

Heavy metals concentrations in cultivated mushroom species

Koncentracije teških metala u kultiviranim vrstama gljiva

Ivan ŠIRIĆ¹ (✉), Valentino DRŽAIĆ¹, Bojana BOŽAC², Zvonimir MATIJEVIĆ³

¹ University of Zagreb, Faculty of Agriculture, Department of Animal Science and Technology, Svetošimunska cesta 25, 10000 Zagreb, Croatia

² Croatian Chamber of Economy, Rooseveltov trg 2, 10000 Zagreb, Croatia

³ Student - University of Zagreb, Faculty of Agriculture, Svetošimunska cesta 25, 10000 Zagreb, Croatia

✉ Corresponding author: isiric@agr.hr

ABSTRACT

The aim of this paper was to determine the concentration of heavy metals in three commercial mushroom species: *Agaricus bisporus* Imbach, *Pleurotus ostreatus* (Jacq. ex Fr.) P.Kumm. and *Lentinula edodes* (Berk.) Pegler in Croatia and calculate the estimation of toxic metals inputs and contribution to toxicological values. Twenty samples of each mushroom species were selected randomly. Heavy metal analysis were carried out on an optical emission spectrophotometer with inductively coupled plasma - ICP-OES. Mercury concentration was determined on the mercury analyzer AMA-254 by direct combustion of samples in a rich oxygen atmosphere. Statistical analysis of results was carried out using software package SAS V9. The highest average concentration of iron ($60.04 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$), zinc ($53.64 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$), copper ($7.06 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) and mercury ($2.27 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$) was determined in *Agaricus bisporus*. Significantly ($P < 0.05$) higher average lead concentration ($21.17 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$) and arsenic ($143.20 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$) was determined in *Pleurotus ostreatus* species, while significantly higher ($P < 0.05$) average cadmium concentration of $133.67 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ has been established in *Lentinula edodes*. The largest contribution to PTWI - temporary tolerable weekly input was determined for cadmium in the amount of 19.12% in *Lentinula edodes*. The stated value as well as the other established by this study does not represent a toxicological risk in case of a larger weekly consumption of the analyzed mushroom species.

Keywords: *Agaricus bisporus*, ICP-OES, *Lentinula edodes*, *Pleurotus ostreatus*, toxicological risk

SAŽETAK

Cilj ovoga rada bio je utvrditi koncentracije teških metala u tri komercijalne vrste gljiva: plemenita pečurka (*Agaricus bisporus*), bukovača (*Pleurotus ostreatus*) i shiitake (*Lentinula edodes*) uzgojene u Hrvatskoj te izračunati procjenu unosa toksičnih metala i doprinos u odnosu na toksikološke vrijednosti. Uzorkovanjem je obuhvaćeno 20 uzorka od svake vrste slučajnim odabirom. Analitički postupak za određivanje koncentracije teških metala je proveden na optičkom emisijskom spektrometru s induktivno spregnutom plazmom - ICP-OES, dok je koncentracija žive određivana na živinom analizatoru AMA-254, direktnim spaljivanjem uzoraka u atmosferi bogatoj kisikom. Statistička obrada rezultata je provedena primjenom softverskog paketa SAS V9. Najviša prosječna koncentracija željeza ($60,04 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$), cinka ($53,64 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$), bakra ($7,06 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) i žive ($2,27 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$) utvrđena je u vrsti *Agaricus bisporus*. Značajno najveća ($P < 0,05$) prosječna koncentracija olova ($21,17 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$) i arsena ($143,20 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$) utvrđena je u vrsti *Pleurotus ostreatus*, dok je značajno najveća ($P < 0,05$) prosječna koncentracija kadmija od $133,67 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ustanovljena u vrsti *Lentinula edodes*. Najveći doprinos prema PTWI - privremeni podnošljivi tjedni unos utvrđen je za kadmij u iznosu od 19,12% u vrsti *Lentinula edodes*. Navedena vrijednost kao i ostale utvrđene ovim istraživanjem ne predstavljaju toksikološki rizik u slučaju većeg tjednog konzumiranja analiziranih vrsta gljiva.

Ključne riječi: *Agaricus bisporus*, ICP-OES, *Lentinula edodes*, *Pleurotus ostreatus*, toksikološki rizik

