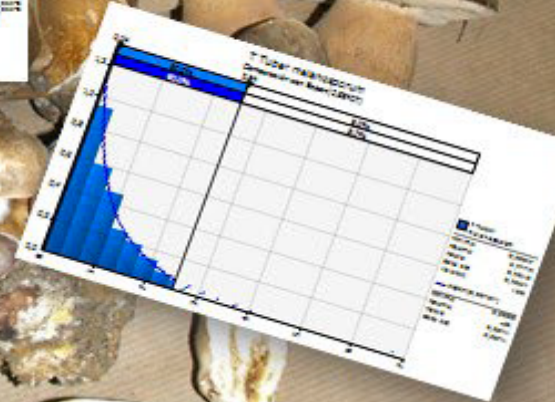
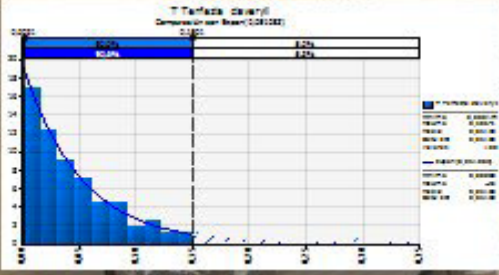
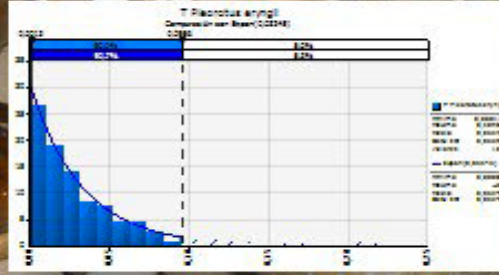
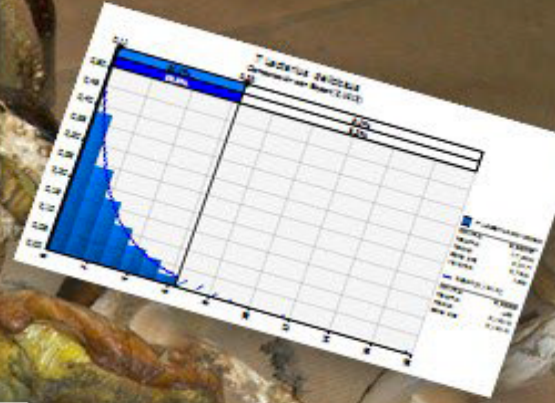
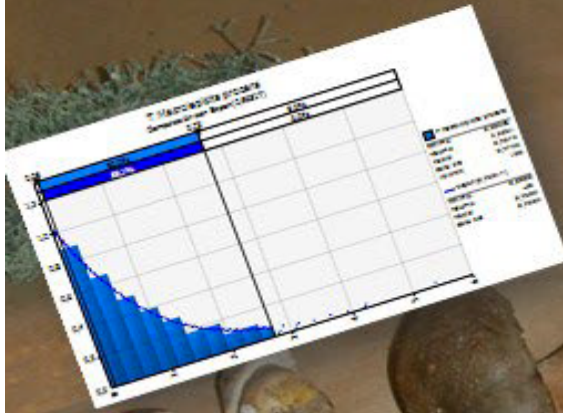
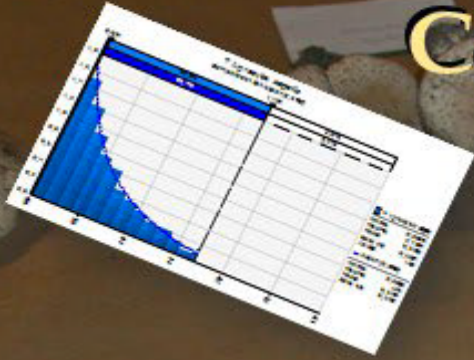


TESIS DOCTORAL

# EVALUACIÓN DE LA CONTRIBUCIÓN DEL CONSUMO DE SETAS SILVESTRES EN ANDALUCÍA, SOBRE EL RIEGO DE METALES PESADOS

**Carlos Ostos Ruiz**  
2022

Director:  
**Dr. Rafael Moreno Rojas**



Programa de doctorado de  
Biociencias y Ciencias Agroalimentarias.  
EIDA3 - Universidad de Córdoba



TITULO: *Evaluación de la contribución del consumo de setas silvestres en Andalucía, sobre el riego de metales pesados*

AUTOR: *Carlos Ostos Ruiz*

---

© Edita: UCOPress. 2022  
Campus de Rabanales  
Ctra. Nacional IV, Km. 396 A  
14071 Córdoba

<https://www.uco.es/ucopress/index.php/es/>  
[ucopress@uco.es](mailto:ucopress@uco.es)

---



UNIVERSIDAD DE CÓRDOBA  
FACULTAD DE VETERINARIA



UNIVERSIDAD DE CÓRDOBA

“EVALUACIÓN DE LA CONTRIBUCIÓN DEL CONSUMO DE SETAS SILVESTRES  
EN ANDALUCÍA, SOBRE EL RIEGO DE METALES PESADOS”

“EVALUATION OF THE CONTRIBUTION OF THE CONSUMPTION OF WILD  
MUSHROOMS IN ANDALUSIA, ON THE RISK OF HEAVY METALS”

Tesis presentada por el Ldo en Ciencia y Tecnología de los alimentos D. Carlos Ostos Ruiz  
para optar al Grado de Doctor en Biociencias y Ciencias agroalimentarias por la  
Universidad de Córdoba

Dirigida por: Dr. D. Rafael Moreno Rojas

Córdoba, 4 de febrero de 2022



## Agradecimientos

A mi director de tesis, *Dr. D. Rafael Moreno Rojas*, sin el cual este proyecto académico hubiera sido muy complicado haberlo llevado a cabo, gracias a su perseverancia, apoyo y motivación constantes el camino se ha hecho muy llevadero, cuando más se complicaba el asunto siempre tiraba una cuerda a la que poder agarrarme para no perder la magnífica oportunidad que me brindaba, y dar a conocer a la comunidad científica los resultados de tantas horas de trabajo que hemos dedicado, y lograr así dar un salto de calidad como el que se pretende con esta tesis. Ha sido un enorme orgullo haber podido aprender a su lado y haber crecido como profesional y como persona como así lo he hecho.

A todos los profesionales de la Universidad de Córdoba que han puesto su granito de arena y han colaborado siempre que lo he requerido para que esto saliera adelante.

A mi mujer, que nunca me dejó tirar la toalla, que pese a las dificultades siempre tenía una sabia palabra de aliento para mí. Cuando me embarqué en esta aventura éramos dos en casa, y ahora tenemos una estupenda familia con dos maravillosas niñas, Carla y Marta que hacen que todo el esfuerzo cobre sentido.

A mis padres, por haber sido un ejemplo de superación en la vida, y por haberme prestado su apoyo a lo largo de todos estos años para que lograra mis sueños.

A mi hermana pequeña, que ya no lo es tanto, y que siempre ha estado ayudándome para que todo saliera siempre bien, que me ha enseñado que no tenemos techo y que todo lo que nos propongamos, antes o después se acaba consiguiendo.

Y por último a todos mis amigos, por el tiempo robado, y porque después de tanto tiempo podremos brindar todos juntos.



# Informe del director de la Tesis



**TÍTULO DE LA TESIS:** Evaluación de la contribución del consumo de setas silvestres en Andalucía, sobre el riego de metales pesados

**DOCTORANDO:** D. Carlos Ostos Ruiz

## INFORME RAZONADO DEL/DE LOS DIRECTOR/ES DE LA TESIS

(Se hará mención a la evolución y desarrollo de la tesis, así como a trabajos y publicaciones derivados de la misma).

El doctorando ha desarrollado su tesis doctoral bajo mi supervisión directa, desarrollando y aplicando herramientas para determinar el consumo de setas silvestres entre recolectores para estimar el aporte a la ingesta de mercurio, así como las concentraciones habituales de mercurio en setas silvestres.

Debido a que ha estado simultaneando la tesis con su actividad laboral, se ha dilatado mucho el periodo de investigación y la publicación de resultados.

La tesis ha dado lugar a las siguientes publicaciones en forma de artículo científico publicado en revista indexada en JCR:

- Ostos C, Pérez-Rodríguez F, Arroyo BM, Moreno-Rojas R. (2015). Study of mercury content in wild edible mushrooms and its contribution to the Provisional Tolerable Weekly in Spain. *Journal of Food Composition and Analysis*. 37 136-142
- Ostos C., Moreno-Rojas R., Ferrer-Bas, S., Arroyo BM, Alicia Moreno-Ortega & Fernando Cámara-Martos (2019). Wild mushroom consumption by pickers in the south of Spain: a probabilistic approach *Food Additives & Contaminants: Part A*, 36:2, 195-202

Por todo ello, se autoriza la presentación de la tesis doctoral.

Córdoba, 4 de febrero de 2022

Firma del director

Firmado digitalmente por  
MORENO ROJAS  
RAFAEL - 28466746Z  
Fecha: 2022.02.04  
20:24:35 +01'00'

Fdo.: Rafael Moreno Rojas

Hg

3





## Contenido

<b>Agradecimientos</b> .....	<b>1</b>
<b>Informe del director de la Tesis</b> .....	<b>3</b>
<b>Resumen</b> .....	<b>9</b>
<b>Abstract</b> .....	<b>10</b>
<b>Introducción</b> .....	<b>15</b>
Presencia del Mercurio en la naturaleza – Fuentes de contaminación .....	16
Efectos biológicos y toxicidad del Hg .....	16
Tóxicocinética .....	18
Toxicidad .....	19
Mercurio en los alimentos .....	20
<b>Objetivos</b> .....	<b>31</b>
<b>Estudio 1 / Study 1</b> .....	<b>35</b>
Abstract .....	35
1. Introduction .....	35
2. Materials and methods .....	36
3. Results and discussion .....	40
4. Conclusions .....	45
5. Acknowledgements .....	46
6. References .....	46
<b>Estudio 2 / Study 2</b> .....	<b>49</b>
Abstract .....	49
1. Introduction .....	49
2. Materials and methods .....	51
3. Results .....	53
4. Discussion .....	57
5. Conclusions .....	57
6. References .....	58
<b>Discusión</b> .....	<b>63</b>
<b>Conclusiones</b> .....	<b>69</b>
<b>Bibliografía no incluida en los artículos</b> .....	<b>73</b>



80

Hg

Capítulo I

Chapter I

Resumen / Abstract



## Resumen

La recolección de setas silvestres comestibles es una actividad de gran relevancia en Andalucía, con un colectivo importante de personas dedicadas a su recolección que además son consumidores habituales. Los estudios publicados evidencian el crecimiento notable que el consumo de setas ha experimentado durante los últimos años tanto por su valor nutricional y bajo aporte calórico, como por sus múltiples beneficios para la salud y su uso como agentes bioactivos en el tratamiento de enfermedades. Si bien, no todo son beneficios, ya que son muchos los que han destacado la capacidad de las setas para fijar metales pesados, algunos de los cuales resultan tóxicos a pequeñas dosis. Además, no se dispone de datos sobre el consumo habitual de las setas más comunes en nuestra comunidad por parte de los recolectores, siendo esta información fundamental para poder realizar una correcta valoración toxicológica.

En nuestro caso nos hemos centrado en el estudio del mercurio y el riesgo asociado por la ingesta de setas silvestres en Andalucía.

