną uwagę zwraca się na spadek zawartości materii organicznej gleb

(MOG). W Polsce 90% gleb użytków rolnych charakteryzuje się niską lub bardzo niską zawartością węgla organicznego (0-2%) [1].

Do głównych źródeł MOG zalicza się: resztki roślinne w różnych stadiach rozkładu, nawozy naturalne (obornik, gnojowica, gnojówka) i organiczne (kompost, wermikompost) oraz zewnętrzną materię organiczną, np. osady ściekowe, organiczne odpady komunalne, korę, słomę, torf itp. MOG składa się z [5]: (i) substancji łatwo ulegających przemianom (szybciej niż w ciągu roku) - tzw. resztki pozbiorowe, (ii) substancji bardziej odpornych na rozkład (dziesiątki lub setki lat) - torf, węgiel brunatny, (iii) skrajnie trudno rozkładających się substancji (setki do tysięcy lat) - węgiel kamienny. MOG ulega transformacjom biochemicznym i mikrobiologicznym, a całokształt jej przekształceń w glebie określa się terminem „rozkład”, który obejmuje procesy humifikacji i mineralizacji. Proces humifikacji definiowany jest także jako „przedłużająca się stabilizacja substancji organicznej ze względu na biodegradację”. Procesy humifikacji i mineralizacji zachodzą równocześnie i są ze sobą ściśle związane, przy czym produkty humifikacji włączane są do procesu mineralizacji i odwrotnie. Humifikacja prowadzi do odtworzenia substancji humusowych (SH) w glebie, zwanych także w literaturze przedmiotu humusem lub próchnicą [1].

SH stanowią złożoną, heterogeniczną i dość trwałą mieszaninę brunatnych amorficznych substancji koloidalnych. Są tworem stabilnym, a czas ich obiegu w glebie może dochodzić nawet do 1000 lat [1]. Podział SH na trzy kategorie w oparciu o kryterium rozpuszczalności jest wynikiem analitycznej procedury ich frakcjonowania i pozwala na wyodrębnienie różniących się właściwościami: kwasów huminowych (KH), kwasów fulwowych (KF) i humin [6]. KH zbudowane są głównie z węgla, wodoru i tlenu oraz niewielkich ilości azotu i siarki. Węgiel i wodór występują w połączeniach pierścieniowych, łańcuchach alifatycznych i jako składowe grup funkcyjnych. Dotychczas nie udało się poznać struktury KH z uwagi na ich makromolekularną budowę i trudności z wyizolowaniem ze środowiska, a także dlatego, że stanowią one konglomerat wielu podjednostek chemicznych i nie posiadają uniwersalnego wzorca molekuly [7]. W jednym z modeli zachowanie KH porównuje się do elastycznych, linearnych i syntetycznych polielektrolitów [8].

SH są ważnym ogniwem w globalnym obiegu węgla, pełniąc jednocześnie szeregiem funkcji istotnych dla aktywności gleb i środowiska przyrodniczego. Ochronna funkcja SH w środowisku przyrodniczym polega na zdolności do wiązania i skutecznego neutralizowania substancji szkodliwych, toksyn i zanieczyszczeń wprowadzanych do środowiska przez człowieka [9]. SH posiadają zdolność tworzenia połączeń z pestycydami, a zwłaszcza herbicydami, dzięki którym obniżona zostaje ich fitotoksyczność [1]. Znacząco wpływają również na migrację radionuklidów [10]. Interakcje zachodzące pomiędzy SH a zanieczyszczeniami organicznymi (np. WWA) zmieniają istotnie ich migrację w środowisku [11]. Wzrost zawartości SH w wierzchniej warstwie zdegradowanej gleby poprzez humifikację sztucznie wprowadzonej materii organicznej pozwala na odtworzenie naturalnej bariery ochronnej, a tym samym może stanowić metodę ograniczenia/likwidacji ryzyka

zdrowotnego i/lub środowiskowego na terenach objętych antropopresją, związanego na przykład z zanieczyszczeniem metalami ciężkimi [12].

Ze względu na znaczenie SH w glebie konieczne są działania prowadzące do stabilizowania i/lub zwiększenia ich zasobów. Do najważniejszych czynników determinujących zasoby MOG należą: (i) naturalne (klimat, typ i rodzaj gleby, topografia terenu, szata roślinna) i (ii) antropogeniczne (użytkowanie gleby, system rolnictwa, degradacja). W Polsce czynniki naturalne (duży udział gleb piaszczystych) nie sprzyjają tworzeniu i/lub utrzymywaniu na stałym poziomie SH [13]. Użytkowanie rolnicze, szczególnie orne, powoduje szybką mineralizację i straty SH. Dlatego też właściwe użytkowanie gleb i uzupełnianie materii organicznej jest szczególnie ważne z punktu widzenia utrzymania zawartości SH na odpowiednim poziomie.

Dążąc do wzbogacenia gleb w substancję organiczną, podjęto szereg badań mających na celu pozyskanie nowych, bezpiecznych dla środowiska i człowieka źródeł MOG [14, 15]. Zwrócono uwagę na możliwości wykorzystania odpadowego węgla brunatnego, jako źródła substancji organicznej [16, 17], zarówno w postaci miału, jak i nawozów organiczno-mineralnych, i preparatów produkowanych na jego bazie [15, 18-22]. W dostępnej literaturze nie znaleziono szczegółowych informacji na temat procesów zachodzących podczas humifikacji materii organicznej z węgla brunatnego po jego wprowadzeniu do gleby.