DETAILED ABSTRACT

Edible mushrooms can be saprotrophs, symbiontes and parasites of different plants. All of them need organic matter to grow (heterotrophic organisms) but the most commonly used for controlled production are the saprotrophs. *Agaricus bisporus*, *Pleurotus ostreatus* and *Lentinula edodes* species are the most widely cultivated mushrooms in commercial production. These mushrooms secrete enzymes to digest surrounding foodstuffs and obtain their nourishment from organic matter. The growth compost, that can be a mixture of hay, straw, corn cobs, water cotton seed meal or nitrogen supplements or even wood logs, can influence the chemical composition and, as a consequence, the nutritional value of the cultivated mushrooms. In Croatia, mushroom consumption is still small since people know little about the nutritional and medicinal benefits of mushrooms. However, consumption is growing due to refined flavor, nutritional and medicinal values. Mushrooms are excellent nutritional sources since they provide proteins, fibers, vitamins and minerals, such as K, P, Fe, Zn and Cu. Iron, zinc and copper are elements essential for the growth and development of a living organism. On the other hand, mineral composition of these mushrooms may also contain some toxic elements, like arsenic, cadmium, lead or mercury. Arsenic, cadmium, lead and mercury are known as a toxic element as well, since it can occur as an inhibitor in many life processes. Consequently, the aim of this paper was to determine the concentration of heavy metals in three commercial species of mushrooms: *Agaricus bisporus*, *Pleurotus ostreatus* and *Lentinula edodes* in Croatia and calculate the estimation of toxic metal inputs and contribution to toxicological values. Twenty samples of each mushroom species were selected randomly. Heavy metal analysis were carried out on an optical emission spectrophotometer with inductively coupled plasma - ICP-OES, while the mercury concentration was determined on the mercury analyzer AMA- 254 by direct combustion of samples in a rich oxygen atmosphere. Statistical analysis of results was carried out using the software package SAS V9. The highest average concentration of iron ($60.04 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$), zinc ($53.64 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$), copper ($7.06 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) and mercury ($2.27 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$) was determined in *Agaricus bisporus*. Significantly ($P < 0.05$) higher average lead concentration ($21.17 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$) and arsenic ($143.20 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$) was determined in *Pleurotus ostreatus* species, while significantly higher ($P < 0.05$) average cadmium concentration of $133.67 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ established in *Lentinula edodes*. The largest contribution to PTWI - temporary tolerable weekly input was determined for cadmium in the amount of 19.12% in *Lentinula edodes*. The lowest contribution to PTWI - temporary tolerable weekly input was determined for mercury and lead in the amount $< 1\%$ in analysed mushroom species. The determined concentrations of toxic metals in the analyzed mushroom species are generally lower than those of the literature. Consumption of analyzed mushroom species can be considered safe from a toxicological point of view because the determined concentrations of toxic metals As, Cd, Pb and Hg are below the maximum levels recommended by the World Health Organization. These data are important in view of toxicology, food chemistry and environmental protection.

UVOD

Gljive su namirnice koje nisu tipični biljni niti životinjski predstavnici već pripadaju zasebnoj mikrobiološkoj skupini organizama značajne ekološke, ljekovite i nutritivne vrijednosti. Brojne vrste jestivih gljiva se dugi niz godina koriste u svakodnevnoj prehrani i pripremaju se na razne načine. U skupini kultiviranih najčešće uzgajanih i konzumiranih vrsta gljiva svrstavaju se plemenita pečurka - *Agaricus bisporus*, bukovača - *Pleurotus ostreatus* i shiitake - *Lentinula edodes*. Navedene vrste imaju posebnu teksturu i okus te imaju dobra kemijska, nutritivna i ljekovita svojstva (Mattila i sur., 2001., Dogan i sur., 2006., Glamočija i sur., 2015.). Prirodan su izvor bjelančevina (20-30% suhe tvari), esencijalnih

aminokiselina, dijetalnih vlakana, različitih makro i mikro elemenata (uglavnom kalij, fosfor, magnezij, kalcij, bakar, željezo i cink) te imaju mali sadržaj masnoća i kolesterola (Ghorai i sur., 2009., Kalač, 2009.). Također, prirodan su izvor vitamina s visokom razinom vitamina B skupine i vitamina C, D i E te su jedini prirodni izvor vitamina D ne životinjskog podrijetla (Valverde i sur., 2015.). Najveći postotak u sastavu gljiva čini voda (85 - 95%), dok su u preostaloj suhoj tvari sadržani proteini do 50%, ugljikohidrati i vrlo mala količina masti. Povećani interes za konzumacijom gljiva odnosi se na njihov okus, teksturu, sadržaj makro i mikro elemenata te nisku kalorijsku vrijednost. Metali željezo, cink i bakar su esencijalni elementi i imaju važnu ulogu u regulaciji imunološkog

sustava (Ünak i sur., 2007). Prema navodima Dogan i sur. (2006.) koncentracija cinka u plodnim tijelima jestivih gljiva znatno je veća u odnosu na koncentracije utvrđene u voću, povrću i žitaricama, a preporučena dnevna vrijednost cinka za odrase iznosi 15 mg (USDA, 2018.). S druge strane, zastupljenost štetnih supstanci u okolišu, a osobito toksičnih teških metala (olova, kadmija, arsena i žive) i raznih kancerogenih spojeva, postao je neizostavni problem današnjice. Jedan od prvih koraka rješavanja navedenog problema je praćenje prisustva i koncentracije toksičnih metala i metaloida koji nerijetko završavaju u hrani koju konzumiramo u ovom slučaju u gljivama. Dosadašnja istraživanja ukazuju na visoku osjetljivost samoniklih saprotrofnih i ektomikoriznih vrsta gljiva na onečišćenje supstrata i vode teškim metalima. Poznato je da samonikle gljive mogu akumulirati visoke koncentracije toksičnih teških metala, metaloida i radionuklida (Vetter, 2004., Kalač, 2010., Campos i Tejera, 2011., Širić i sur., 2016a., 2017., Tucaković i sur., 2018.). Sadržaj toksičnih teških metala u brojnim samoniklim gljivama znatno je veći (Kalač, 2010) u odnosu na sadržaj teških metala u kultiviranim vrstama gljiva (Vetter, 2003., Mirończuk-Chodakowska i sur., 2013., Bilandžić i sur., 2016.). Iako se akumulacija toksičnih elemenata u samoniklim vrsta gljiva ne može kontrolirati, u uzgoju gljiva postoje standardi kontrole koji osiguravaju sigurnost potrošača, a to su redovita kontrola koncentracija toksičnih metala u plodištima gljiva. Međutim, studije o akumulaciji teških metala i toksičnih elemenata u kultiviranim vrstama gljiva jako su skromne. Navedene vrste gljiva koje su predmet ovoga istraživanja uspješno akumuliraju esencijalne elemente cink i bakar (Vetter, 2003., Vetter i sur., 2005.), ali mogu akumulirati i toksične elemente arsen, olovo, kadmij i živu (Mirończuk-Chodakowska i sur., 2013., Bilandžić i sur., 2016.). Konzumacija istraživanih vrsta gljiva u stalnom je porastu, a spoznaje o sadržaju teških metala u kultiviranim vrstama gljiva su jako skromne. Na temelju dosadašnjih istraživanja, može se pretpostaviti da će analizirane vrste gljiva sadržavati od 85 do 95% vlage u svojim plodnim tijelima, da će koncentracija istraživanih elemenata različita između analiziranih vrsta gljiva te da dnevna, odnosno tjedna konzumacija analiziranih