Tras realizar un análisis bibliométrico profundo sobre la composición de mercurio en diferentes especies micológicas, para nuestro primer estudio seleccionamos 10 especies de las que se encuentran más habitualmente en nuestra región para determinar su concentración en mercurio. Correspondió a *Boletus aereus* el nivel más alto de mercurio con  $10,28 \pm 2,92$  mg / kg DW (peso seco). Basándonos en los datos disponibles sobre consumo de setas en general en España (0,011 kg / persona / semana), se calculó el % PTWI que oscilaba entre el 0,06 y el 3,5%, y cuando se asumió un mayor consumo (0,100 kg / persona / semana), éste osciló entre 0,58 y 31%. Estos resultados sugieren que la contribución de las setas silvestres a la dieta de los recolectores en cuanto al Hg puede ser elevada en función de sus hábitos de consumo.

Ante la falta de datos reales sobre el consumo de setas silvestres habituales en nuestra región, planteamos nuestro segundo estudio, donde se realizó una encuesta a 300 consumidores habituales y recolectores, dentro de las sociedades micológicas repartidas por Andalucía, de las ocho especies de hongos silvestres con mayor frecuencia consumidas en la región. El consumo medio per cápita de setas obtenido fue de 10,4 kg / año, 8,6 kg de los cuales se consumen durante la temporada, que dura entre 1 y 3 meses. Esto demuestra la existencia de una diferencia considerable en el consumo de setas silvestres por el colectivo de recolectores de setas de Andalucía, y su entorno más cercano respecto de la población en general.

El consumo de cada hongo estudiado y la ingesta total fueron ajustado / ajustado a distribuciones exponenciales. Estas distribuciones podrían ser una herramienta eficaz para la toxicología o estudios nutricionales ya que permiten la evaluación de la exposición que permite calcular el análisis de riesgo probabilístico y la contribución a la ingesta dietética de referencia, respectivamente, para este grupo de población.

Basándonos en los datos de concentración y consumo obtenidos en el desarrollo de la presente tesis, podemos concluir que existen determinadas especies de setas silvestres en Andalucía con una importante contribución de Hg a la dieta de los recolectores de setas y su entorno, sobrepasando la admisión semanal tolerable y su consecuente riesgo para la salud.

## Abstract

The collection of edible wild mushrooms is an activity of great relevance in Andalusia, with an important group of people dedicated to their collection who are also regular consumers. Published studies show the remarkable growth that the consumption of mushrooms has experienced in recent years both for its nutritional value and low caloric intake, as well as for its multiple health benefits and its use as bioactive agents in the treatment of diseases. Although, not all are benefits, since there are many who have highlighted the ability of mushrooms to fix heavy metals, some of which are toxic in small doses. In addition, there is no data on the habitual consumption of the most common mushrooms in our community by collectors, this information being essential for a correct toxicological assessment.

In our case we have focused on the study of mercury and the risk associated with eating wild mushrooms in Andalusia.

After conducting a thorough bibliometric analysis on the composition of mercury in different mycological species, for our first study we selected 10 species of those most commonly found in our region to determine their mercury concentration. *Boletus aereus* had the highest level of mercury with  $10.28 \pm 2.92$  mg / kg DW (dry weight). Based on the data available on consumption of mushrooms in general in Spain (0.011 kg / person / week), the % PTWI was calculated, which ranged between 0.06 and 3.5%, and when a higher consumption was assumed (0.100 kg / person / week), this ranged between 0.58 and 31%. These results suggest that the contribution of wild mushrooms to the diet of collectors in terms of Hg may be high depending on their consumption habits.

Given the lack of real data on the consumption of common wild mushrooms in our region, we proposed our second study, where a survey was carried out of 300 habitual consumers and collectors, within the mycological societies spread throughout Andalusia, of the eight species of wild mushrooms most frequently consumed in the region. The average per capita consumption of mushrooms obtained was 10.4 kg / year, 8.6 kg of which are consumed during the season, which lasts between 1 and 3 months. This shows the existence of a considerable difference in the consumption of wild mushrooms by the collective of mushroom pickers of Andalusia, and their closest environment with respect to the general population.

The consumption of each mushroom studied and the total intake were adjusted / adjusted to exponential distributions. These distributions could be an effective tool for toxicology or nutritional studies since they allow the evaluation of the exposure that allows calculating the probabilistic risk analysis and the contribution to the reference dietary intake, respectively, for this population group.

Based on the concentration and consumption data obtained in the development of this thesis, we can conclude that there are certain species of wild mushrooms in Andalusia with an important contribution of Hg to the diet of mushroom pickers and their environment, exceeding the weekly admission tolerable and its consequent health risk.







80

Hg

Capítulo II  
Chapter II

Introducción / Introduction

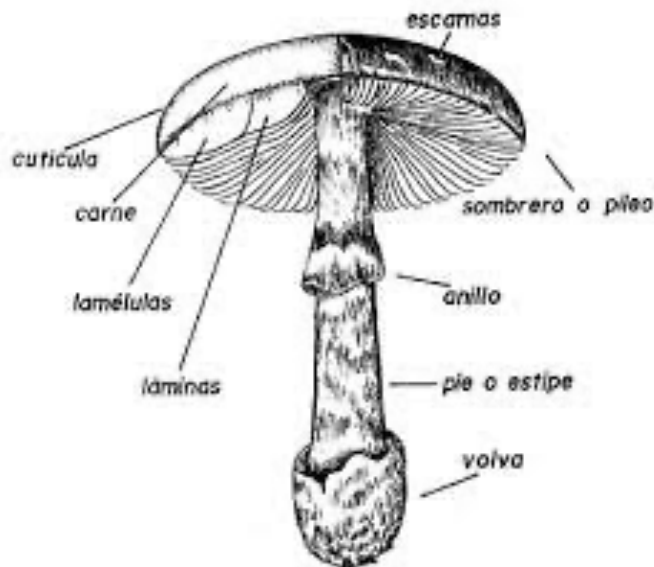


## Introducción

Habitualmente se tiende a pensar que los hongos forman parte del Reino Vegetal, pero son muchos los caracteres que los separan de las plantas, ya que ni son capaces de hacer la fotosíntesis, ni tampoco presentan celulosa en sus paredes, si bien la presencia de quitina los acercaría al Reino Animal, pero tampoco podríamos englobarlos en él por sus grandes diferencias, de ahí que formen un reino propio, conocido como Reino Fungi.

El número de especies de hongos diferentes en el mundo se estima que puede superar las 100.000, y cada día se siguen descubriendo nuevos especímenes. La región natural de Andalucía, debido a sus condiciones climáticas tan diversas genera una amplia variedad de ecosistemas y, por ende, una gran biodiversidad. La Junta de Andalucía publicó en el año 2004 el “*Inventario Micológico Básico de Andalucía*” (IMBA) donde se describían más de 2500 especies diferentes ubicadas en nuestra región, algunas de las cuales, que se encuentran en grandes cantidades, llegan a ser comercializadas tras su recolección, como ocurre con *Amanita caesarea* (tana), *Boletus edulis* o *Lactarius deliciosus* (níscolo), una actividad de gran importancia para algunos pueblos de Sierra Morena durante los meses del otoño (**Moreno et al., 1996**).

Los hongos son organismos complejos, formados habitualmente por un cuerpo vegetativo filamentoso enmarañado denominado “*micelio*”, que vive enterrado bajo tierra, y una parte aérea denominada “*cuerpo fructífero*” o seta propiamente dicha, en la cual se encuentran las esporas, que serían como las semillas de las setas, que contienen la información genética del hongo, se dispersan a miles de kilómetros, y cuando las condiciones climáticas son las adecuadas, se reproduce sexualmente y forma el cuerpo fructífero.



En función de la forma en que se nutre el micelio clasificamos a los hongos en tres grupos: simbioses, saprófitos y parásitos. Dentro de los *simbioses* podemos encontrar a *Lactarius deliciosus* o a *Pleurotus eryngii*; en los *saprófitos* tenemos el caso de *Ganoderma lucidum*; y como hongo *parásito* bien conocido a *Armillaria mellea*.

La recolección de setas silvestres comestibles es una actividad de gran relevancia en

Andalucía, con un colectivo importante de personas dedicadas a su recolección que, además, son consumidores habituales. No es una práctica recomendable para aquellos que no sean capaces de reconocer los hongos comestibles de los venenosos, ya que algunos pueden llegar a ser mortales (*Schmutz et al. 2018*).

El consumo de setas silvestres ha experimentado un notable crecimiento durante los últimos años, tanto por su valor nutricional y bajo aporte calórico (*Kozarski et al., 2015*), como por sus múltiples beneficios para la salud y su uso como agentes bioactivos en el tratamiento de enfermedades (*Guillamón et al., 2010; Jayachandran et al., 2017*). Pero no todo son beneficios, ya que son muchos los estudios que han destacado la capacidad de las setas para fijar metales pesados, algunos de los cuales resultan tóxicos a pequeñas dosis (*Campos et al. 2009; Kalac, 2010; Strapáč y Baranová, 2016; Širić et al., 2017*).

## Presencia del Mercurio en la naturaleza – Fuentes de contaminación

El Hg, como elemento químico que es, está presente en el medio ambiente y en los alimentos que consumimos, formando parte de decenas de minerales (*Watson, 1993*). La forma habitual en que podemos encontrarlo en la naturaleza es como sulfuro de Hg (II), conocido como sulfuro rojo, sin embargo, su incorporación a la cadena alimenticia se produce como Hg metálico, muy volátil, que posteriormente se acaba transformando en la especie soluble de Hg<sup>2+</sup>.

Podemos englobar las fuentes de contaminación por mercurio en dos: contaminación natural y contaminación antropogénica. Por un lado, se desprende de forma natural en terremotos y la por actividad volcánica; y por otro, tenemos la acción antropogénica del hombre en el uso de combustibles fósiles y en la extracción de Hg en forma de sulfuros, iniciando su ciclo biogeoquímico desde la corteza terrestre hasta el hombre. Los principales usos industriales del Hg extraído son los siguientes: 30% como electrodos en industrias de álcalis, 24% en equipamiento eléctrico; 18% en pinturas especiales para uso marino; 12% en instrumental que contienen Hg; 6% como fungicidas; 4% en amalgamas para los dentistas. Otros usos del Hg se refieren a la elaboración de detonadores, plásticos, en industrias del papel, como productos farmacéuticos, ... (*McDowell, 1992*). Además, hay que tener en cuenta el Hg liberado a la atmósfera por la combustión del carbón, aceites, gases vertidos industriales (*Wenddroff, 1990*) y otras actividades.

Dentro de los países productores de mercurio más importantes se encuentran por orden descendente: España (Almadén), Eslovenia (Idria), Italia (Monte Amiata), Perú (Huancavelica), EE UU (New Almaden, New Idria y McDermitt (*Español CS, 1990*).

Si bien, la concentración de mercurio no es un metal abundante en la corteza terrestre, se estima en unas 0,5 ppm, su liberación al medio ambiente ha ido en aumento de manera considerable desde el inicio de la era industrial.