Głównym celem pracy była analiza właściwości SH gleb po wprowadzeniu węgla brunatnego oraz kształtowanie struktury KH. Założono, że dodatek węgla brunatnego spowoduje trwałe wzbogacenie gleb o niskiej zawartości materii organicznej w SH o właściwościach zbliżonych do tych pochodzących z innych powszechnie stosowanych źródeł.

1. Metodyka badań

Do badań wykorzystano materiał glebowy pochodzący z wieloletnich statycznych doświadczeń: (i) połowego w Skierniewicach (20°34' E i 51°58' N) na glebie płowej właściwej (Haplic Luvisols, WRB), wytworzonej z piasku gliniastego mocnego na glinie lekkiej, (ii) połowego w Klonie (21°34' E i 53°54' N) na glebie rdzawej właściwej (Cambic Arenosols, WRB), wytworzonej z piasku luźnego, (iii) mikropoletkowego IUNG w Puławach (21°58' E i 51°25' N) na glebie brunatnej kwaśnej (Eutric Cambisols, WRB), wytworzonej z piasku słabo gliniastego na glinie lekkiej oraz na glebie płowej właściwej (Haplic Luvisols, WRB), wytworzonej z pyłu ilastego.

Jako źródła substancji organicznej użyto preparatu wyprodukowanego na bazie węgla brunatnego - Rekulter - w dawkach: 40; 80; 50 t · ha⁻¹. Rekulter stanowił mieszaninę odpadowego węgla brunatnego (pył węglowy i pospółka, produkty uboczne przy wydobyciu węgla) i torfu niskiego w stosunku wagowym 5:1, wzbogaconą nawozami mineralnymi. Torf został wprowadzony do preparatu głównie jako komponent poprawiający właściwości fizyczne gleby. Dodatek popiołu z węgla brunatnego (ok. 4%), pochodzącego z drugiej i trzeciej strefy elektrofiltrów,

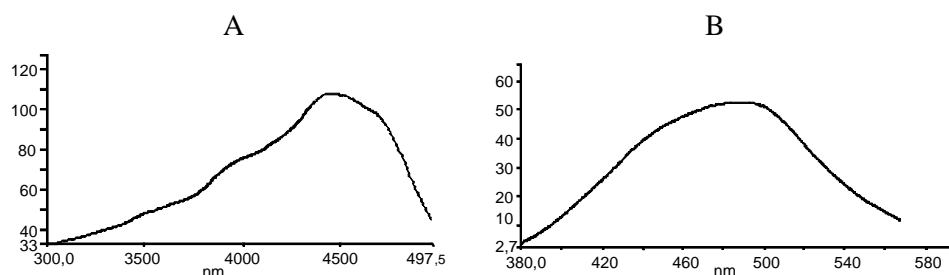
wprowadzono głównie w celu odkwaszenia gleb, stanowił on jednocześnie źródło wapnia, magnezu i mikroelementów. Węgiel brunatny użyty do produkcji Rekultera pochodził z Zagłębia Konińskiego (KWB Konin) z pokładu na głębokości 18,2÷20,9 m. Był to węgiel typu ziemistego, zbudowany z maceratów grupy humodendrynitów i humotelinitów z dodatkiem maceratów z grupy humokolinitów, inertynitów i liptynitów. Posiadał on teksturę pospółki ($\varnothing < 2$ cm), zawierał ok. 11% popiołu.

Ekstrakcję KH z próbek materiału glebowego przeprowadzono metodą Schnitzera [23]. Charakterystykę wyseparowanych KH przeprowadzono w oparciu o analizy widm fluorescencyjnych w stanie wzbudzonym, emisję i widma wzbudzenia skanowane synchronicznie oraz matryc wzbudzenia i emisji (EEM) - za pomocą spektrometru fluorescencyjnego Perkin-Elmer LS 55 [22]. Spektroskopia fluorescencyjna dostarcza informacji o strukturze cząsteczek substancji humusowych (SH) oraz o procesach wewnątrzcząsteczkowego transportu energii i przemianach strukturalnych [24]. Konwencjonalna spektroskopia fluorescencyjna uwzględniająca widma wzbudzenia, emisji i synchroniczne jest szeroko stosowana przy charakterystyce KH i KF pochodzących z różnych źródeł [9, 25]. Od niedawna stosowana jest trójwymiarowa (3-D) spektroskopia fluorescencyjna, dostarczając pełnych danych spektralnych KH i KF w postaci matrycy wzbudzenia-emisji (EEM) [26-28]. Technika fluorescencyjna jest polecana również z uwagi na czułość pomiarów i niedestrukcyjne działanie na badany materiał [29, 30].