vrsta gljiva neće imati negativne posljedice s obzirom na utvrđene koncentracije toksičnih teških metala u istima. Stoga, cilj je ovoga istraživanja utvrditi sadržaj vlage i koncentracije teških metala željeza (Fe), cinka (Zn), bakra (Cu), arsena (As), olova (Pb), kadmija (Cd) i žive (Hg) u tri kultivirane vrste gljiva. Na temelju utvrđenih koncentracija teških metala biti će izračunat dnevni odnosno tjedni unos (EDI, EWI) metala za analizirane vrste gljiva te utvrđen njihov doprinos propisanoj vrijednosti (PTWI – vrijednost privremenog podnošljivog tjednog unosa).

MATERIJALI I METODE

Predmetno istraživanje provedeno je na području zagrebačke regije gdje su izvorno uzgojene gljive. Uzorci plemenite pečurke – *Agaricus bisporus*, bukovače – *Pleurotus ostreatus* i shi-take – *Lentinula edodes* prikupljeni su slučajnim odabirom u opskrbnim lancima grada Zagreba. Prikupljeno je dvadeset uzoraka svake vrste od istog uzgajivača. Uzorci navedenih vrsta pažljivo su očišćeni, isprani destiliranom vodom, zatim osušeni na 50 °C tijekom 48 sati do konstantne težine. Nakon sušenja uzorci su homogenizirani i pohranjeni do analize teških metala. Sadržaj vlage utvrđen je za svaki uzorak, a prikazan je u postotcima.

Laboratorijsko posuđe korišteno u pripremi uzoraka za određivanje mineralnih tvari i elemenata u tragovima namakano je 24 h u otopini etilendiamintetraoctene kiseline (EDTA; Kemika, Hrvatska) koncentracije 5% (w/v) i nakon toga 24 h u 10% (v/v) HNO₃ (Merck, Njemačka). Masa uzorka od 0,5 g razgrađena je s 5 mL HNO₃ (65%, Suprapur, Merck, Njemačka) u zatvorenim PTFE posudama u mikrovalnoj peći za razaranje (Milestone microwave laboratory system, MLS 1200 mega, SAD). Program razaranja sadržavao je nekoliko koraka: snaga razaranja od 100 W i trajanje 5 min, snaga od 0 W i trajanje 2 min, snaga od 250 W i trajanje 5 min, snaga od 400 W i trajanje 5 min, snaga od 600 W i trajanje 5 min. Nakon razaranja, uzorci su hlađeni u vodenoj kupelji te nakon toga odmjereni u tikvice od 25 mL, nakon čega su tikvice dopunjene destiliranom vodom. Iz odmjernih tikvica uzorci su prebačeni u epruvete od umjetne mase za mjerenje na optičkom emisijskom spektrometru

s induktivno spregnutom plazmom (eng. Inductively coupled plasma – optical emission spectrometry, ICP-OES, Optima 8000, Perkin Elmer, SAD) opremljenim s autosamplerom (automatski uređaj za uzorkovanje), na kojem su analizirani metali. Živa u uzorcima gljiva je mjerena bez razgrađivanja u kiselini koristeći AAS analizator žive (AMA-254, Advanced Mercury Analyser, Leco, Poland) koji koristi neposredno izgaranje uzorka u atmosferi bogatoj kisikom.

Izračun procjene dnevnog (EDI) i tjednog (EWI) unosa proveden je prema formulama:

$$\text{EDI } (\mu\text{g}/\text{kg}/\text{tjel.masa}/\text{dan}) = \text{koncentracija elemenata } (\mu\text{g}^*\text{kg}^{-1}) \times \text{količina obroka (kg)} / \text{težina odrasle osobe (70 kg)}$$

Tjedni unos (EWI) izražava se kao $\mu\text{g}/\text{tjedan}$, a izračunava se prema formuli:

$$\text{EWI } (\mu\text{g}/\text{kg}/\text{tjedan}) = \text{EDI} \times 7$$

Za izračun se koristi prosječna potrošnja gljiva od 100 g po porciji (Mirończuk-Chodakowska i sur., 2013.), te prosječna tjelesna težina od 70 kg po odrasloj osobi (EFSA, 2012.). Vrijednosti EDI/EWI korištene su za izračun doprinosa As, Cd, Hg i Pb u odnosu na toksikološke vrijednosti privremenog podnošljivog tjednog unosa (PTWI). Prihvatljivi tjedni unos teških metala prema FAO/WHO iznosi ($\text{mg}^*\text{kg}^{-1}$): As (0,015), Cd (0,007), Pb (0,25) i Hg (0,005). Dobiveni podaci statistički su obrađeni primjenom statističkog programa SAS (SAS Institute 2008). Za usporedbu prosječnih vrijednosti između procjena vrste korišten je LSD test kada je F test bio signifikantan na razini $P \leq 0,05$.