## Efectos biológicos y toxicidad del Hg.

Últimamente ha sido objeto de revisión por parte de sociedades científicas los efectos que el mercurio puede tener sobre la población española (*Gonzalez-Estecha et al., 2015a; Gonzalez-Estecha et al., 2014; Gonzalez-Estecha et al., 2014a; Gonzalez-Estecha et al., 2014b*)

El mercurio (Hg) es un tóxico tan potente que contamina nuestro medioambiente a través de emisiones naturales como son las erupciones volcánicas, emisiones antropogénicas, como la combustión de fósiles, procesos de incineración, cementeras, industria cloroalcalina y minera entre otras, y a partir de depósitos creados por las emisiones naturales y antropogénicas, que nuevamente se evaporan pasando a la atmósfera e introduciéndose en los ciclos biológicos. (*ATSDR, 1999; AMAP/UNEP, 2008*)

La toxicidad del mercurio no podemos analizarla tomando en consideración únicamente el Hg mineral, ya que debemos incluir las formas químicas en que se transforma en el medio ambiente, ya que condicionarán tanto su metabolismo como su carácter tóxico, destacando por encima de las demás formas organomercuriales el metil-mercurio producido en el medio acuático (*Boudene, 1990*). Las distintas formas químicas como se presenta el mercurio son las siguientes:

- **Hg<sup>0</sup> metálico** – es liberado a la atmósfera y no es habitual encontrarlo en los alimentos, ya que se elimina rápidamente por nuestro organismo y no acarrea problemas.
- **Hg inorgánico** – por oxidación del **Hg<sup>0</sup>** metálico en el agua se originan el **Hg<sup>+</sup>** y **Hg<sup>2+</sup>**. El primero es muy puntual su ingestión, mientras que el segundo se suele concentrar en el riñón y se elimina de forma más o menos rápida a través del aparato excretor.
- **HgS insoluble** – se localiza en ambientes anaerobios donde el H<sub>2</sub>S está presente.
- **Compuestos organomercuriales** de alquilo, oxialquilo, arilo u otros, que pueden ser modificados, si se dan las condiciones adecuadas, cuando llegan al medio acuático con ayuda de determinados microorganismos, si originan serios problemas de contaminación de alimentos como analizaremos a continuación.

La transformación más relevante que sufre el mercurio es la metilación que se da principalmente en el agua de los ríos, una biotransformación de las formas inorgánicas de Hg por determinados microorganismos (*Metanobacterium smelianski, Clostridium thermoaceticum* o *Neurospora crassa*).

En primer lugar, se produce una metilación simple hasta monometil-Hg, posteriormente, si las condiciones de pH son adecuadas, se produce una segunda metilación hasta dimetil-Hg (muy volátil), y si el pH baja pasa de nuevo a monometil-Hg y se deposita en el medio.

Las formas metiladas del Hg se incorporan a la cadena alimentaria vía plancton, acumulándose e incluso magnificándose a lo largo de la cadena. Diferentes estudios evidencian una mayor capacidad de concentración del Hg en las cadenas alimentarias de los medios acuáticos, debido al carácter liposoluble del Hg orgánico que facilita su acumulación (*Boudene, 1990, Goyer, 1993*).

La concentración de Hg aumenta a medida que se asciende en la cadena alimentaria y su acumulación en organismos marinos está influenciada por muchos factores como la edad, tamaño, especie, sexo, localización geográfica, etc. (*Goyer, 1993*).

## Tóxicocinética

El Hg se puede absorber por vía inhalatoria, digestiva o cutánea (*McDowell, 1992*). La concentración y el depósito de mercurio dependerán de la forma de absorción, así como del tipo de compuesto mercurial. La vía que nos será de mayor interés, será la vía digestiva.

- Por vía **digestiva**: el Hg inorgánico se absorbe en el intestino entre el 5-15%, mientras que la absorción del Hg orgánico está entre el 5-15%. Dentro de los compuestos orgánicos se encuentran el metilmercurio, el etilmercurio y el fenilmercurio, entre otros. Estos compuestos se absorben rápidamente en el tracto gastrointestinal en un 80-95%. En el caso del metilmercurio, la absorción es de aproximadamente un 95%. La absorción y biodisponibilidad del metilmercurio se puede ver afectada por la interacción con otros nutrientes de la dieta (*ATSDR, 1999*).
- Por vía **inhalatoria**: el Hg vapor se disuelve en el plasma sanguíneo con una eficiencia del 80%, llegando incluso a atravesar la barrera hematoencefálica (*Ramírez, 2008*). La inhalación se asocia al trabajo en la industria minera (*Sundseth et al., 2017; Tchounwou et al., 2003*).
- Por vía **cutánea**: tiene poca relevancia, ya que son pocos los casos descritos de absorción por esta vía, si bien estarían relacionados con la aplicación de ungüentos que contenían metilmercurio entre sus componentes (*Ramírez, 2008*).

Cuando hablamos de la distribución por el organismo, el Hg puede atravesar la barrera placentaria y llegar al feto (*Kazantzis, 1980, Clarkson, 2007; Simmons-Willis, 2002*). El Hg inorgánico tiene menor efecto sobre el feto, ya que se acumula en la barrera placentaria, por el contrario, el metil-Hg llega hasta las células sanguíneas del feto.

El mercurio se acaba acumulando en los eritrocitos unidos a sus proteínas, siendo éstos un buen indicador del nivel del Hg en el organismo (*Underwood, 1977; Ramírez, 2008*).

El **mercurio metálico** se va a distribuir por todo el organismo. Una vez que se ha oxidado a catión mercúrico, se va a acumular principalmente en los riñones. Por otro lado, los compuestos inorgánicos de mercurio divalente alcanzan todos los órganos de forma similar, sin embargo, se acumularán menos en el cerebro y feto ya que su liposolubilidad es menor. Los compuestos orgánicos se distribuyen por todo el organismo tras la exposición oral, especialmente en los riñones, y como también atraviesan fácilmente la barrera hematoencefálica y la placenta, se acumulan en cerebro y feto. (*Clarkson, 2007; Simmons-Willis, 2002*)

Cabe destacar la especial afinidad que tiene el metil-Hg por el cerebro, con una concentración 6 veces superior a la existente en otros tejidos, así como también, mientras en el cerebro casi la totalidad del mercurio permanece forma orgánica, en los otros tejidos se transforma a Hg inorgánico.

Otro indicador, empleado por determinados autores, para determinar la cantidad de mercurio acumulada en el organismo es el pelo, donde la velocidad de acumulación es mucho mayor que en el resto del organismo. Se establece una correlación entre los niveles de

mercurio en sangre y los niveles de mercurio en pelo que van desde 1:250 (Kazantzis, 1980), 1:300 (*Berglund et al., 1971; Nordberg y Skerfving, 1971*) a 1:500 (*Tsubaki, 1971*).

En cuanto a las vías de excreción, el Hg inorgánico se elimina en forma de sales de Hg a través de heces y orina, excepto una pequeña proporción que se pierde en forma de vapor por vía respiratoria. Por el contrario, el metil-Hg es excretado principalmente por heces, a través de la excreción biliar y por la exfoliación de las células intestinales. Además, también puede ser eliminado a través de la leche materna, aliento, sudor y pelo. La reabsorción de metil-Hg a nivel intestinal es uno de los factores responsables de la elevada permanencia de estos compuestos mercuriales en el organismo, estimándose una vida media de los mismos de 80 días. (*Clarkson, 2007; ATSDR, 1999*) si bien, es relevante considerar la reabsorción que se produce en el intestino del metil-Hg, que le permite permanecer en el organismo durante más de 80 días.

## Toxicidad

Los efectos tóxicos provocados tanto por el mercurio inorgánico como por el orgánico, se deben a la inestabilidad de su forma iónica y su alta actividad, pudiendo desnaturalizar proteínas, inactivar enzimas y perturbar las membranas celulares, llegando a la destrucción de cualquier tejido en el que se acumule con una concentración suficiente (Goyer, 1993; Ramírez, 2008), es un elemento con carácter acumulativo que desarrolla su toxicidad a largo plazo, manifestada principalmente a nivel del sistema nervioso y del riñón.

La combinación entre la dosis y el tiempo de exposición del mercurio van a determinar si la toxicidad es aguda o crónica. Una **toxicidad aguda** provoca lesiones gastrointestinales graves, colapso cardiovascular e intoxicación renal aguda por acción de altas dosis de Hg<sup>+2</sup>, además de irritación pulmonar tras la inhalación masiva de vapor, cuadros clínicos de debilidad, escalofríos, sabor metálico, náuseas, vómitos, diarrea, tos y opresión torácica (*Seaton, 1978; Pullicino, 1985; Mclauchlan, 1991*). La **toxicidad crónica** es consecuencia de la ingesta de alimentos con presencia de Hg y su inhalación desde la atmósfera. Dentro de los efectos relacionados con la toxicidad crónica, inducidos por la acción del metil y etil mercurio, encontramos la destrucción de células nerviosas en la corteza, sobre todo en las áreas visuales de la corteza occipital y distintos grados de lesión de la capa granular del cerebelo, con posibles lesiones de nervios periféricos, alteraciones nerviosas que se traducen en perturbaciones psiquiátricas de distinta índole, pérdida de memoria, insomnio, pérdida de control de sí mismo, irritabilidad y excitabilidad, ansiedad, pérdida de confianza en sí mismo, somnolencia y depresión. En los casos más graves se han descrito delirio con alucinaciones, melancolía suicida o psicosis maniaco-depresivas (*Longley, 1968; Barber, 1978; Gebauer, 1991; Goyer, 1993*).

A parte de lo indicado anteriormente, destaca el temblor mercurial, temblor denominado intencional porque aumenta cuando el individuo se siente observado, fácilmente apreciable porque modifica su manera de escribir (*Boudene, 1990*). Por regla general, el síndrome más común comprende

Además de las perturbaciones neurológicas antes mencionadas, son también importantes las lesiones renales y proteinuria, llegándose incluso a relacionar la proteína



renal con los niveles urinarios de Hg (*Kazantzis, 1980*), los efectos oculares y las alteraciones de la piel y de las mucosas, como dermatitis por exposición a compuestos fenil-mercuriales o por la exposición a Hg inorgánico.

Uno de los episodios de intoxicación masiva más importantes producidos por mercurio fue el que dio nombre a la “Enfermedad de Minamata”, asociada a una sintomatología nerviosa, donde se contabilizaron 121 casos con 54 defunciones. La población afectada fue una comunidad de pescadores que consumieron grandes cantidades de pescado con concentraciones de 27 a 120 mg/kg de metil-Hg. El origen se encontró en la elevada concentración de Hg mineral de las aguas residuales vertidas por una fábrica que producía cloruro de vinilo a partir del cloruro y el sulfato de Hg como catalizadores, este mercurio sufrió una metilación por las bacterias que proliferaban en las aguas estancadas de la bahía de Minamata liberando al medio acuático el metil-Hg. Por otro lado, se observó el nacimiento de 22 niños con malformaciones, debido al efecto teratogénico del metil-Hg.

## Mercurio en los alimentos

Como ya hemos comentado antes, la forma química en que se presente el mercurio va a condicionar la absorción, la distribución, la interconversión de los compuestos mercuriales y su vida media.

El Hg se puede encontrar en multitud de alimentos, fundamentalmente en pescados y mariscos, (*Cammilleri et al., 2018, Moreno-Ortega et al., 2017*) aunque también puede acumularse en los hongos (*Kalac̆ and Svoboda 2000; Nowakowski et al., 2021*) y en vegetales (*Álvarez et al. 2006*).

Respecto a los alimentos de *origen vegetal*, la presencia de mercurio se puede relacionar con el grado de contaminación ambiental, ya que cuando estos niveles son bajos las cantidades detectadas en los tejidos de las plantas también lo son; ocurriendo a la inversa cuando los niveles ambientales son elevados. Destaca la capacidad de las plantas acuáticas como bioacumuladoras de mercurio (*WHO, 1996*); mientras que en las de agua dulce va a depender mucho de la especie y de la forma química del mercurio. Lo que si está demostrado es que la mayor concentración tisular de mercurio en las plantas se da en forma orgánica (*Patra y Sharma, 2000*), como ejemplo tenemos la capacidad de fijación de metilmercurio que tienen determinadas especies de haba empleadas en alimentación humana y animal (*Álvarez et al. 2006*).

En este sentido, cabe destacar la mayor contaminación que sufren los cultivos cercanos a fábricas que emiten Hg al medio ambiente. Otro aspecto concreto de contaminación por Hg está relacionado con el control del humus obtenido a partir de residuos sólidos urbanos, que se utiliza como abono en setas y champiñones, frecuentemente contaminado por Hg.