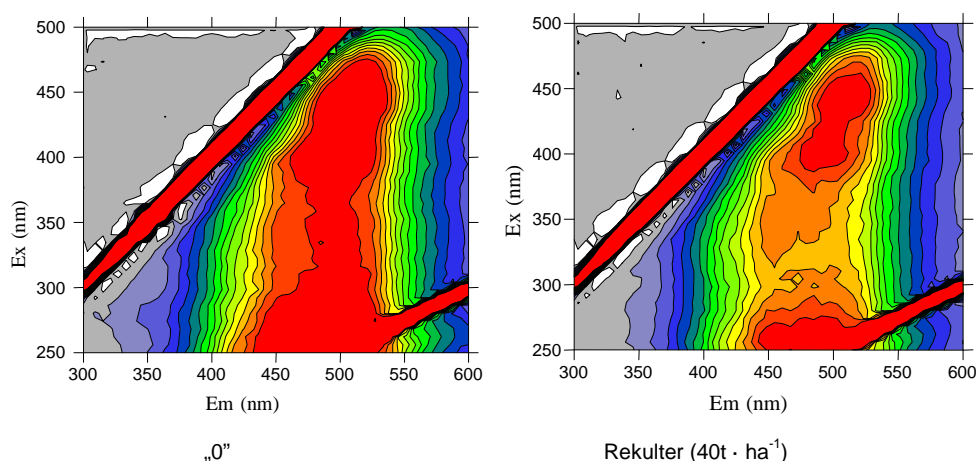
2. Wyniki badań i dyskusja

Widmo fluorescencyjne w stanie wzbudzonym dla KH z węgla brunatnego (rys. 1A) charakteryzowało się dużym pikiem przy długości fali 446 nm, który generalnie jest przypisywany pierścieniom aromatycznym związanym z grupami donorów elektronów, oraz małym pikiem (dla długości fali 392 nm) przypisywanym fluoroforom powstałym podczas polikondensacji grup karbonylowych i aminowych, a także struktur fenolowych pochodnych lignin [31, 32]. Widmo fluorescencyjne w stanie wzbudzonym skanowane synchronicznie dla KH z węgla brunatnego (rys. 1B) charakteryzowało się wyraźnym pikiem przy 500 nm. Miano i Senesi [28] podają, że pik dla tej długości fali występuje przy różnych podstawnikach akceptorów elektronów.

3-D widma EEM dla KH wyekstrahowanych z gleb z doświadczenia w Skiernewicach przedstawiono na rysunku 2. W widmach KH z gleby kontrolnej występuje jeden główny pik przy $475_{\text{ex}}/520_{\text{em}}$ o intensywności fluorescencji (IF) = 102,1. W widmach KH z gleby z dodatkiem Rekultera obserwuje się dwa piki: stosunkowo intensywny pik przy $445_{\text{ex}}/520_{\text{em}}$, któremu towarzyszy szerokie połączenie, rozciągające się od krótszej długości fali wzbudzenia do mniej intensywnego piku przy $270_{\text{ex}}/490_{\text{em}}$ (FI = 89,3). W przypadku gdy w analizowanej próbce występuje więcej niż jeden fluorofor, intensywność fluorescencji wyraża suma poszczególnych EEM [33].



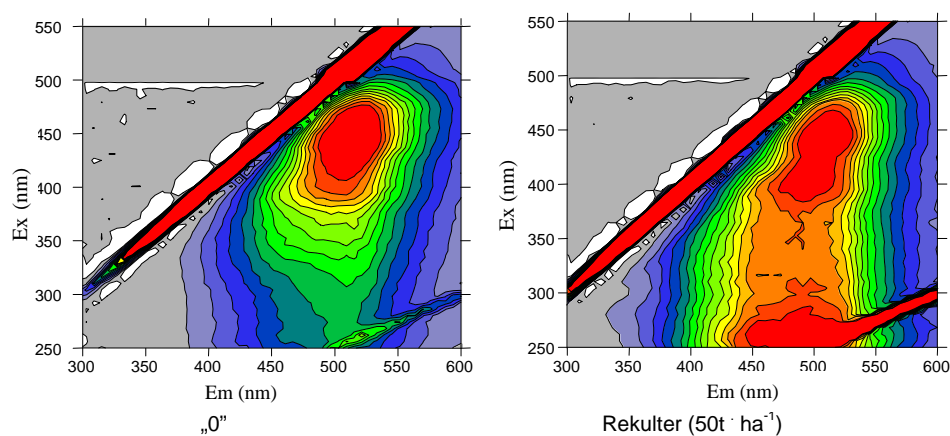
Rys. 1. Widma wzbudzenia (A) oraz skanowane synchronicznie (B) dla KH wyizolowanych z próbek węgla brunatnego



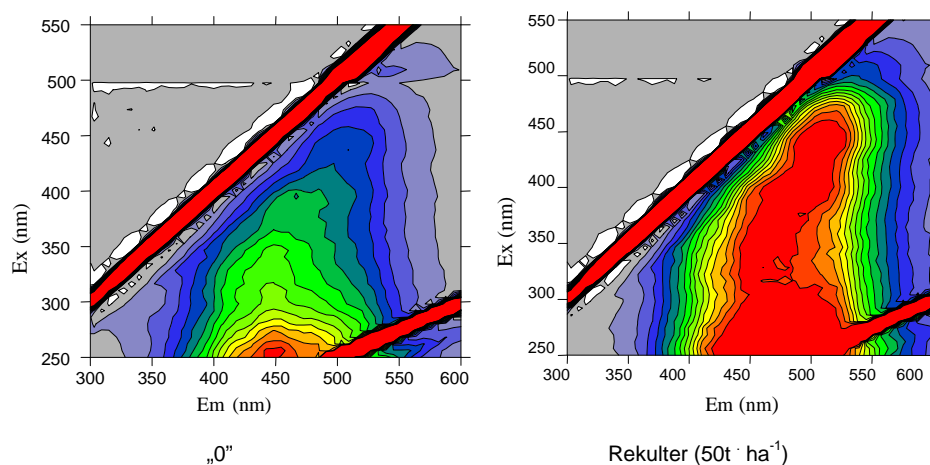
Rys. 2. Trójwymiarowe widma matrycy wzbudzenia-emisji (EEM) KH wyizolowanych z próbek gleby z doświadczenia w Skierniewicach