REZULTATI I RASPRAVA

U tablici 1. prikazan je postotak vlage te prosječne koncentracije analiziranih elemenata između istraživanih vrsta gljiva. Sadržaj vlage u tri vrste gljiva ustanovljen je u rasponu od 90,84 do 91,72%, gdje nije utvrđena statistički značajna razlika između analiziranih vrsta gljiva. Prosječna koncentracija analiziranih elemenata bila je značajno različita između analiziranih vrsta gljiva (Tablica 1). Značajno najveća ($P < 0,05$) koncentracija željeza ($60,04 \text{ mg}^*\text{kg}^{-1}$) utvrđena je u vrsti *A. bisporus*, dok ustanovljene

vrijednosti željeza između ostale dvije vrste nisu bile statistički značajno različite. Najveće prosječne vrijednosti cinka određene su u vrstama *A. bisporus* ($53,64 \text{ mg}^*\text{kg}^{-1}$) i *L. edodes* ($50,96 \text{ mg}^*\text{kg}^{-1}$), a bile su značajno veće ($P < 0,05$) u odnosu na koncentraciju cinka u vrsti *P. ostreatus*. Nadalje, vrsta *A. bisporus* imala je značajno najveću prosječnu koncentraciju bakra ($7,06 \text{ mg}^*\text{kg}^{-1}$). Najveće prosječne koncentracije žive ustanovljene su u vrstama *A. bisporus* ($2,27 \mu\text{g}^*\text{kg}^{-1}$) i *P. ostreatus* ($2,20 \mu\text{g}^*\text{kg}^{-1}$), a iste su bile značajno veće ($P < 0,05$) u odnosu na koncentraciju u vrsti *L. edodes* ($1,28 \mu\text{g}^*\text{kg}^{-1}$). Značajno najveća ($P < 0,05$) prosječna koncentracija olova i arsena utvrđena je u vrsti *P. ostreatus* (tablica 1), dok je značajno ($P < 0,05$) najveća prosječna vrijednost kadmija ustanovljena u vrsti *L. edodes* ($133,67 \mu\text{g}^*\text{kg}^{-1}$).

Table 1. Heavy metal concentrations in analyzed mushroom species ($\text{mg}^*\text{kg}^{-1}$)

Tablica 1. Koncentracija teških metala u analiziranim vrstama gljiva ($\text{mg}^*\text{kg}^{-1}$)

	<i>A. bisporus</i>	<i>L. edodes</i>	<i>P. ostreatus</i>
Moisture (%) Vlaga (%)	91,72 ± 9,33 ^a	91,00 ± 8,12 ^a	90,84 ± 6,85 ^a
Metals Metali	$\text{mg}^*\text{kg}^{-1}$		
Iron Željezo	60,04 ± 9,01 ^a	51,48 ± 6,51 ^b	52,9 ± 5,2 ^b
Zinc Cink	53,64 ± 2,69 ^a	50,96 ± 4,19 ^a	34,5 ± 3,03 ^b
Copper Bakar	7,06 ± 1,95 ^a	1,25 ± 0,66 ^b	1,28 ± 0,68 ^b
	$\mu\text{g}^*\text{kg}^{-1}$		
Arsenic Arsen	71,61 ± 21,89 ^a	49,49 ± 12,9 ^b	143,2 ± 26,47 ^c
Cadmium Kadmij	95,49 ± 31,45 ^a	133,67 ± 31,96 ^b	95,88 ± 13,65 ^a
Lead Olovo	10,72 ± 4,45 ^a	11,43 ± 2,88 ^a	21,17 ± 8,18 ^b
Mercury Živa	2,27 ± 0,44 ^a	1,28 ± 0,24 ^b	2,20 ± 0,37 ^a

Results are presented as least square means ± standard deviation. Rezultati su prikazani kao prosjeci sume najmanjih kvadrata ± standardna devijacija.

^{a,b,c} Values in the row marked with different letters are significantly different ($P < 0,05$).

^{a,b,c} Vrijednosti unutar reda označene različitim slovima značajno se razlikuju ($P < 0,05$).

U tablici 2. prikazane su vrijednosti procjene dnevnog i tjednog unosa metala te doprinos svakog elementa u odnosu na toksikološke vrijednosti privremenog podnošljivog tjednog unosa (PTWI). Koncentracije arsena ustanovljene u analiziranim vrstama gljiva doprinose PTWI vrijednosti (%): *A. bisporus* 4,78; *L. edodes* 3,28; *P. ostreatus* 9,55. Najveća vrijednost doprinosa prema PTWI za kadmij od 19,12% utvrđena je za vrstu *L. edodes*, dok je za *A. bisporus* i *P. ostreatus* izračunat podjednak doprinos od 13,64 i 13,71%. Doprinosi koncentracija žive prema PTWI vrijednostima u svim analiziranim vrstama gljiva su manji od 1%, pri čemu su vrijednosti u vrstama *A. bisporus* i *P. ostreatus* gotovo identične 0,46 i 0,44%, dok je vrijednost PTWI doprinosa za vrstu *L. edodes* znatno niža (0,26%). Doprinosi koncentracija olova prema PTWI vrijednostima također su manje od 1% za analizirane vrste gljiva. Najveća vrijednost za olovo utvrđena je za vrstu *P. ostreatus* (0,85%), dok su za vrste *A. bisporus* i *L. edodes* ustanovljene vrijednosti bile podjednake (tablica 2).