En productos de *origen animal*, el nivel de Hg se sitúa por debajo de 50 µg/kg, superándose considerablemente estos niveles en pescados 0,156-0,291 mg/kg (*Moreno-Ortega et al. 2017*). En la mayoría de los casos, es el metilmercurio el que se encuentra en mayor porcentaje en alimentos de origen animal. Los huevos presentaron cierto interés en cuanto a su contenido en Hg, hasta la prohibición del uso de compuestos organomercuriales como conservantes de los cereales de sus piensos. La concentración de Hg en huevos de

gallina oscila entre 2-30  $\mu\text{g}/\text{kg}$  (*Boudene, 1990*), diferenciándose distintos niveles en la clara ( $17.8 \pm 3.9 \mu\text{g}/\text{kg}$ ) y en la yema ( $9.7 \pm 3.8 \mu\text{g}/\text{kg}$ ) (*Jeng y Yang, 1995*). Respecto a las carnes, contienen bajas cantidades de Hg ( $<5 \mu\text{g}/\text{kg}$  peso fresco), siendo más importantes las concentraciones que se detectan en los despojos, especialmente hígado y riñón.

En cuanto al pescado y aves migratorias acuáticas (especies cinegéticas) representan las principales fuentes de Hg en la dieta, además de situarse en los eslabones más altos de la cadena alimentaria. Peces marinos de gran tamaño suelen presentar una concentración de Hg más elevada que los de menor tamaño y, además, el contenido de metilmercurio en relación al mercurio total aumenta con la edad del pez. Por otra parte, se ha observado concentraciones bastantes elevadas en grandes peces depredadores (3-5 mg/kg), como son los atunes, pez espada, etc. Estas concentraciones tan elevadas de Hg son el resultado de las sucesivas etapas de la cadena trófica. También se ha observado que el marisco acumula Hg del medio acuático a niveles cercanos a 3.000 veces superior al que están expuestos en el agua.

### *Ingestas tolerables de Mercurio*

La exposición al mercurio a través de la dieta es un motivo de preocupación creciente, lo que ha dado lugar a sucesivas revisiones de los límites máximos establecidos, tendiendo a su reducción.

La ingesta semanal tolerable provisional (PTWI) propuesta por el comité mixto de la FAO/OMS en 1972 se estableció en 0.3 mg/kg de peso corporal para mercurio total, no pudiendo exceder de 0.2 mg en forma de metilmercurio (forma orgánica). La FDA fija un nivel máximo de mercurio de 0.5 mg/kg para pescados y mariscos y la WHO recomienda un nivel máximo de 0.05 mg/kg para el resto de alimentos (*Shibamoto y Bjeldanes, 1993*). Si se consume semanalmente alrededor de 600g de pescado (aproximadamente 86 g/día), el cual contiene 0.5 mg/kg de Hg, no se excedería la ingesta tolerable. No obstante, estas dosis no son aplicables a niños. En general, excepto en situaciones especiales y normalmente como resultado de una elevada polución, se puede considerar que el nivel de Hg en nuestra dieta es bajo (*Boudene, 1990*).

En el año 2004, la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA) publicó una opinión científica sobre el mercurio y el metilmercurio en los alimentos, y unas recomendaciones generales para los grupos de población más susceptibles en relación con la ingesta de mercurio en productos de la pesca (*EFSA, 2004*).

En enero de 2005, sería la Comisión Europea quien publicó la “Estrategia comunitaria sobre el mercurio” un documento sobre las recomendaciones a la población estableciendo los límites máximos (*Comisión Europea, 2005*).

En 2006 se publica el *Reglamento (CE) No 1881/2006* donde se fijan los contenidos máximos para el mercurio en productos de la pesca y carne de pescado en 0,5 mg/kg peso fresco, a excepción de especies como el atún, pez espada, esturión, salmonete, ... donde el límite se estableció en 1,0 mg/kg peso fresco.

En abril de 2008, la Comisión Europea emitió una nota informativa en la que, analizando la situación en relación con el mercurio, y ante la imposibilidad de minimizar el riesgo únicamente mediante el establecimiento de contenidos máximos más estrictos de mercurio en pescado, instaba a los Estados miembros a formular recomendaciones a los consumidores al respecto, considerando la PTWI fijada por la FAO/OMS para proteger a los grupos vulnerables de población, como son las mujeres en edad fértil, embarazadas o en periodo de lactancia y niños (*Comisión Europea, 2008*).

En 2010, la FAO/OMS estableció una **PTWI para mercurio inorgánico de 4 mg / kg de peso corporal**, retirando el anterior valor de PTWI de 5 mg / kg de peso corporal para el mercurio total establecido en la decimosexta reunión. Si bien, la nueva PTWI para el mercurio inorgánico **se considera aplicable a la exposición al mercurio total de los alimentos**, excepto los de pescado y mariscos. Para estos alimentos se debe aplicar la PTWI establecida previamente para el metilmercurio.

En el 2018, posteriormente a la publicación de nuestro primer estudio “*Study of mercury content in wild edible mushrooms and its contribution to the Provisional Tolerable Weekly in Spain*”, la Unión Europea, basándose en los datos de seguimiento que viene realizando, confirma que se encuentran residuos de mercurio en un número importante de productos a niveles superiores a los permitidos hasta la fecha, y publica un nuevo **Reglamento (UE) 2018/73**, por el que se modifican los anexos II y III del **Reglamento (CE) n°396/2005** en lo relativo a los límites máximos permitidos, a excepción del metilmercurio para los productos de la pesca recogidos en el **Reglamento (CE) N°1881/2006**.

Podemos resaltar la distinción que hace entre los límites para setas cultivadas con motivo de la contaminación ambiental, donde lo establece en 0,05 mg/kg, mientras que en setas silvestres a 0,50 mg/kg, excepto en los boletos, donde sube casi al doble, 0,90 mg/kg.

Otros alimentos destacados serían las hierbas aromáticas con **0,03 mg/kg**, especias como la nuez moscada, jengibre, cúrcuma y macis con **0,05 mg/kg**, o los vertebrados terrestres silvestres con un límite de **0,04 mg/kg**.

### *Mercurio en hongos*

Existe un elevado volumen de publicaciones referidas al contenido de mercurio en setas silvestres, que evidencian una preocupación creciente por la presencia de uno de los metales más peligrosos para la salud pública que existen en los alimentos que podemos consumir. Lamentablemente, son pocos los que se centran en las setas silvestres de nuestra región, con una gran tradición de recolección y consumo.

Tras realizar una búsqueda exhaustiva entre las publicaciones de los últimos años, se han recopilado los datos existentes sobre la composición de mercurio en diferentes especies micológicas de todo el mundo (tabla 1), entre las cuales hemos resaltado en negrita las especies recolectadas más habitualmente en la región andaluza.

Los valores mostraron una amplia variación en su contenido dependiendo de la especie y la zona donde se fueron recolectadas, mostrando valores desde los *0.014 mg/kg peso seco* para *Suillus luteus*, o los *0.018 mg/kg peso seco* de *Paillus involutus* hasta los 20

mg/kg peso seco determinados para *Agaricus arvensis*, *Boletus edulis*, *Boletus pinophilus* *Calocybe gambosa* o *Lepista nuda*.

La alta capacidad fijadora de mercurio por parte de las setas desde el medio ambiente aumenta de una manera considerable cuando se trata de zonas altamente contaminadas o en las proximidades de industrias del metal (*Svoboda et al., 2006*), si bien, géneros como *Agaricus*, *Lepiota*, *Calocybe* o *Boletus* pueden presentar altos valores aun en zonas poco o nada contaminadas (*Kalač and Lapetová, 1997*).

Dentro de las especies de interés para nuestro estudio, podemos destacar una mayor concentración de mercurio en *Boletus aereus* (2-5 mg/kg peso seco) y *Macrolepiota procera* (0,5-10 mg/kg peso seco), en estudios realizados en España (*Melgar et al., 2009*). En este último estudio se analizaron por separado el himenóforo del resto del cuerpo fructífero, no detectando diferencias significativas entre ambas partes de la seta, concluyendo que en la mayoría de especies estudiadas no existe riesgo toxicológico, pero en el 4.2% de ellas se superaron los 5 mg Hg / kg peso seco (*Boletus pinophilus*, *Agrocybe macrosporus* y *Lepista nuda*), donde su consumo debe ser moderado.

Desde el punto de vista nutricional, la biodisponibilidad de los nutrientes que aportan los hongos aún no se conoce completamente (*Kalač, 2009*). Todo lo que se sabe es que son una parte importante de la dieta humana. En algunos estudios se ha demostrado la reducción parcial de la presencia de mercurio tras el tratamiento culinario de las setas, desde un 10% hasta un 40% menos de la concentración inicial (*Svoboda et al., 2002; Melgar et al., 2009*).

**Tabla 1.- Contenido de mercurio (mg/kg peso seco) en especies comestibles de setas según la revisión bibliografía consultada.**

Especie	[Hg] mg/kg peso seco	Referencia
<i>Agaricus arvensis</i>	2-20	Kalač& Stasíková, 1994; Kalač& Šlapetová, 1997; Sova et al., 1991; Wilcke, 1989
<i>Agaricus bisporus</i>	0,60	Demirbas, 2001
<i>Agaricus bisporus</i>	0,03±0,009	Sesli y Tüzen, 1999
<i>Agaricus bitorquis</i>	0,034-5,63	Demirbas, 2000
<i>Agaricus campestris</i>	1-10	Andersen et al., 1982; Kalač et al., 1989b; Kalač& Stasíková, 1994; Kalač& Šlapetová, 1997; Sova et al., 1991; Zurera et al., 1986
<i>Agaricus campestris</i>	0,65±0,08	Sesli y Tüzen, 1999
<i>Agaricus campestris</i>	0.5-5	Alonso et al., 2000; Szykowska et al., 2008
<i>Agaricus macrosporus</i>	<0.5-5	Tuzen and Soylak, 2005; Melgar et al., 2009
<i>Agaricus silvaticus</i>	2-5	Andersen et al., 1982; Kalač& Stasíková, 1994; Wilcke, 1989
<i>Agaricus silvicola</i>	2-5	Kalač& Stasíková, 1994; Sova et al., 1991
<i>Agaricus silvicola</i>	0,028-5,62	Demirbas, 2000
<i>Agaricus silvicola</i>	0,15	Demirbas, 2001
<i>Agaricus silvicola</i>	0,42±0,04	Sesli y Tüzen, 1999
<i>Agaricus sp.</i>	0,74±0,20	Sesli y Tüzen, 1999
<i>Amanita muscaria</i>	0,18	Demirbas, 2001
<i>Amanita muscaria</i>	0,067-1,5	Falandysz y col., 2002
<i>Amanita muscaria</i>	0,021-1,3	Falandysz y col., 2002