Występowanie kilku rozproszonych pików może świadczyć o niskiej zawartości KH, co powoduje wytworzenie słabego sygnału fluorescencyjnego. Provenzano i in. [34] zaobserwowali podobny układ widm dla KH wyekstrahowanych z gleby brunatnej. Natomiast Plaza i in. [35], w badaniach nad wpływem na właściwości fluorescencyjne kompostu z osadów ściekowych dodanego do gleby, zaobserwowali podobny układ widm dla KH z gleby kontrolnej i po zastosowaniu $40 \text{ t} \cdot \text{ha}^{-1}$ kompostu z osadów ściekowych, zaś znacznie niższe FI, odpowiednio 208 i 191. Według wielu autorów [36, 37] niższe wartości FI można przypisywać liczniejszej obecności struktur polisacharydów i mniejszej zawartości zredukowanych benzo-chinonów fluoroforowych, organicznych wolnych rodników i donorów elektronów, np. grup hydroksylowych i metoksyłowych. Powszechne występowanie pików fluorescencyjnych w zakresie krótkofalowym może być także związane z obecnością składników o prostej strukturze i niejednorodnych molekularnie, o małej masie cząsteczkowej, niskiej aromatycznej polikondensacji, niskim poziomie chromoforów sprzężonych i niewielkim stopniu humifikacji [37]. Widmo EEM dla KH z gleby z dodatkiem Rekultera potwierdza te przypuszczenia. Niższa wartość FI w porównaniu do widma KH z gleby kontrolnej sugeruje częściowe włączenie (wprowadzenie) do glebowych KH związków prostych o niskim stopniu humifikacji.

3-D widma EEM dla KH z gleby z doświadczenia w Puławach przedstawiono na rysunkach 3 i 4. Widmo KH z gleby brunatnej bez dodatku Rekultera cechuje się unikalną grupą chromoforową położoną centralnie w stosunku do pary dla różnych długości fal wzbudzenia/emisji. Występował tutaj pik przy $460_{ex}/505_{em}$ (FI = 66,0), podczas gdy w widmie KH z gleby z dodatkiem Rekultera występowały dwa piki: przy $465_{ex}/505_{em}$ i $225_{ex}/470_{em}$ (FI = 100,5). Zaobserwowano widoczne przesunięcie par długości fal wzbudzenia/emisji do krótszych wraz z wprowadzeniem do gleby materii organicznej w postaci Rekultera. Otrzymane rezultaty można przypisywać wzrastającym zawartościom prostych aromatycznych grup funkcyjnych KH z gleb z zastosowanym dodatkiem, które fluoryzują przy niższych długościach fal [38]. Romero i in. [39], w badaniach nad wermikompostami i odpadami po destylacji, stwierdzili spadek intensywności fluorescencji wraz ze wzrostem dojrzałości wermikompostu z odpadów po destylacji.



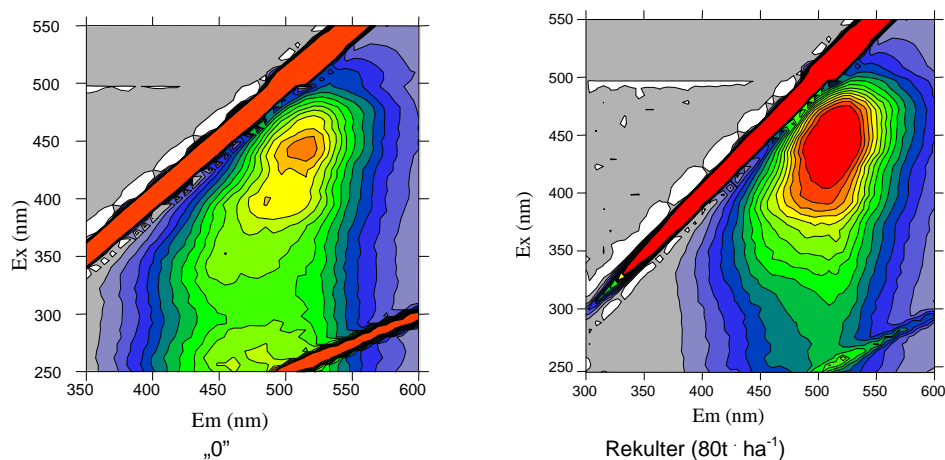
Rys. 3. Trójwymiarowe widma matrycy wzbudzenia-emisji (EEM) KH wyizolowanych z próbek gleby brunatnej kwaśnej (Eutric Cambisol) z doświadczenia w Puławach



Rys. 4. Trójwymiarowe widma matrycy wzbudzenia-emisji (EEM) KH wyizolowanych z próbek gleby płowej (Haplic Luvisol) z doświadczenia w Puławach

W widmie KH z gleby płowej bez dodatku Rekultera występował pik przy $225_{\text{ex}}/450_{\text{em}}$ ($\text{FI} = 100,5$) (rys. 4). 3-D widmo EEM dla KH z gleby z dodatkiem Rekultera w dawce $50 \text{ t} \cdot \text{ha}^{-1}$ charakteryzował pik przy $465_{\text{ex}}/535_{\text{em}}$ ($\text{FI} = 51,6$). Obecność pików o tak niskiej energii może świadczyć o występowaniu struktur ligninowych w KH. Sierra i in. [25] stwierdzili maximum wzbudzenia i emisji struktur ligninowych przy $475_{\text{ex}}/545_{\text{em}}$. Pik przy $330_{\text{ex}}/450_{\text{em}}$ występuje powszechnie w widmach EEM substancji organicznych zarówno w ekosystemach wodnych, jak i lądowych [27, 39].