U provedenom istraživanju je utvrđena koncentracija teških metala u tri kultivirane vrste gljiva: plemenitoj pečurki - *Agaricus bisporus*, bukovači - *Pleurotus ostreatus* i shiitake - *Lentinula edodes* uzgojenima u Republici Hrvatskoj. Visoki postoci vlage utvrđeni u gljivama predmetnog istraživanja u skladu su s ranijim istraživanjima od 85 do 95 g na 100 g (Ghorai i sur., 2009., Kalač, 2009., Bilandžić i sur., 2016). Sadržaj esencijalnih metala (Fe, Zn i Cu) i toksičnih (As, Cd, Pb i Hg) bio je različit između analiziranih vrsta gljiva. Željezo je najzastupljeniji prijelazni metal, neophodan za rast i razvoj ljudskog organizma, jer je sastavni dio svih staničnih procesa (Andrews, 1998). Cink je također esencijalni metal koji akumuliran u povišenim koncentracijama može biti toksičan. Fiziološka uloga mu je vrlo opsežna i značajna, posebice u metabolizmu proteina te je iznimno važno utvrđivanje cinka u namirnicama namjenjenima za prehranu. Bakar je važan sastojak brojnih enzima neophodan za mnoge funkcije u organizmu (apsorpcija željeza, stvaranje

Table 2. Estimation of daily and weekly intake (EDI, EWI) metals for analyzed mushroom species and calculation of contribution in relation to toxicological values

Tablica 2. Procjena dnevnih i tjednih unosa (EDI, EWI) metala za analizirane vrste gljiva i izračun doprinosa u odnosu na toksikološke vrijednosti

Metals Metali	Spcies Vrsta	EDI (µg/day) EDI (µg/dan)	EWI (µg/week) EWI (µg/tjedan)	PTWI (%)
Arsenic Arsen	<i>A. bisporus</i>	0,102	0,716	4,78
	<i>L. edodes</i>	0,071	0,495	3,28
	<i>P. ostreatus</i>	0,205	1,432	9,55
Cadmium Kadmij	<i>A. bisporus</i>	0,136	0,955	13,64
	<i>L. edodes</i>	0,191	1,337	19,12
	<i>P. ostreatus</i>	0,137	0,959	13,71
Lead Olovo	<i>A. bisporus</i>	0,015	0,107	0,43
	<i>L. edodes</i>	0,016	0,114	0,47
	<i>P. ostreatus</i>	0,03	0,212	0,85
Mercury Živa	<i>A. bisporus</i>	0,003	0,023	0,46
	<i>L. edodes</i>	0,002	0,013	0,26
	<i>P. ostreatus</i>	0,003	0,022	0,44

hemoglobina i pigmenata.) Koncentracije navedenih esencijalnih metala utvrđene ovim istraživanjem su niže u odnosu na vrijednosti koje su utvrdili neki autori (Vetter, 2003., Vetter i sur., 2005., Romanjek Fajdetic i sur., 2019), dok je u usporedbi sa samoniklim vrstama gljiva navedena razlika još izraženija (Alonso i sur., 2003., Isildak i sur., 2004., Isildak i sur., 2007., Širić i sur., 2016b). Transfer željeza i cinka iz supstrata u gljivu primarno je vezan uz vrstu te uz dostupnost istih u supstartu gdje rastu (Thomet i sur., 1999). Poznato je da teški metali u visokim koncentracijama inhibiraju razvoj micelija, ali postoje i neki teški metali koji stimuliraju rast micelija kao što su Zn i Fe (Das, 2005). Istraživanja Dogana i sur. (2006) pokazala su da su koncentracije navedenih esencijalnih metala u plodnim tijelima gljiva znatno više od onih u biljkama (bilje, voće, povrće, usjevi), a što je potvrđeno rezultatima predmetnog istraživanja. Koncentracije toksičnih teških metala (As, Cd, Pb i Hg) ustanovljene ovim istraživanjem uspoređene su sa rezultatima istraživanja provedenim u drugim zemljama, ali i u Hrvatskoj. Arsen je jedan od najopasnijih anorganskih elemenata prvenstveno zbog svog kancerogenog djelovanja. Različite vrste gljiva mogu reagirati na različite načine za iste kemijske elemente sadržane u supstratu gdje rastu, a kao dobar primjer može biti arsen. Navedeno potvrđuju rezultati predmetnog istraživanja gdje su utvrđene koncentracije bile značajno ($P < 0,05$) različite između analiziranih vrsta gljiva. Prema navodima Maihara i sur. (2008) koncentracije arsena u kultiviranim vrstama gljiva *A.bisporus*, *P.ostreatus* i *L.edodes* bile su u rasponu između $0,009$ i $0,210 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, a što je sukladno rezultatima predmetnog istraživanja. Koncentracije kadmija u plemenitoj pečurki i bukovačama ustanovljene ovim istraživanjem slične su vrijednostima koje navode Vetter (2003.), Maihara i sur. (2008) te Mironczuk-Chodakovska i sur. (2013) za iste vrste analizirane na području Mađarske, Brazila i Poljske. Bilandžić i sur. (2016). prikazuju gotovo identične vrijednosti kadmija u šampinjonima i bukovači na području Hrvatske. Koncentracija kadmija utvrđena u gljivi shiitake znatno je veća u odnosu na iste gljive iz Poljske (Mironczuk-Chodakovska i sur., 2013), dok Mattila i sur. (2001) i Bilandžić i sur. (2016) navode znatno veće