<b>Especie</b>	<b>[Hg] mg/kg peso seco</b>	<b>Referencia</b>
<i>Amanita muscaria</i>	0,35±0,14	Sesli y Tüzen, 1999
<i>Amanita rubescens</i>	0,23	Demirbas, 2001
<i>Amanita rubescens</i>	0,80±0,31	Sesli y Tüzen, 1999
<i>Amanita sp.</i>	0,76±0,11	Sesli y Tüzen, 1999
<i>Amanita vaginata</i>	0,32	Demirbas, 2001
<i>Amanita vaginata</i>	0,63±0,10	Sesli y Tüzen, 1999
<i>Armillaria mellea</i>	0,93±0,28	Sesli y Tüzen, 1999
<i>Armillaria mellea</i>	0.083	Nowakowski et al., 2021
<i>Armillaria mellea</i>	0,074±0,018	Strapác & Baranová, 2016
<i>Armillariella mellea</i>	<0.5	Cibulka et al., 1996; Falandysz et al., 1996; Kalač et al., 1989b; Vetter & Berta, 1997; Wilcke, 1989
<i>Armillariella mellea</i>	<0.5	Zarski et al., 1999, Tuzen and Soylak, 2005
<i>Boletus aestivalis</i>	1-5	Falandysz & Kryszewski, 1996; Kalač et al., 1989b; Kalač& Šlapetová, 1997
<i>Boletus aereus</i>	2-5	Melgar et al. (2009)
<i>Boletus edulis</i>	2-5	Falandysz & Kryszewski, 1996; Kalač et al., 1989b; Kalač& Šlapetová, 1997
<i>Boletus edulis</i>	0,81-5,9	Falandysz col, 2002
<i>Boletus edulis</i>	0,56-2,3	Falandysz col, 2002
<i>Boletus edulis</i>	0,51±0,20	Sesli y Tüzen, 1999
<i>Boletus edulis</i>	1-20	Zarski et al., 1999, Szykowska et al., 2008
<i>Boletus erythropus</i>	0,44±0,18	Sesli y Tüzen, 1999
<i>Boletus pinophilus</i>	2-20	Alonso et al., 2000; Melgar et al., 2009
<i>Boletus sp.</i>	0,48	Demirbas, 2001
<i>Boletus sp.</i>	0,75±0,14	Sesli y Tüzen, 1999
<i>Calocybe gambosa</i>	5-20	Kalač et al., 1989b; Kalač& Šlapetová, 1997
<i>Calvatia sp.</i>	0,63±0,08	Sesli y Tüzen, 1999
<i>Calvatia utriformis</i>	0,21±0,05	Sesli y Tüzen, 1999
<i>Cantharellus cibarius</i>	<0.5	Kalač et al., 1989b
<i>Cantharellus cibarius</i>	0,012-0,081	Falandysz col., 2002
<i>Cantharellus cibarius</i>	1,21±0,46	Sesli y Tüzen, 1999
<i>Cantharellus cibarius</i>	<0.5	Zarski et al., 1999 ; Alonso et al., 2000 ; Szykowska et al., 2008
<i>Cantharellus cibarius</i>	0.249 ± 0.395	Nowakowski et al., 2021
<i>Cantharellus cibarius</i>	0.25 ± 0.2	Svoboda et al., 2006
<i>Cantharellus tubaeformis</i>	1,01±0,20	Sesli y Tüzen, 1999
<i>Clitocybe houghtonii</i>	1,93±0,62	Sesli y Tüzen, 1999
<i>Clitocybe sp</i>	1,60±0,47	Sesli y Tüzen, 1999
<i>Coprinus comatus</i>	0,064±0,02	Sesli y Tüzen, 1999
<i>Coprinus micaceus</i>	0,085±0,02	Sesli y Tüzen, 1999
<i>Coprinus sp.</i>	1,21±0,34	Sesli y Tüzen, 1999
<i>Cortinarius auroturbinatus</i>	1,60±0,41	Sesli y Tüzen, 1999

Especie	[Hg] mg/kg peso seco	Referencia
<i>Cortinarius bulliardii</i>	0,78±0,025	Sesli y Tüzen, 1999
<i>Cortinarius</i> sp	0,18±0,05	Sesli y Tüzen, 1999
<i>Cortinarius subbalastinus</i>	0,36±0,14	Sesli y Tüzen, 1999
<i>Cortinarius rubellus</i>	1,6-2,2	Falandysz col, 2002
<i>Cortinarius rubellus</i>	0,78-1,8	Falandysz col, 2002
<i>Craterellus cornucopioides</i>	0,60±0,15	Sesli y Tüzen, 1999
<i>Cuphophyllus virgineus</i>	0,24±0,05	Sesli y Tüzen, 1999
<i>Gomphus clavatus</i>	1,61±0,47	Sesli y Tüzen, 1999
<i>Helvella acetabulum</i>	0,88±0,20	Sesli y Tüzen, 1999
<i>Helvella</i> sp.	0,94±0,17	Sesli y Tüzen, 1999
<i>Hydnellum conrescens</i>	0,75±0,36	Sesli y Tüzen, 1999
<i>Hydnellum peckii</i>	0,67±0,17	Sesli y Tüzen, 1999
<i>Hydnum repandum</i>	0,076-6,79	Demirbas, 2000
<i>Hydnum repandum</i>	0,10	Demirbas, 2001
<i>Hydnum repandum</i>	0,45±0,14	Sesli y Tüzen, 1999
<i>Hygrocybe sciophana</i>	0,33±0,08	Sesli y Tüzen, 1999
<i>Hygrocybe</i> sp.	0,48±0,21	Sesli y Tüzen, 1999
<i>Hygrophorus chrysodon</i>	0,53±0,19	Sesli y Tüzen, 1999
<i>Hygrophorus gliocyclus</i>	0,64±0,15	Sesli y Tüzen, 1999
<i>Hygrophorus russula</i>	0,84±0,35	Sesli y Tüzen, 1999
<i>Hypholoma capnoides</i>	0,068±0,01	Sesli y Tüzen, 1999
<i>Hypholoma fasciculare</i>	0,48	Demirbas, 2001
<i>Hypholoma fasciculare</i>	0,42±0,08	Sesli y Tüzen, 1999
<i>Hypholoma</i> sp.	0,14±0,07	Sesli y Tüzen, 1999
<i>Hypholoma sublateritium</i>	0,06±0,008	Sesli y Tüzen, 1999
<i>Laccaria amethystina</i>	0,74±0,26	Sesli y Tüzen, 1999
<i>Laccaria laccata</i>	0,084-0,942	Demirbas, 2000
<i>Laccaria laccata</i>	<0.5	Tuzen and Soylak, 2005
<i>Lactaria laccata</i>	0,39	Demirbas, 2001
<i>Lactarius acerrimus</i>	0,10±0,02	Sesli y Tüzen, 1999
<i>Lactarius azonites</i>	0,15±0,05	Sesli y Tüzen, 1999
<i>Lactarius deliciosus</i>	<0.5-1	Falandysz et al., 1996; Vetter & Berta, 1997; Zurera et al., 1986
<i>Lactarius deliciosus</i>	0.20–0.58	Falandysz, 2017
<i>Lactarius deliciosus</i>	0,18±0,06	Sesli y Tüzen, 1999
<i>Lactarius deliciosus</i>	<0.5-1	Zarski et al., 1999, Alonso et al., 2000
<i>Lactarius deterrimus</i>	0.49-0.52	Falandysz, 2017

<b>Especie</b>	<b>[Hg] mg/kg peso seco</b>	<b>Referencia</b>
Lactarius piperatus	0,42	Demirbas, 2001
Lactarius piperatus	0,43±0,04	Sesli y Tüzen, 1999
Lactarius rufus	0,21±0,08	Sesli y Tüzen, 1999
Lactarius scrobiculatus	0,081±0,01	Sesli y Tüzen, 1999
Lactarius sp.	0,58	Demirbas, 2001
Lactarius sp.	0,448±0,06	Sesli y Tüzen, 1999
Lactarius volemus	0,04-3,9	Falandysz, 2017
Lactarius volemus	1-2	Kalač et al., 1989b
Lactarius volemus	0,54	Demirbas, 2001
Lactarius volemus	0,098±0,01	Sesli y Tüzen, 1999
Leccinum rufum	0,32-1,7	Falandysz col, 2002
Leccinum rufum	0,21-0,82	Falandysz col, 2002
Leccinum scabrum	<0.5	Cibulka et al., 1996; Falandysz & Kryszewski, 1996; Falandysz et al., 1997; Kalač& Šlapetová, 1997
Leccinum scabrum	0,13-0,93	Falandysz col., 2002
Leccinum scabrum	<0.5-5	Zarski et al., 1999; Alonso et al., 2000
Lepiota cristata	0,32±0,05	Sesli y Tüzen, 1999
Lepista inversa	1,98±0,30	Sesli y Tüzen, 1999
Lepista nuda	2-20	Andersen et al., 1982; Kalač et al., 1989b; Kalač& Šlapetová, 1997; Sova et al., 1991; Vetter & Berta, 1997; Zurera et al., 1986
Lepista nuda	2-5	Tuzen and Soylak, 2005; Melgar et al., 2009
Lepista sp.	1,83±0,25	Sesli y Tüzen, 1999
Lycoperdon perlatum	1-5	Cibulka et al., 1996; Falandysz et al., 1996 y 1997 b; Sova et al., 1991; Vetter & Berta, 1997
Lycoperdon perlatum	1,5-6,8	Falandysz col, 2002
Lycoperdon perlatum	0,28±0,05	Sesli y Tüzen, 1999
Lycoperdon saccatum	0,12±0,03	Sesli y Tüzen, 1999
Lycoperdon saccatum	2,180	Nowakowski et al., 2021
Lycoperdon saccatum	0.57 - 4.5	Falandysz and Borovička, 2012
Lycoperdon sp.	0,16±0,06	Sesli y Tüzen, 1999
Macrolepiota procera	1-10	Cibulka et al., 1996; Falandysz & Kryszewski, 1996; Falandysz et al., 1996; Kalač et al., 1989b; Kalač& Šlapetová, 1997; Vetter & Berta, 1997; Zurera et al., 1986
Macrolepiota procera	0.5-10	Zarski et al., 1999; Alonso et al., 2000, Szykowska et al., 2008
Macrolepiota rhacodes	2-10	Andersen et al., 1982; Kalač et al, 1989b; Kalač& Šlapetová, 1997; Vetter & Berta, 1997
Meripilus giganteus	0,60±0,25	Sesli y Tüzen, 1999
Morchella esculenta	<0.5	Tuzen and Soylak, 2005
Panellus stipticus	0,44±0,18	Sesli y Tüzen, 1999
Paxillus atrotomentosus	0,78±0,26	Sesli y Tüzen, 1999
Paxillus involutus	0,022-0,26	Falandysz col, 2002
Paxillus involutus	0,018-0,14	Falandysz col, 2002

Especie	[Hg] mg/kg peso seco	Referencia
Peziza sp.	0,65±0,10	Sesli y Tüzen, 1999
Phellodon sp.	1,14±0,38	Sesli y Tüzen, 1999
Pleurotus ostreatus	0,42	Demirbas, 2001
Pleurotus ostreatus	0,35±0,018	Sesli y Tüzen, 1999
Pleurotus ostreatus	<0,5-5	Alonso et al., 2000; Tuzen and Soylak, 2005
Polyporus squamosus	0,20±0,05	Sesli y Tüzen, 1999
Ramaria flava	0,68±0,27	Sesli y Tüzen, 1999
Ramaria sp.	0,95±0,33	Sesli y Tüzen, 1999
Russula aeruginea	<0,5	Falandysz & Kryszewski, 1996; Kalač et al., 1989b
Russula cyanoxantha	0,5-1	Kalač et al., 1989b; Sova et al., 1991
Russula cyanoxantha	0,13	Demirbas, 2001
Russula cyanoxantha	0,15±0,04	Sesli y Tüzen, 1999
Russula delica	0,121-36,2	Demirbas, 2000
Russula delica	0,24	Demirbas, 2001
Russula delica	0,062±0,01	Sesli y Tüzen, 1999
Russula emetica	0,071-0,24	Falandysz col., 2002
Russula emetica	0,052-0,099	Falandysz col., 2002
Russula foetens	0,22	Demirbas, 2001
Russula foetens	0,05±0,009	Sesli y Tüzen, 1999
Russula sp.	0,14	Demirbas, 2001
Russula virescens	0,084±0,01	Sesli y Tüzen, 1999
Scleroderma aurantium	1,65±0,41	Sesli y Tüzen, 1999
Scleroderma sp.	1,20±0,50	Sesli y Tüzen, 1999
Suillus granulatus	<0,5	Szynkowska et al., 2008
Suillus grevillei	<0,5	Kalač et al., 1989b; Sova et al., 1991
Suillus grevillei	0,13-0,76	Falandysz col., 2002
Suillus grevillei	0,028-0,3	Falandysz col., 2002
Suillus grevillei	<0,5	Chudzynski et al., 2009
Suillus luteus	0,041-0,2	Falandysz col., 2002
Suillus luteus	0,014-0,13	Falandysz col., 2002
Suillus luteus	<0,5	Zarski et al., 1999
Suillus luteus	0.608 ± 0.244	Nowakowski et al., 2021
Suillus luteus	0.028	Chudzynski et al., 2011
Suillus variegatus	<0,5	Kalač et al., 1989b; Kalač& Šlapetová, 1997
Tricholoma portentosum	0,051-0,44	Falandysz col., 2002
Tricholoma portentosum	0,035-0,22	Falandysz col., 2002
Tricholoma portentosum	0,5-5	Zarski et al., 1999; Alonso et al., 2000
Tricholoma portentosum	0.7903	Nowakowski et al., 2021
Tricholoma portentosum	1.17 ± 0.06	Širić et al., 2017
Tricholoma terreum	0,056-1,66	Demirbas, 2000