3-D widma EEM dla KH z gleby kontrolnej z doświadczenia w Klonie charakteryzował jeden słaby pik przy $458_{\text{ex}}/503_{\text{em}}$ ($\text{FI} = 66,6$), natomiast widmo KH z gleby z dodatkiem Rekultera pik przy $490_{\text{ex}}/520_{\text{em}}$, z obniżoną intensywnością fluorescencji ($\text{FI} = 30,7$) (rys. 5). Tak znaczne (o ok. 50%) zmniejszenie wartości FI dla widm KH było wynikiem zarówno dawki ($80 \text{ t} \cdot \text{ha}^{-1}$) materii organicznej z węgla brunatnego (w postaci Rekultera), jak i składu granulometrycznego gleby (gleba bardzo lekka). Bertoncini i in. [40], w badaniach nad wpływem nawożenia osadami ściekowymi na właściwości KH i KF, stwierdzili także większe zmiany właściwości fluorescencyjnych (FI) KH z gleby piaszczystej w porównaniu do gliniastej. Obecność pików o tak niskiej energii może świadczyć o występowaniu struktur ligninowych w KH. Analiza struktury widm fluorescencji KH z gleb z dodatkiem węgla brunatnego, ze względu na obecność struktur ligninowych po 20 latach trwania doświadczenia, daje kolejną podstawę do wnioskowania o długotrwałym oddziaływaniu węgla brunatnego na stan materii organicznej.

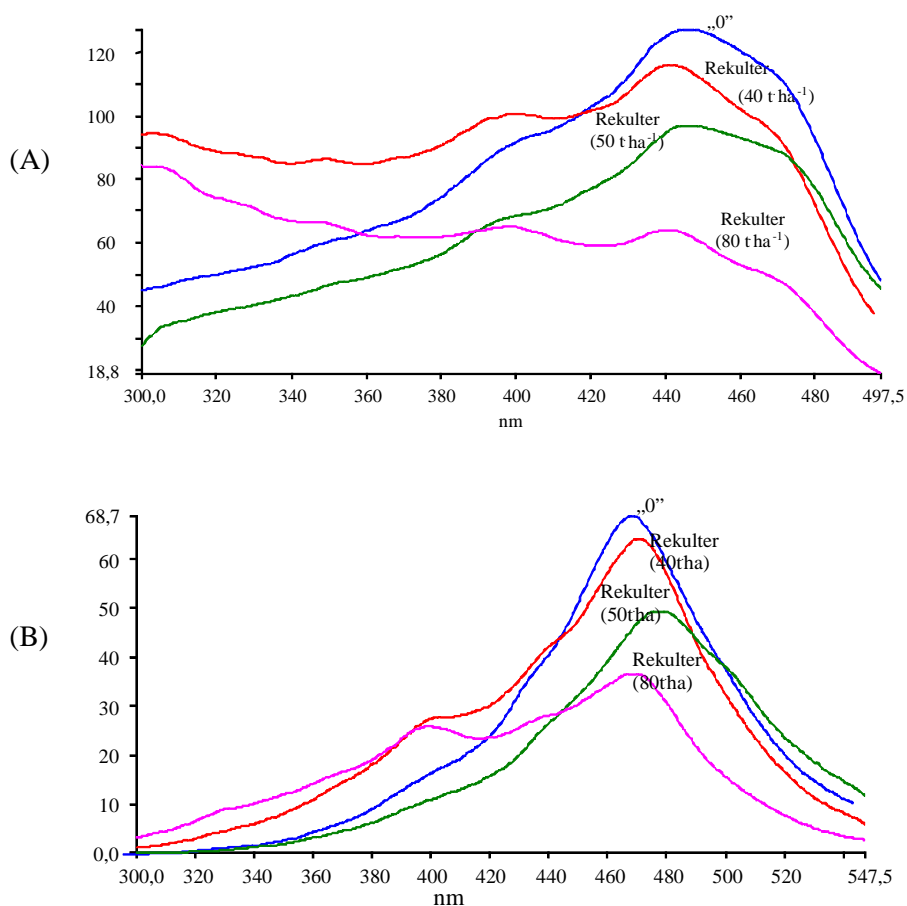


Rys. 5. Trójwymiarowe widma matrycy wzbudzenia-emisji (EEM) KH wyizolowanych z próbek gleby z doświadczenia w Klonie

Analiza struktury widm fluorescencji KH wyekstrahowanych z gleb wariantów z Rekulterem daje podstawy do postulowania licznej obecności struktur polisacharydów, mniejszej zawartości zredukowanych benzochinonów fluoroforowych, grup hydroksylowych i metoksyłowych. KH z gleb z dodatkiem Rekultera charakteryzowały się obecnością pierścieni aromatycznych związanych z dużą ilością grup

karboksylowych i karbonylowych, które są podstawnikami akceptorów elektronów. KH gleb z Rekulterem miały prostą i niejednorodną molekularnie strukturę, o małej masie cząsteczkowej, niskiej aromatycznej polikondensacji, niskim poziomie chromoforów sprzężonych i niewielkim stopniu humifikacji. Ze wzrostem dawki Rekultera dodanego do gleb wzrastała zawartość prostych aromatycznych grup funkcyjnych KH. W KH z gleb z dodatkiem materii organicznej z węgla brunatnego w postaci Rekultera występowały struktury ligninowe.