vrijednosti kadmija u istoj gljivi u odnosu na predmetno istraživanje. Razlog viših koncentracija kadmija u vrsti *L.edodes* u odnosu na ostale analizirane vrste gljiva (tablica 1) prvenstveno se pripisuje vrijednosti pH supstrata (4-5) na kojem raste navedene vrsta, a pri čemu je topljivost kadmija izraženija, a samim time i njegova pristupačnost živim organizmima. Olovo je teški metal toksičan za biljke, životinje i ljude te ne postoje dokazi o njegovoj biološkoj ulozi u ljudskom organizmu. Povećanje industrijske proizvodnje dovelo je do širenja olova u okoliš preko zraka, tla i vode, a time se povećava njegova opasnost s gledišta zdravstvene zaštite ljudi. Utvrđene koncentracije olova u kultiviranim vrstama gljiva predmetnog istraživanja podjednake su rezultatima istraživanja Bilandžić i sur. (2016). Međutim, Mironczuk-Chodakovska i sur. (2013) navode znatno više koncentracije olova u istim vrstama gljiva na području Poljske, a posebice u bukovači ($1,20 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) i shiitake ($0,42 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$). Prema rezultatima istraživanja objavljenim do 2019. godine, sadržaj olova u samoniklim gljivama koje rastu na nezagađenom području bio je u rasponu od $0,5$ do $5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ovisno o vrsti gljive (Garcia i sur., 2009., Kalač, 2010., Petkovšek i Pokorny, 2013., Širić i sur., 2016a., Širić i sur., 2017). S obzirom na navedeno, razvidno je kako je koncentracija olova znatno veća u samoniklim u odnosu na kultivirane vrste gljiva, čime se konzumacija istih ne dovodi u vezu sa toksikološkim rizikom. Živa je jedan od najtoksičnijih i najopasnijih zagađivala okoliša. Specifične kemijske karakteristike žive uzrok su njezina vrlo kompleksnog biogeokemskog ciklusa u okolišu, a pojedine specije žive imaju vrlo visoku toksičnost za žive organizme. Koncentracije žive utvrđene u ovom istraživanju sukladne su rezultatima istraživanja Bilandžić i sur. (2016), a znatno su niže od vrijednosti koje navode Lasota i sur. (1990). Očekivano značajno veće koncentracije žive utvrđene su u samoniklim vrstama u rasponu od $0,5$ do $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ (Melgar i sur., 2009., Kalač, 2010., Širić i sur., 2016a., Širić i sur., 2017). Generalno, sadržaj teških metala znatno je niži u kultiviranim vrstama gljiva u odnosu na taksonomski vezane samonikle gljive. Navedeno potvrđuju rezultati istraživanja Strmiskova i sur. (1990), Haldimann i sur. (1995), Vetter, (2003), Vetter i sur. (2005), Bilandžić i sur. (2016) te rezultati

predmetnog istraživanja. Autori navedeno objašnjavaju niskim koncentracijama teških metala u supstratu te kratkim životnim vijekom uzgojenog micelija. Također, autori navode da je najviša koncentracija teških metala utvrđena u prvom valu berbe, a što je suprotno rezultatima istraživanja Romanjek Fajdetić i sur. (2019) za metale Fe i Zn. Pored koncentracije pojedinih teških metala u gljivama, Sanglimsuwan i sur. (1993) te Racz i sur. (1995) tvrde da je saprofitska vrsta *Agaricus bisporus* osjetljiva na povišene koncentracije žive u supstratu, dok se prinos vrste *Pleurotus ostreatus* nije mijenjao u uvjetima povišene koncentracije žive u supstratu. Nadalje, vrsta *Agaricus bisporus* usvaja metale iz podloge sljedećim redoslijedom: Hg > Zn > Cd > Pb, dok *Pleurotus ostreatus* redoslijedom: Cd > Hg > Zn (Lasota i sur., 1990). Izračunavanjem dnevnog odnosno tjednog unosa gljiva te usporedbom sa toksikološkim vrijednostima procijenjen je rizik toksičnih metala u gljivama. Prema utvrđenim vrijednostima vidljivo je da konzumacija analiziranih vrsta u većim količinama ne predstavlja opasnost za zdravlje obzirom na unos toksičnih metala arsena, kadmija, žive i olova. Navedeno potvrđuju Bilandžić i sur. (2016), iako autori navode vrstu shiitake kao potencijalni izvor većih koncentracija kadmija s obzirom na utvrđene vrijednosti te višestruko tjedno uzimanje navedene vrste može imati rizik za potrošače.