<b>Especie</b>	<b>[Hg] mg/kg peso seco</b>	<b>Referencia</b>
Tricholoma terreum	0,06	Demirbas, 2001
Tricholoma terreum	0,75±0,31	Sesli y Tüzen, 1999
Tricholomopsis rutilans	0,41±0,16	Sesli y Tüzen, 1999
Xerocomus badius	<0.5-1	Bargagli & Baldi, 1984; Falandysz et al., 1996; Falandysz et al., 1997b; Kalač et al., 1989b; Kalač& Šlapetová, 1997; Sova et al., 1991
Xerocomus badius	0,26-1,18	Falandysz col, 2002
Xerocomus badius	0,14-0,8	Falandysz col, 2002
Xerocomus badius	<0.5	Zarski et al., 1999; Szyrkowska et al., 2008
Xerocomus badius	0,0938	Nowakowski et al., 2021
Xerocomus badius	1.3 ± 1.1	Falandysz et al., 1997
Xerocomus subtomentosus	<0.5-1	Falandysz et al, 1996; Kalač et al., 1989b; Kalač& Šlapetová, 1997
Xerocomus subtomentosus	<0.5	Zarski et al., 1999
Xerocomus chrysenteron	<0.5-1	Falandysz & Kryszewski, 1996; Falandysz et al., 1997 b; Kalač et al., 1989b; Kalač& Šlapetová, 1997

80

Hg

Capítulo III

Chapter III

Objetivos / Objectives



## Objetivos

El **objetivo principal** de esta tesis es determinar el riesgo por ingesta de mercurio, asociado al consumo de setas silvestres en la región de Andalucía.

- **Objetivo específico 1:** Recopilar y analizar la información y datos existentes sobre la composición de mercurio en especies micológicas. Estado del conocimiento.
- **Objetivo específico 2:** Determinar la composición de Hg en setas silvestres comestibles en Andalucía y estimar su aportación a la ingesta provisional semanal tolerable.
- **Objetivo específico 3:** Evaluar los hábitos de consumo de setas silvestres comestibles en Andalucía y cuantificar la ingesta de las principales setas consumidas.

## Objetives

The **main objective** of this thesis is to determine the risk of mercury ingestion, associated with the consumption of wild mushrooms in the region of Andalusia.

- **Specific objective 1:** Collect and analyze existing information and data on the composition of mercury in mycological species. State of knowledge.
- **Specific objective 2:** To determine the Hg composition in edible wild mushrooms in Andalusia and to estimate its contribution to the tolerable weekly provisional intake.
- **Specific objective 3:** To evaluate the consumption habits of wild edible mushrooms in Andalusia and quantify the intake of the main mushrooms consumed.



80

Hg

Capítulo IV  
Chapter IV

Estudios / Studies



## Estudio 1 / Study 1

Study of mercury content in wild edible mushrooms and its contribution to the Provisional Tolerable Weekly in Spain

Ostos C, Pérez-Rodríguez F, Arroyo BM, Moreno-Rojas R. (2015) Journal of Food Composition and Analysis. 37 136-142

### Abstract

The study determined total mercury (Hg) content of 10 wild edible mushroom species collected in southern Spain. Results indicated that the highest Hg level corresponded to *Boletus aereus* with  $10.28 \pm 2.92$  mg/kg DW (dry weight), while the lowest Hg level was found in *Terfezia arenaria* with  $0.09 \pm 0.08$  mg/kg DW. Regarding the anatomic parts of the mushrooms, caps showed significantly higher Hg concentrations than stems in *B. aereus*, *Amanita caesarea* and *Macrolepiota procera*. The percentage of contribution to the Provisional Tolerable Weekly Intake (PTWI) for Hg was also calculated. Based on consumption data in Spain (0.011 kg/person/week), %PTWI was calculated ranging between 0.06 and 3.5% for mean Hg levels. When a high level of consumption was assumed (0.100 kg/person/week), %PTWI ranged between 0.58 and 31%. Results suggest that wild edible mushrooms in southern Spain could contribute with high Hg levels to the Spanish diet. However, the lack of consumption data for wild edible mushrooms made it difficult to give more definitive conclusions; hence further studies including specific consumption data will be needed.

*Keywords:* mercury; mushroom; Spain; wild edible mushroom; food safety; Hg content in foods; mushroom consumption in Spain; toxicological risk; metals; dietary intake; food analysis; food composition and food safety.

### 1. Introduction

Spain possesses a great diversity in mushrooms and truffles with more than 2500 species (Moreno et al., 1996; Gómez et al., 1993). Picking wild edible mushrooms is an important activity in Spain, and it involves large numbers of consumers. Mushroom consumption has grown noticeably in Spain over the past few years, probably as a direct result of, among other factors, recent studies about the health benefits associated with certain compounds found in mushrooms. For instance, *Boletus edulis* contains a powerful antioxidant compound, ergothioneine, which can be found at high concentrations, reaching levels of 528 mg/kg WW (Ey et al., 2007). Moreover, it has been reported that eating certain mushroom species can have potentially beneficial effects in the reduction of cardiovascular diseases (Guillamón et al., 2010).



It is well known that mushrooms are able to assimilate and accumulate compounds and nutrients from the environment (Alonso et al., 2004). Mushrooms can accumulate metals in the fungi epithelium, which can persist and even increase in some parts of the fruitful body, in some cases reaching higher concentrations than in the environment where they grow (Campos et al., 2009). There are many factors that can influence the presence of metals in mushrooms, such as climate, geographic location, environmental conditions, and concentration of macromolecules in the cellular wall of each specific species. In the case of total mercury (Hg), several studies have highlighted the importance of mushrooms as significant sources of this metal. According to the review by Kalac̃ and Svoboda (2000), total mercury content of the examined wild mushrooms was between 0 and 20mg/kg. Similarly, high levels of total mercury have been found in *Boletus* spp. and *Agaricus* spp. with concentration ranges of 2–5 and 10–20 mg/kg, respectively (Kalac̃, 2010). Moreover, Hg concentration in wild mushrooms could be higher as suggested by the study by Falandysz and Szajek (1994), in which average Hg concentration in wild growing *Agaricus* spp. was significantly higher than the concentration found in cultivated *A. bisporus*. These data demonstrate that the toxicological risk associated with Hg content might be higher in wild edible mushrooms. In addition, mushroom picker populations are usually associated with high consumption levels of wild mushrooms during the picking season.

Exposure to mercury has been identified as a serious threat to the development of the child in utero and early in life in addition to producing toxic effects in the nervous, digestive and immune systems, and in the lungs, kidneys, skin and eyes (Tchounwou et al., 2003). Hence the World Health Organization (WHO, 2010) has considered this heavy metal as one of the top ten elements of major public health concern.

To date, no previous studies have been carried out in the southern Spain on the Hg content of the most consumed wild edible mushroom species in this region, which has one of the biggest mushroom-picker populations in Spain, with a wide consumption of wild edible mushrooms. There is therefore a need to determine the Hg levels in the most-consumed wild edible mushrooms in southern Spain in order to assess the exposure level to this metal in picker populations. Accordingly, the aim of this study was to determine the Hg content in 10 different species of wild edible mushroom collected in the southern Spain and to assess the exposure level of mushroom picker populations by using the well-recognized safety criterion Provisional Tolerable Weekly Intake (PTWI) for Hg.

## 2. Materials and methods

### 2.1. *Methods of sampling*

Mushroom samples of 10 edible wild species were picked from different areas of southern Spain during the typical collection season for mushrooms (autumn–winter) in 2011 resulting in  $n = 602$  samples. Only fruit bodies showing full development, with cap and stem, were collected. Old and injured fruit bodies were not used. Caps and stems were sampled separately to enable Hg determination for each anatomic part separately. Each sample consisted of one anatomic part, either the cap or stem from one or two individual specimens in order to obtain a representative amount for each species. After collection, (fresh) samples

were weighed; weight ranged from 15 to 25 g depending on size and species. A major description of the number of samples for each species and sampling area is given in [Table 1](#). Then, samples were washed with bi-distilled- deionized water in order to remove any possible trace of soil, which could affect mercury content. Next, samples were immediately frozen in individually packaged into plastic bags and labeled. Prior to analysis, water content was determined for each individual sample ([AOAC, 2002](#)), and then the samples were lyophilized.

## 2.2. Sample preparation

Pretreatment by wet digestion in a closed system was performed in a CEM Corporation MDS 2000 microwave (Spectralab Scientific, Ontario, Canada) with hermetic and pressure regulated Teflon reactors/vessels. A quantity of 0.2 g of lyophilized sample was deposited in the vessels (weighed on a precision balance), adding 3 mL of nitric acid (69%) and 0.5 mL of (33%) hydrogen peroxide (Panreac, Barcelona, Spain). Three droplets of potassium permanganate (5%) were added to enhance the oxidative digestion process of the organic matrix. To facilitate digestion, each sample was divided into two equal-sized portions (i.e. aliquots) so that content would fit the vessel size. Each sample aliquot was diluted to a final volume of 15 mL with deionized, bi-distilled water (>18MV), obtained from an Optimum-Maxima Elga Option 3 Water Purifier deionization system (Thermofisher, Boston, USA). Reagents used in sample preparation were purchased from Panreac (Barcelona, Spain).

## 2.3. Analytical determination and calibration curve

Analytical determinations of Hg were performed by atomic absorption spectrophotometry (EAA) with cool vapor associated with a flow-injection analysis system (FIA) using a Perkin Elmer 2100 equipped with a quartz cell purchased from Perkin Elmer (Massachusetts, USA). The samples were measured in triplicate. The optimized parameters corresponded to wavelength 253.7 nm, with a slit of 0.7 nm using HCl as liquid carrier, Ar as gaseous carrier, and BHNa<sub>4</sub> as reducing agent stabilized with NaOH. The 0.75% (w/v) BHNa<sub>4</sub> was prepared daily by dissolution of the appropriate amount of the solid reagent in 1.0% (w/v) sodium NaOH. The liquid carrier corresponded to 3.0% (w/v) HCl obtained from a stock solution of (37%) HCl. Reagents used in analytical determination were purchased from Panreac (Barcelona, Spain).