Widmo wzbudzenia dla KH wyekstrahowanych z gleby kontrolnej w Skierniewicach (rys. 6A) charakteryzowało się dużym pikiem przy 446 nm, który generalnie jest przypisywany pierścieniom aromatycznym związanym z grupami donorów elektronów, oraz małym pikiem (przy 392 nm), przypisywanym fluoroforom powstałym podczas polikondensacji grup karbonylowych i aminowych oraz struktur fenolowych pochodnych lignin z grupą OH sprzężoną przez pierścień benzenu z grupą karbonylową [31, 32].



Rys. 6. Widma wzbudzenia (A) i widma wzbudzenia skanowane synchronicznie (B) dla KH wyizolowanych z próbek gleby z doświadczeń w Skierniewicach, Puławach (gleba płowa) i Klonie

Widma wzbudzenia KH z gleby z dodatkiem Rekultera w dawkach $40 \text{ t} \cdot \text{ha}^{-1}$ (gleba płowa ze Skierniewic) i $50 \text{ t} \cdot \text{ha}^{-1}$ (gleba płowa z Puław) charakteryzują się podobnymi pikami, jakkolwiek ze wzrostem dawki Rekultera, niezależnie od typu gleby, można zaobserwować: (i) spadek całkowitej intensywności fluorescencji, (ii) stopniowy spadek intensywności względnej pików dla długości fali 446 nm.

Typ i liczba podstawionych grup w pierścieniu aromatycznym odpowiada intensywności fluorescencji [35, 37]. Zaobserwowane zmniejszenie całkowitej intensywności fluorescencji dla KH z gleby z dodatkiem Rekultera można przypisywać głównie obecności pierścieni aromatycznych związanych z dużą ilością grup karboksylowych i karbonylowych, które są podstawnikami akceptorów elektronów. Z drugiej strony silny spadek intensywności względnej pików przy 446 nm może być przyczyną wzrostu aromatycznego charakteru KH w przypadku gleb z użytymi dodatkami, co uwidoczni się większym skupieniem grup chromoforowych i w konsekwencji większym prawdopodobieństwem dezaktywacji stanów wzbudzenia przez wewnętrzne wygaszenie [9, 41].

Widma wzbudzenia skanowane synchronicznie dla KH wyizolowanych z gleb z doświadczeń w Skierniewicach, Puławach i Klonie przedstawiono na rysunku 6B. Charakteryzują się one niezależnie od typu gleby wyraźnym pikiem przy 446 nm. Miano i Senesi [28, 42] podają, że pik przy tej długości występuje przy różnych podstawnikach akceptorów elektronów. Również przy widmach wzbudzenia zaobserwowano postępujący spadek intensywności tego pików w KH gleb wraz ze wzrostem dawki Rekultera.

Wnioski

1. Materia organiczna z węgla brunatnego po wprowadzeniu do gleby stosunkowo wolno ulega przemianom i powoduje trwałe wzbogacenie gleb o niskiej zawartości materii organicznej w substancje humusowe (SH). Długotrwałe korzystnie oddziałuje zarówno na właściwości fizykochemiczne gleb, jak i na skład, strukturę i właściwości SH.
2. Większy wpływ materii organicznej z węgla brunatnego na gleby bardzo lekkie piaszczyste w porównaniu do gleb, cięższych potwierdzają niższe wartości intensywności fluorescencji na widmach 3-D EEM dla KH z gleby rdzawej.
3. Wyniki 20-letnich doświadczeń polowych na glebie rdzawej (piaszczystej) odłogowanej potwierdziły korzystne, długotrwałe oddziaływanie węgla brunatnego na właściwości gleby oraz na stan materii organicznej z tego źródła.

Podziękowanie

Prezentowane badania zostały wykonane we współpracy z zespołem kierowanym przez Profesora Nikolę Senesiego na Uniwersytecie w Bari, Włochy.