ZAKLJUČAK

Najveći akumulacijski potencijal prema esencijalnim elementima Fe, Zn i Cu ustanovljen je u vrsti *Agaricus bisporus*, dok je vrsta *Pleurotus ostreatus* akumulirala najveće koncentracije toksičnih metala Hg, Pb i As., a vrsta *Lentinula edodes* najveću koncentraciju kadmija. Utvrđene koncentracije toksičnih metala u analiziranim vrstama gljiva uglavnom su niže u odnosu na literaturne navode. Potrošnja analiziranih vrsta gljiva može se smatrati sigurnom s toksikološkog stajališta, jer su utvrđene koncentracije toksičnih metala As, Cd, Pb i Hg ispod maksimalnih razina koje preporučuje Svjetska zdravstvena organizacija. Potrebna su stalna praćenja i nadzor razina metala i metaloida u ljudskoj prehrani, jednako u namirnicama biljnog i životinjskog

porijekla, ali i u dodacima prehrani u ovom slučaju gljivam čija je dostupnost na tržištu i opća popularnost u stalnom porastu. Potrebne su visokostručne preporuke nutricionista i toksikologa temeljene na rezultatima znanstvenih istraživanja koje se redovito ugrađuju u preporuke međunarodnih agencija (EFSA, FAO/WHO, JECFA) te odgovarajuću nacionalnu zakonsku regulativu. Dobiveni rezultati su važni s obzirom na toksikologiju, kemiju i sigurnost hrane te zaštitu okoliša.

LITERATURA

- Alonso, J., Garcia, M.A., Pérez-López, M., Melgar, M.J. (2003) The concentrations and bioconcentration factors of copper and zinc in edible mushrooms. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 44, 180-188. DOI: [10.1007/s00244-002-2051-0](https://doi.org/10.1007/s00244-002-2051-0)
- Andrews, S.C. (1998) Iron storage in bacteria. *Advances in Microbial Physiology*, 40, 281-351.
- Bilandžić, N., Čalopek, B., Sedak, M., Solomon Kolanović, B., Božić, Đ., Varga, I., Đokić, M. (2016) Sadržaj teških metala u tri kultivirane vrste gljiva. *Veterinarska stanica*, 47 (5), 405-414.
- Campos, J.A., Tejera, N.A., (2011) Elements bioaccumulation in sporocarps of fungi collected from quartzite acidic soils. *Biological Trace Element Research*, 143, 540-554. DOI: [10.1007/s12011-010-8853-4](https://doi.org/10.1007/s12011-010-8853-4)
- Das, N. (2005) Heavy metals biosorption by mushrooms. *Natural Product Radiancance*, 4 (6), 454-459.
- Dogan, H.H., Sanda, A., Uyanoz, R., Ozturk, C., Cetin, U. (2006) Contents of metals in some wild mushrooms its impact in human health. *Biological Trace Element Research*, 110 (1), 79-94. DOI: <https://doi.org/10.1385/BTER:110:1:79>
- EFSA (2012) Guidance on selected default values to be used by the EFSA Scientific Committee, Scientific Panels and Units in the absence of actual measured data. *EFSA Journal* 10, 2579.
- Garcia, M.A., Alonso, J., Melgar, M.J. (2009) Lead in edible mushrooms. Levels and bioaccumulation factors. *Journal of Hazardous Materials*, 167, 777-783. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2009.01.058>
- Ghorai, S., Banik, S.P., Verma, D., Chowdhury, S., Mukherjee, S., Khawala, S. (2009) Fungal biotechnology in food and feed processing. *Food Research International*, 42, 577-587. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2009.02.019>
- Glamočija, J., Stojković, D., Nikolić, M., Čirić, A., Reis, F.S., Barros, L., Ferreira, I.C.F.R., Soković, M. (2015) A comparative study on edible *Agaricus* mushrooms as functional foods. *Food and Function*, 6, 1900-1910. DOI: [10.1039/c4fo01135j](https://doi.org/10.1039/c4fo01135j)
- Haldimann, M., Bajo, C., Haller, T., Venner, T., Zimmerli, B. (1995) Vorkommen von Arsen, Blei, Cadmium, Quecksilber und Selen in Zuchtpilzen. *Mitteilungen aus der Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und Hygiene*, 86, 463-484.
- Isildak, Ö., Turkecul, I., Elmastas, M., Tüzen, M. (2004) Analysis of heavy metals in some wild-grown edible mushrooms from the Middle Black Sea region. *Food Chemistry*, 86, 547-552. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2003.09.007>
- Isildak, Ö., Turkecul, I., Elmastas, M., Aboul-Enein, H.Y. (2007) Bioaccumulation of heavy metals in some wild-grown edible mushrooms. *Analytical Letters*, 40, 1099-1116. DOI: <https://doi.org/10.1080/00032710701297042>