Standard mercury solutions were prepared (0.1, 1, 10, and 100 mg/L) by stepwise solutions from 1000 mg/L stock solution purchased from Merck-Titrisol (Darmstadt, Germany). These solutions were used to construct a calibration curve, which was performed daily. In addition, confirmation tests for the calibration curves were carried out during experiments by assessing the calibration curve slope with central concentrations of the standard mercury solutions each 50 measurements and the whole calibration curve each 100 measurements.

#### 2.4. Analytical method optimization

The optimization of the analysis procedure was performed with three parameters: limit of quantification (LOQ), limit of detection (LOD) and precision (Thomson et al., 2002). For precision, a total of 10 different samples were analyzed in different days, performing 10 readings for each sample. The obtained values for the above parameters after optimization corresponded to 0.03 mg/kg DW, 0.01 mg/kg DW and 4.5%, respectively. In order to estimate the recovery percentage of the used method, samples (n = 10) of a certified reference material consisting of *Cantharellus tubaeformis* provided by Livsmedels Verket (Uppsala, Sweden) were analyzed on different experimental days. The results indicated that recovery percentage for Hg corresponded to 101.4% (95% CI: 96.2–109.1%) while the repeatability relative standard deviation (RSDr), calculated on these data, was 4.8%.

#### 2.5. Statistical treatment

A minimum of 10 independent samples ( $n \geq 10$ ) were analyzed per each mushroom species (Table 1). The number of analyzed independent samples depended on the availability of the type of picked mushroom. Three measurements were performed per each analyzed independent sample. Due to the subdivision of samples into two equal-sized subsamples for digestion, the value for each independent sample corresponded to the mean of the two subsamples.

Concentration data were evaluated statistically by descriptive parameters such as mean and standard deviation (SD). In order to determine statistical differences in the Hg content between different mushroom species or anatomic parts, a variance analysis and a post hoc test (i.e. Tukey's mean homogeneity test) were performed using STATISTICAL software (StatSoft Iberica, Portugal). The significance level used in this study corresponded to  $p \leq 0.05$ .

#### 2.6. Provisional Tolerable Weekly Intake (PTWI) calculation

In order to assess the Hg intake risk associated with consumption of the studied mushroom species, a safety level or criterion was used. This criterion considered only inorganic Hg since recommendations for methyl-mercury are given only for seafood. Thus in this study, the PTWI (Provisional Tolerable Weekly Intake) was used as the safety criterion, established to 4 mg/kg/ week for inorganic Hg (FAO/WHO, 2011).

In order to determine the percentage of PTWI (%PTWI) for Hg derived from consumption of the studied mushroom species, concentration levels and consumption levels were combined. The %PTWI was calculated for the whole fruiting body using concentration data obtained for each anatomic part expressed in mg/kg of dry weight (DW), as shown in Eq. (1).

$$\%PTWI = \frac{([Hg] \cdot \text{Intake}) / W_{\text{body}}}{PTWI} \times 100 \quad (1)$$

where [Hg] is the concentration of Hg expressed in mg/kg DW; Intake stands for consumption per week of the whole mushroom expressed in kg/week DW;  $W_{\text{body}}$  is the mean body weight of the Spanish population (72 kg) (Pe´rez et al., 2008); and PTWI corresponds to the Provisional Tolerable Weekly Intake expressed in mg/kg/week (i.e. 0.004).

**Table 1**  
Detailed description of sampling design of analyzed mushroom species.

Species	Sampling	Samples (n) <sup>a</sup>			Total	Location
		Complete	Stem	Cap		
<i>Agrocybe aegerita</i>	1		16	16	32	Almería
	2		11	11	22	Almería
	3		8	8	16	Almería
	4		8	8	16	Córdoba
	5		16	16	32	Córdoba
Total			59	59	118	
<i>Amanita caesarea</i>	6		12	12	24	Huelva
	7		1	1	2	Huelva
Total			13	13	26	
<i>Boletus aereus</i>	8		7	8	15	Sevilla
	9		3	3	6	Sevilla
Total			10	11	21	
<i>Cantharellus cibarius</i>	10		9	10	19	Cádiz
	11		10	10	20	Cádiz
	12		10	10	20	Cádiz
Total			29	30	59	
<i>Lactarius deliciosus</i>	13		7	7	14	Córdoba
	14		6	6	12	Córdoba
	15		7	7	14	Córdoba
	16		10	10	20	Córdoba
	17		10	10	20	Córdoba
	18		10	10	20	Córdoba
Total			50	50	100	
<i>Macrolepiota procera</i>	19		13	13	26	Málaga
	20		6	6	12	Córdoba
	21		18	17	35	Cádiz
Total			37	36	73	
<i>Morchella</i> spp.	22		28	28	56	Córdoba
	23		9	10	19	Córdoba
	24		6	6	12	Jaén
	25		6	6	12	Jaén
Total			49	50	99	
<i>Pleurotus eryngii</i>	26		11	11	22	Granada
	27		11	11	22	Córdoba
	28				25	Córdoba
	29				8	Almería
Total			22	55	77	
<i>Terfezia arenaria</i>	30	18			18	Sevilla
	31	3			3	Sevilla
	32	8			8	Sevilla
Total		29			29	
General total		29	269	304	602	

<sup>a</sup> Each sample consisted of one or a pool of two individual specimens in order to obtain a representative amount for each species during sampling.

As the fruiting body was not analyzed in its entirety, the concentration level was estimated by adding concentration values obtained for the cap and stem. For this value, the percentage of each anatomic part in relation to the whole fruiting body and its corresponding humidity (as %) were considered. Therefore, Eq. (1) for %PTWI, applied to the whole fruiting body, may be rewritten as follows:

$$\%PTWI = \frac{([Hg_{\text{cap}}] \cdot \text{Intake}_{\text{caps}}) + ([Hg_{\text{stem}}] \cdot \text{Intake}_{\text{stem}})/W_{\text{body}}}{PTWI} \times 100 \quad (2)$$

where the intake for each anatomic part was calculated as follows:

$$\text{Intake}_{\text{caps}} \text{ or } \text{Intake}_{\text{stem}} = [\text{Intake}_{\text{WW}} \times (\%W_{\text{caps}} \text{ or } \%W_{\text{stem}}) \times (100 - \% \text{water content caps or } \% \text{water content stem})]/100 \quad (3)$$

where Intake<sub>caps</sub> or Intake<sub>stem</sub> corresponds to consumption per week of cap or stem for each mushroom expressed in kg/week DW; Intake<sub>WW</sub> stands for consumption per week of whole mushrooms expressed in kg/week wet weight (WW); %W<sub>caps</sub> or %W<sub>stem</sub> is the percentage (%) of caps or stem on the total weight (WW) of mushroom species. The values obtained are shown in the column “% weight wet” in Table 2. The %Water content<sub>caps</sub> or %Water content<sub>stem</sub> is the percentage (%) of water in the caps or stem. The values are shown in the column “% water content” in Table 2.

In addition, the %PTWI was calculated for each specific anatomic part, assuming that the total intake was derived only from one specific anatomic part, that is to say, the cap or stem. To calculate this value, Eqs. (2) and (3) were applied.

### 3. Results and discussion

#### 3.1. Hg content in Spanish wild mushrooms

Based on the absorbance and the calibration equations, Hg concentration was calculated in different mushroom species, expressed in mg/kg DW. In Table 2, concentration levels are shown for different anatomic parts in the different analyzed samples. Overall, the minimum and maximum concentration levels were  $0.09 \pm 0.08$  and  $10.28 \pm 2.92$  mg/kg DW, which corresponded to *Terfezia arenaria* and caps of *Boletus aereus*, respectively. Note that *T. arenaria* was the only truffle analyzed in this study, hence no distinction was made between anatomic parts (cap, stem).

The statistical analysis regardless of the anatomic part indicated that *B. aereus* was the species with the highest level (9.19 mg/kg DW) as shown in Fig. 1. However, this finding is not unexpected since it is well known that “true boletus” species are good bio-accumulators of heavy metals, specially in the hymenophore portion, presenting high contents in mercury and selenium (Kalac̆, 2010; Alonso et al., 2005; Kalac̆ et al., 2004; Kalac̆ and Svoboda, 2000).

The species with the next-highest level was *Macrolepiota procera* (2.43 mg/kg DW) followed by *Amanita caesarea* (1.42 mg/kg DW). These species formed three different homogenous concentration groups ( $p < 0.05$ ). In turn, the rest of the analyzed species showed concentration values significantly similar ( $p < 0.05$ ), ranging between 0.09 and 0.49 mg/kg DW; these values corresponding to *T. arenaria* and *Lactarius deliciosus*, respectively.

The Hg levels found for *B. aereus* ( $10.28 \pm 2.92$  mg/kg DW) were much higher than those reported by others studies for other *Boletus* spp. For instance, average levels for *B. edulis* were above 2 mg/kg DW, while *B. pinophilus* showed average values of 5.209 mg/kg DW (Alonso et al., 2005). A more species-specific comparison was impossible to carry out, since no data were found in literature for *B. aereus*.

**Table 2**

Values of Hg concentration (mean  $\pm$  standard deviation), mean percentage of water content and mean percentage of weight of the each anatomic part in each analyzed mushroom species.

Species	Anatomic part	% weight <sup>a</sup>	% water content <sup>b</sup>	[Hg] mg/kg d/w
<i>Agrocybe aegerita</i>	Stem	34	83 $\pm$ 6 <sup>c</sup>	0.20 $\pm$ 0.17e <sup>d</sup>
	Cap	66	87 $\pm$ 7	0.24 $\pm$ 0.19e
<i>Amanita caesarea</i>	Stem	41	91 $\pm$ 3	0.81 $\pm$ 0.14e
	Cap	59	90 $\pm$ 2	2.03 $\pm$ 0.49d
<i>Boletus aereus</i>	Stem	16	92 $\pm$ 2	8.00 $\pm$ 3.24b
	Cap	84	91 $\pm$ 3	10.28 $\pm$ 2.92a
<i>Cantharellus cibarius</i>	Stem	32	86 $\pm$ 2	0.12 $\pm$ 0.06e
	Cap	68	86 $\pm$ 1	0.19 $\pm$ 0.23e
<i>Lactarius deliciosus</i>	Stem	14	88 $\pm$ 2	0.38 $\pm$ 0.28e
	Cap	86	88 $\pm$ 3	0.61 $\pm$ 0.79e
<i>Macrolepiota procera</i>	Stem	37	88 $\pm$ 5	1.87 $\pm$ 1.20d
	Cap	63	88 $\pm$ 4	3.00 $\pm$ 2.03c
<i>Morchella</i> spp.	Stem	29	90 $\pm$ 2	0.28 $\pm$ 0.19e
	Cap	71	87 $\pm$ 4	0.21 $\pm$ 0.12e
<i>Pleurotus eryngii</i>	Stem	10	86 $\pm$ 5	0.14 $\pm$ 0.13e
	Cap	90	89 $\pm$ 3	0.16 $\pm$ 0.26e
<i>Terfezia arenaria</i>	Whole	100	83 $\pm$ 1	0.09 $\pm$ 0.08e
Total	Stem			0.78 $\pm$ 0.54b
	Cap			0.96 $\pm$ 0.42a

<sup>a</sup> Percentage of weight of the anatomic part of the whole body, expressed in fresh (wet) weight.

<sup>b</sup> Percentage of water content of each anatomic part.

<sup>c</sup> Mean and standard deviation are calculated from the total number of analyzed independent samples of each mushroom species ( $n \geq 10$ ).

<sup>d</sup> Letters represent different homogenous groups given by Tukey HSD test.