Literatura

- [1] Gonet S.S., Ochrona zasobów materii organicznej gleb, [w:] Rola materii organicznej w środowisku, red. S.S. Gonet, M. Markiewicz, PTSH, Wrocław 2007, 7-29.
- [2] Zouboulis A.I., Wu Jun, Katsoyiannis I.A., Removal of humic acids by flotation, *Colloids & Surfaces. Part A': Physico-chemical & Engineering Aspects* 2003, 231, 181-193.
- [3] COM (2006) 232, final. Brussels. Directive of the European Parliament and of the Council, establishing a framework for the protection of soil and amending Directive 2004/35/EC.
- [4] COM (2002) 179, final. Brussels. Communication for the Commission to the Council, the European Parliament, the Economic and Social Committee and the Committee of the Regions - Towards a Thematic Strategy for Soil Protection.
- [5] Lal R., Agricultural activities and the global carbon cycle. *Nutrient Cycling in Agroecosystems* 70, Kluwer Academic Publishers, Netherlands 2004, 103-116.
- [6] Stevenson F.J., *Humus Chemistry*, Wiley, Chichester 1994.
- [7] Saiz-Jimenez C., Applications of pyrolysis-gas chromatography/mass spectrometry to the study of humic substances: evidence of aliphatic biopolymers in sedimentary and terrestrial humic acids, *The Science of the Total Environment* 1992, 117/118, 13-25.
- [8] Engebretson R.R., von Wandruszka R., Microorganisms in dissolved humic acids, *Environ. Sci. Technol.* 1994, 28(11), 1934-1941.
- [9] Senesi N., Molecular and quantitative aspects of chemistry of fulvic acids and its interactions with metal ions and organic chemicals Part 2, The fluorescence spectroscopy approach, *Anal. Chim. Acta* 1990, 232, 77-106.
- [10] Amano H., Watanabe M., Onuma Y., Ueno T., Matsunaga T., Kuchma N.D., Speciation of Cs, Sr and transuranic elements in natural organic substances of surface soil layers, *Proc. The role of humic substances in the ecosystems and in environmental protection*, PTSH - Polish Society of Humic Substances, Wrocław 1997, 709-71.
- [11] Lassen P., Carlsen L., Interactions between humic substances and polycyclic aromatic hydrocarbons, *Proc. The role of humic substances in the ecosystems and in environmental protection*, PTSH - Polish Society of Humic Substances, Wrocław 1997, 703-708.
- [12] Kwiatkowska J., Ocena możliwości wykorzystania węgla brunatnego jako efektywnego źródła materii organicznej w gruntach przekształconych antropogenicznie, *Inżynieria i Ochrona Środowiska* 2007, 10(1), 71-85.
- [13] Gonet S.S., Problemy ochrony zasobów materii organicznej gleb - uwarunkowania i rekomendacje, [w:] *Metody badań substancji humusowych ekosystemów wodnych i lądowych*, red. D. Gołębiowska, Wyd. AR w Szczecinie, Szczecin 2004, 7-14.
- [14] Cavani L., Ciavatta C., Gessa C., Identification of organic matter from peat, Leonardite and lignite fertilizers using humification parameters and electrofocusing, *Bioresource Technology* 2003, 86, 45-52.
- [15] Kalembsa D., Charakterystyka wermikompostów i ich przemiany w utworach piaszczystych, *Rozprawy* 59, Wyd. AP, Siedlce 2000.
- [16] Kalembsa S., Tengler S., Rola węgla brunatnego w nawożeniu i ochronie środowiska, *Monografie nr 52*, Wyd. AP, Siedlce 2004, 136.
- [17] Lekan S., Wpływ dużych dawek torfu i miału węgla brunatnego na właściwości gleb piaskowych i plonowanie roślin, *R (259)*, IUNG, Puławy 1989.
- [18] Maciejewska A., Kwiatkowska J., Wpływ nawozu otrzymanego z węgla brunatnego na właściwości fizykochemiczne gleby, *Zesz. Probl. Post. Nauk Roln.* 1998, 455, 9-16.
- [19] Maciejewska A., Kwiatkowska J., Using of brown coal to enriching content of organic matter in soil, *Third International Congress of the European Society for Soil Conservation*, Valencia, Spain, 2000, 248.

- [20] Maciejewska A., Kwiatkowska J., Niektóre właściwości chemiczne gleby oraz jej zdolności buforowe po zastosowaniu nawozu organiczno-mineralnego z węgla brunatnego, *Zesz. Probl. Post. Nauk Roln.* 2002, 482, 351-357.
- [21] Maciejewska A., Kwiatkowska J., Properties of brown coal and its usability for improvement of soil structure, *Humic Substances in Ecosystems* 2005, 6, 115-117.
- [22] Twarczyński C., Wpływ nawożenia odpadami węgla brunatnego na właściwości fizyczne, fizykochemiczne i chemiczne gleby, *Zesz. Nauk. AR w Szczecinie* 2000, 211(84), 499-503.
- [23] Dziadowiec H., Gonet S.S., *Przewodnik metodyczny do badań materii organicznej gleb*, PTG, Warszawa 1999.
- [24] Gołębiowska D., Milczarek I., Puzyna W., Szczodrowska B., Zastosowanie fluorescencji do badania zmian zachodzących w substancjach humusowych gleb uprawnych żyta, *Zesz. Nauk. AR w Szczecinie* 1988, 134, 71-82.
- [25] Sierra M.M.D., Giovanela M., Parlante E., Soriano-sierra E.J., Fluorescence fingerprint of fulvic and humic acids from varied origins as viewed by single-scan and excitation/emission matrix techniques, *Chemosphere* 2005, 58, 715-733.
- [26] Baker A., Fluorescence properties of some farm wastes: implications for water quality monitoring, *Water Research* 2002, 36, 189-195.
- [27] Matthews B.J.H., Jones A.C., Theodorou N.K., Tudhope A.W., Excitation-emission-matrix fluorescence spectroscopy applied to humic acid bands in coral reefs, *Mar. Chem.* 1996, 55, 317-332.
- [28] Miano T.M., Senesi N., Synchronous excitation fluorescence spectroscopy applied to soil humic substances chemistry, *Sci. Total Environ.* 1992, 118, 41-51.
- [29] McKnight D.M., Boyer E.W., Westerhoff P.K., Doran P.T., Kulbe T., Anderson D.T., Spectrofluorometric characterization of dissolved organic matter for indication of precursor organic material and aromaticity, *Limnol. Oceanography* 2001, 46, 38-48.
- [30] Paullin M.J., Cabaniss S.E., Rank analysis of the pH-dependent synchronous fluorescence spectra of six standard humic substances, *Environ. Sci. Technol.* 1995, 29, 1460-1467.
- [31] Rivero C., Senesi N., Paolini J., D'Orazio V., Characteristics of humic acids of some Venezuelan soils, *Geoderma* 1998, 81, 227-239.
- [32] Senesi N., Miano T.M., Provenzano M.R., Brunetti G., Spectroscopic and Comparative Characterisation of I.H.S.S., Reference and Standard Fulvic and Humic Acids of Various Origin. *Science of the Total Environment* STENDL 1989, 81/82, 143-156.
- [33] Antunes M.C.G., da Silva J.C.G.E., Multivariate curve resolution analysis excitation-emission matrices of fluorescence of humic substances, *Analytica Chimica Acta* 2005, 546, 52-59.
- [34] Provenzano M.R., D'Orazio V., Jerzykiewicz M., Senesi N., Fluorescence behavior of Zn and Ni complexes of humic acids from different sources, *Chemosphere* 2004, 55, 885-892.
- [35] Plaza C., Brunetti G., Senesi N., Fluorescence characterization of metal ion-humic acid interactions in soils amended with composted municipal solid waste, *Anal. Bioanal. Chem.* 2006, 386, 2133-2140.
- [36] Cory R.M., McKnight D.M., Fluorescence spectroscopy reveals ubiquitous presence of oxidized and reduced quinones in dissolved organic matter, *Environ. Sci. Technol.* 2005, 39, 8142-8149.
- [37] Senesi N., Miano T.M., Provenzano M.R., Brunetti G., Characterization, differentiation, and classification of humic substances by fluorescence spectroscopy, *Soil Science* 1991, 152(4), 259-271.
- [38] Kwiatkowska J., Provenzano M.R., Senesi N., Long term effects of brown coal-based amendment on the properties of soil humic acids, *Geoderma* 2008, 148, 200-205.
- [39] Romero E., Plaza C., Senesi N., Nogales R., Polo A., Humic-like fractions in raw and distillery wastes, *Geoderma* 2007, 139, 397-406.