- Kalač, P. (2009) Chemical Composition And Nutritive Value Of European Species Of Wild Growing Mushrooms: A Review. *Food Chemistry*, 113, 9-16. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.07.077>
- Kalač, P. (2010) Trace element contents in European species of wild growing edible mushrooms: review for the period 2000-2009. *Food Chemistry*, 122, 2-15. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.02.045>
- Lasota, W., Florczak, J., Karmanska, A. (1990) Effect of growing conditions on accumulation of some toxic substances in mushrooms. I. A study of absorption of Hg, Cd, Pb and Zn by *Agaricus bisporus* L. and *Pleurotus ostreatus* Jacq. *Fr. Kumm. Bromatologia i Chemia Toksykologiczna*, 23, 95-99.
- Maihara, V.A., Moura, P.L., Catharino, M.G., Castro, L.P., Figueira, R.C.L. (2008) Arsenic and cadmium content in edible mushrooms from São Paulo, Brazil determined by INAA and GF AAS. *Journal of Radioanalytical Nuclear Chemistry*, 278, 395-397. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10967-008-0807-3>
- Mattila, P., Könkö, K., Euro, M., Pihlava, J. M., Astola, J., Vahteristo, L., Piironen, V. (2001) Contents of vitamins, mineral elements, and some phenolic compounds in cultivated mushrooms. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49 (5), 2343-2348. DOI: <https://doi.org/10.1021/jf001525d>
- Melgar, M.J., Alonso, J., Garcia, M.Á. (2009) Mercury in edible mushrooms and soil. Bioconcentration factors and toxicological risk. *Science of the Total Environment*, 407, 5328-5334. DOI: [10.1016/j.scitotenv.2009.07.001](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2009.07.001)
- Mirończuk-Chodakowska, I., Socha, K., Witkowska, A.M., Zujko, M.E., Borawska, M.H. (2013) Cadmium and Lead in Wild Edible Mushrooms from the Eastern Region of Poland's 'Green Lungs'. *Polish Journal of Environmental Studeis*, 22, 1759-1765.
- Petrovšek, S.S., Pokorny, B. (2013) Lead and cadmium in mushrooms from the vicinity of two large emission sources in Slovenia. *Science of the Total Environment*, 443, 944-954. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2012.11.007>
- Racz, L., Papp, L., Prokai, B., Kovacs, Z. (1995) Trace element determination in cultivated mushrooms: an investigation of manganese, nickel, and cadmium intake in cultivated mushrooms using ICP atomic emission. *Microchemical Journal*, 54, 444-451.
- Romanjek Fajdetić, N., Popivić, B., Parađiković, N., Lončarić, Z., Japundžić Plenkić, B. (2019) Influence of two origin substrates to nutritive value of the common mushroom (*Agaricus bisporus* Imbach). *Poljoprivreda*, 25 (1), 12-18. DOI: <https://doi.org/10.18047/poljo.25.1.2>
- Sanglimsuwan, S., Yoshida, N., Morinaga, T., Murooka, Y. (1993) Resistance to and uptake of heavy metals in mushrooms. *Journal of Fermentation and Bioengineering*, 75, 112-114.
- SAS Institute (2008) SAS Version 9.1. SAS Institute Inc., Cary, NC.
- Strmiskova, G., Dubravicky, J., Banhegyiova, E. (1990) Mineral composition of oyster mushroom. *Potravinarske Vedy*, 8, 149-155.
- Širić, I., Humar, M., Kasap, A., Kos, I., Mioč, B., Pohleven, F. (2016a) Heavy metals bioaccumulation by wild edible saprophytic and ectomycorrhizal mushrooms. *Environmental Science and Pollution Research*, 23 (18), 18239-18252. DOI: [10.1007/s11356-016-7027-0](https://doi.org/10.1007/s11356-016-7027-0)
- Širić, I., Kos, I., Kasap, A., Petković, F.Z., Držaić, V. (2016b) Heavy metals bioaccumulation by edible saprophytic mushrooms. *Journal of central European agriculture*, 17 (3), 884-900. DOI: <https://doi.org/10.5513/JCEA01/17.3.1787>
- Širić, I., Kasap, A., Bedeković, D., Falandysz, J. (2017) Lead, cadmium and mercury contents and bioaccumulation potential of wild edible saprophytic and ectomycorrhizal mushrooms. *Journal of Environmental Science and Health, Part B*, 52 (3), 156-165. DOI: [10.1080/03601234.2017.1261538](https://doi.org/10.1080/03601234.2017.1261538)
- Thomet, U., Vogel, E., Krahenbuhl, U. (1999) The uptake of cadmium and zinc by mycelia and fruiting bodies of edible mushrooms. *European Food Research and Technology*, 209 (5), 317-324. DOI: <https://doi.org/10.1007/s002170050502>
- Tucaković, I., Barišić, D., Grahek, Ž., Kasap, A., Širić, I. (2018) 137Cs in mushrooms from Croatia sampled 15 to 30 years after Chernobyl. *Journal of environmental radioactivity*, 181, 147-151. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jenvrad.2017.11.004>
- Valverde, M.E., Hernández-Pérez, T., Paredes-López, O. (2015) Edible Mushrooms: Improving Human Health and Promoting Quality Life. *International Journal of Microbiology*, 1-14. DOI: <http://dx.doi.org/10.1155/2015/376387>
- Vetter, J. (2003) Chemical composition of fresh and conserved *Agaricus bisporus* mushroom. *European Food Research and Technology*, 217, 10-12. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00217-003-0707-2>
- Vetter, J. (2004) Arsenic content of some edible mushroom species. *European Food Research and Technology*, 219, 71-74. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00217-004-0905-6>
- Vetter, J., Hajdú, J., Györfi, J., Maszlavér, P. (2005) Mineral composition of the cultivated mushrooms *Agaricus bisporus*, *Pleurotus ostreatus* and *Lentinula edodes*. *Acta Alimentaria*, 34, 441-451. DOI: <https://doi.org/10.1556/AAlim.34.2005.4.11>
- Ünak, P., Yurt Lambrecht, F., Biber, F., Darcan, S. (2007) Iodine measurements by isotope dilution analysis in drinking water in Western Turkey. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, 273 (3), 649-651. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10967-007-0925-3>
- USDA, (2018) United States Department of Agriculture, National agricultural statistics service.