- [40] Bertoncini E.I., D'Orazio V., Senesi N., Mattiazzo M.E., Fluorescence analysis of humic and fulvic acids from two Brazilian oxisols as affected by biosolid amendment, *Anal. Bioanal. Chem.* 2005, 381, 1281-1288.
- [41] Coccozza C., D'Orazio V., Miano T.M., Shotyck W., Characterization of soil and aqueous phases of a peat bog profile using molecular fluorescence spectroscopy, ESR and FT-IR, and comparison with physical properties, *Org. Geochem.* 2003, 34, 49-60.
- [42] Moped J.J., Hemmingsen S.L., Autry J.L., McGown L.B., Fluorescence characterization of IHSS humic substances: Total luminescence spectra with absorbance correction, *Environ. Sci. Technol.* 1996, 30, 3061-3065.

Analysis of Humic Substances Structure in Soils after Brown Coal Application with Use of 3-D Fluorescence Spectroscopy

Soil is non-renewable and a very complex natural resource which performs many vital functions: food (99%) and other biomass production, storage, filtration and transformation of many substances including water, carbon, nitrogen. Soil as a top layer of the earth's crust is the first receiver of anthropogenic contaminants, and may or may not serve as a natural barrier to protect groundwater against contamination from the surface. One of the most important indicators of soil quality is soil organic matter (SOM), which is an important building block for the soil structure, formation of stable aggregates, and is able to improve the infiltration rates and the storage capacity of water. SOM presents a major pool carbon in the biosphere and can act both as a source and sink for carbon dioxide and other greenhouse gases. Agricultural intensification and cultivation in general results in a serious decrease in SOM as compared to that in the natural vegetation. Presently, the protection of SOM is one of the main tasks in EU, because SOM in addition to its soil fertilizing function can act in the elimination of the soil contamination and carbon sequestration. In this context, humic substances (especially humic and fulvic acids) and cohesive fractions (clay, silt, silt clay, etc.) present in soil are favourable components. It is because of their high sorption capacity with respect to many contaminants, including heavy metals, which may result in their immobilisation and, consequently protect groundwater against contamination. Anthropogenically transformed soils often do not contain humic substances (HS), thus their role as a natural barrier is decreased. Therefore, re-generation of HS through humification of organic matter from diverse sources added to soils, may be the way to re-build the protective character of soil barrier, and consequently to reduce environmental and/or health risks at areas under anthropoppression. Transformation processes of brown coal applied to soil were described to evaluate the use of this material as an effective source of organic matter and HS generation in degraded soils.

The goal of this study was to discuss fine brown coal - derived preparation as effective sources of organic matter (and humic substances) especially in soils that are anthropogenically transformed. The research concerned the analysis of properties of HS as well as formations of humic acids (HAs) in soils after addition brown coal. Soil materials used in the research was collected from the long term field experiments and microplots, as the source of organic matter the *Rekulter* that is based (85%) on brown coal (soft smudge type) obtained from the Konin Basin deposits preparation was used. For qualitative characteristic of SOM, particularly, in HAs, modern analytical technique such as fluorescence intensity (FI) for 3-D EEM spectra was used.

The lowest fluorescence intensity (FI) for 3-D EEM spectra were observed in the case of HAs extracted from rusty soil. The 20-years research results carried out on rusty soil (sandy) confirmed long-term effect of brown coal on soil properties as well as on organic matter that originated from this source.

Keywords: organic matter originated from brown coal, humic substances of soil, structure of humic acids, fluorescence spectroscopy