Results obtained for *M. procera* in our study are in concordance with those reported by other studies. In those studies, Hg concentration ranged 1–10 mg/kg DW (Falandysz and Kryszewski, 1996; Falandysz et al., 1996; Gucia et al., 2011; Falandysz et al., 2008; Cibulka et al., 1996; Kalac̆ et al., 1989; Kalac̆ and Slapetova, 1997; Vetter and Berta, 1997; Zurera et al., 1986). In addition, Chen et al. (2009) reported a very similar level to our results for a different *Macrolepiota* species (*M. crustosa*), with levels of  $2.20 \pm 0.23$  mg/kg DW.

Falandysz et al. (2003) reported levels of  $0.87 \pm 0.22$  and  $0.39 \pm 0.19$  mg/kg DW in cap and stem of *A. muscaria*, respectively. However, our study showed higher levels for *A. caesarea*, especially in caps, in which Hg content levels reached  $2.03 \pm 0.49$  mg/kg DW.

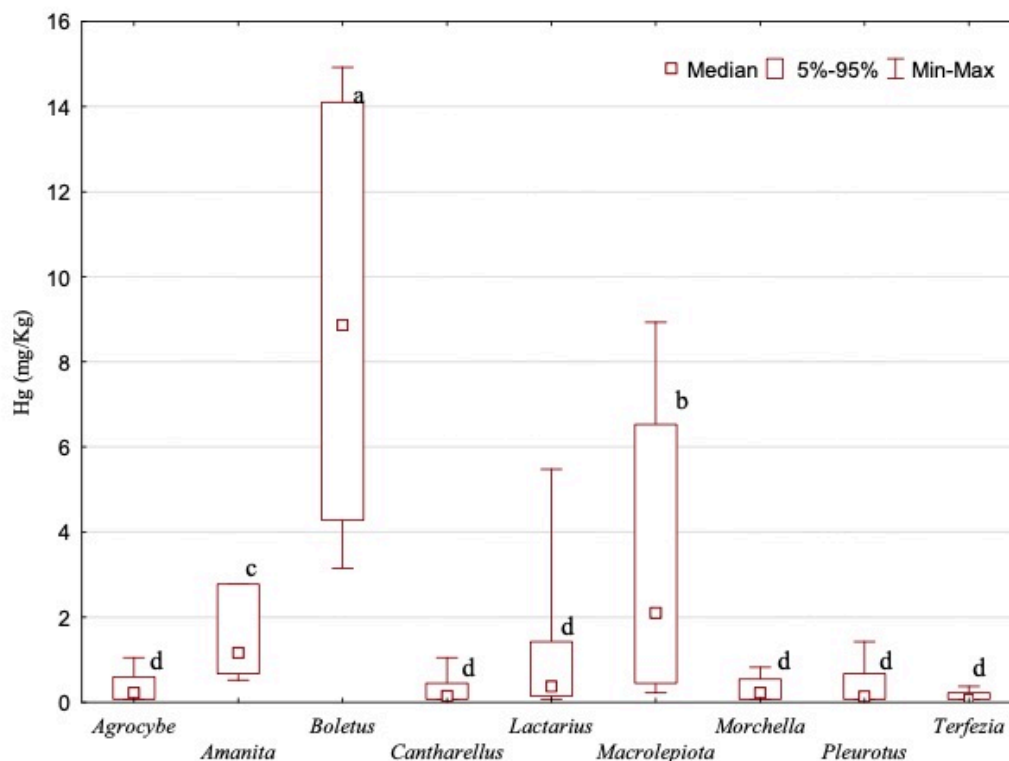


Fig. 1. Box plot representing the main statistics of Hg concentration values for the different mushroom species analyzed.

The differences found between studies for the same species may be due to numerous factors, even though the paramount factor is related to the contamination level of the geographical zone where mushrooms are collected. Thus, in contaminated soils the Hg content found in mushrooms is often higher than those obtained from non-contaminated soils (Kalac̆, 2010). The age of the mycelium could also have certain influence on the metal content; on the other hand, the size and age of the fruiting body are much less relevant for the metal content because of the short lifetime of this anatomic part (Kalac̆, 2010).

In order to put the concentration levels found in our study into perspective, they were compared to Hg levels obtained in other foods. Among the most recent studies on metal content in Spanish foods, we highlight the study carried out in Catalonia (Llobet et al., 2010). Mushrooms are traditionally related to vegetables and in many cases even included in the vegetable category in national consumption surveys, hence this food category was selected

for the comparison with our results. The mean Hg content reported by this study for vegetables corresponded to 0.004 mg/kg DW. In turn, mushrooms analyzed in our study showed much higher levels with several orders of magnitude of difference (Table 2). In general, these results demonstrate that wild mushrooms are significant sources of Hg when compared to other food products in Spanish diet.

### 3.2. Study of Hg content in anatomic parts (cap and stem) of wild mushrooms

The statistical analysis of the whole data set, regardless of species, indicated that the Hg content was significantly higher in the cap than in the stem of the mushroom. However, when the analysis was performed on each individual mushroom species, only three species showed significant differences between anatomic parts, with higher levels in the cap. These mushroom species corresponded to *B. aereus*, with an average difference of 2 mg/kg DW, and *A. caesarea* and *M. procera*, where the variation between both anatomic parts was around 1.5 mg/kg DW.

Some studies have differentiated between content of metals in the cap and stem (Gucia et al., 2011). However, there are no published data on the same species analyzed in our study to make possible a comparison with our findings. Nevertheless, there are some examples close to the studied species, such as *A. rubescens* (Drewnowska et al., 2012), in which the Hg content was nearly the double in the caps.

In any case, these significant differences between anatomic parts are much less important from the public health standpoint, if the entire mushroom is being consumed. However, the culinary accustoms or traditions of each specific region can differ regarding which part of the mushroom is cooked and consumed, and therefore in these cases, the difference between both cap and stem should be considered given the noticeable differences found in our study and others similar works (Moreno et al., 1996).

### 3.3. Contribution of the consumption of wild mushrooms to the PTWI of Hg

Because of the lack of data on wild mushroom consumption in Spanish regions, data on consumption of cultivated mushrooms reported by the Spanish Ministry Food, Agriculture and Environment (MAFE) were used to estimate the contribution of the studied wild mushroom species to Hg intake so as to be able to derive the %PTWI according to Eqs. (1)-(3) (MAFE, 2012). Therefore, consumption patterns for mushroom pickers and other population groups consuming wild mushroom was assumed to be similar to the national consumption level. On the basis of this assumption, the %PTWI was estimated using the weekly per capita consumption of mushrooms for the Spanish population, which corresponded to 0.011 kg/person/week expressed in wet weight (WW) (MAFE, 2012) and Hg contents found in our study. Results indicated that %PTWI using mean Hg concentration values ranged between 0.06 and 3.5% PTWI for the different analyzed mushroom species (Table 3). Furthermore, when the 95th percentile of the Hg concentrations obtained in our study was used, the contribution to the PTWI for the different mushroom species varied in the range 0.13–5.4% PTWI, increasing slightly with respect to the estimates performed with mean values (Table 3). The mushroom parts that most contributed to PTWI were the caps of *B. aereus* and *M. procera*, with values of 3.5 (95th: 5.4) and 1.4 (95th: 3.2) %PTWI, respectively. In spite of these results, it should be considered that there exist other wild



mushroom species (*Lepista nuda*, *Calocybe gambosa*, etc.) not included in the present study, with high Hg contents, which could lead to higher %PTWI if these were included in “the mushroom basket” (Kalac̆, 2010; Kalac̆ et al., 2004). In contrast, the cap of *Cantharellus cibarius* and *Pleurotus eryngii* showed the lowest contribution, with values of 0.06 (0.13) and 0.07 (0.28) %PTWI, respectively.

Foods in the Spanish diet such as vegetables, which are considered to be close to mushrooms in the trophic chain, showed lower %PTWI, with a value 3% PTWI (Llobet et al., 2010). Wild mushrooms analyzed in the present work showed higher levels than vegetables, hence that their contribution to PTWI was slightly higher, which highlights the importance of wild mushroom consumption as a significant dietary source of Hg.

As the consumption of wild mushroom is subject to temporality because picking mushroom depends on their reproductive cycles, a more specific analysis was performed considering a higher consumption level. This approach is applied on the basis that consumption and attendant adverse effects take place within a specific period of time (i.e. weeks) and not in a single event (Herrman and Younes, 1999). Hence a weekly per capita consumption level equal to 100 g fresh weight was considered for the calculation of the %PTWI. In this case, the contribution of mushrooms to Hg intake ranged between 0.58 and 31% for mean values and from 1.16 to 49% when the 95th percentile was used. The species that showed a more relevant contribution to the %PTWI were *B. aereus* and *M. procera* with values for their caps of 31 (49) and 12 (29)% PTWI, respectively. Likewise, although to a lesser extent, other species resulted in high %PTWI, such as *A. caesarea* and *L. deliciosus* with values for the caps of 6.7 (9.9) and 2.5 (8.9) % PTWI, respectively. The species with the lowest %PTWI corresponded to *C. cibarius* and *P. eryngii* with values for their stems of 0.58 (1.16) and 0.60 (2.5)% PTWI, respectively, followed by the caps of *Morchella* spp. and *Agrocybe aegerita*, which were 0.91 (1.9)% and 1.1 (2.8)% PTWI, respectively.

A similar study (Gucia et al., 2011) considered very high consumption levels for mushroom pickers with values of 300– 500g daily for *M. procera*. Based on such assumptions, and depending on the picking zone, Hg intakes might exceed the maximum safety levels, attaining values of 16–87.5% PTWI for consumption of 300 g and even 27.5–145%PTWI for consumption of 500 g considering the consumption of caps. These values of %PTWI are higher than those reported by our study as a consequence of the fact that much lower consumption levels (i.e. 100 g) were considered by our study, in which no mushroom species exceeded 50%PTWI at the 95th percentile.

**Table 3**

Percentage of the Provisional Tolerable Weekly Intake (PTWI) estimated on the Hg content of each analyzed mushroom species.

Species	Anatomic part	%PTWI <sup>a</sup> (per capita)	%PTWI (100 g)
<i>Agrocybe aegerita</i>	Whole	0.12 (0.32) <sup>b</sup>	1.1 (2.9)
	Stem	0.13 (0.34)	1.1 (3.1)
	Cap	0.12 (0.31)	1.1 (2.8)
<i>Amanita caesarea</i>	Whole	0.55 (0.80)	5.0 (7.3)
	Stem	0.29 (0.39)	2.6 (3.6)
	Cap	0.74 (1.1)	6.7 (9.9)
<i>Boletus aereus</i>	Whole	3.3 (5.2)	30 (48)
	Stem	2.4 (4.4)	22 (40)
	Cap	3.5 (5.4)	31 (49)
<i>Cantharellus cibarius</i>	Whole	0.09 (0.27)	0.79 (2.4)
	Stem	0.06 (0.13)	0.58 (1.2)
	Cap	0.10 (0.34)	0.89 (3.0)
<i>Lactarius deliciosus</i>	Whole	0.26 (0.90)	2.3 (8.2)
	Stem	0.17 (0.42)	1.6 (3.8)
	Cap	0.27 (0.98)	2.5 (8.9)
<i>Macrolepiota procera</i>	Whole	1.2 (2.7)	11 (25)
	Stem	0.83 (1.9)	7.5 (17)
	Cap	1.4 (3.2)	12 (29)
<i>Morchella</i> spp.	Whole	0.10 (0.22)	0.91 (2.0)
	Stem	0.10 (0.24)	0.92 (2.2)
	Cap	0.10 (0.21)	0.91 (1.9)
<i>Pleurotus eryngii</i>	Whole	0.07 (0.27)	0.61 (2.5)
	Stem	0.08 (0.22)	0.69 (2.0)
	Cap	0.07 (0.28)	0.60 (2.)
<i>Terfezia arenaria</i>	Whole	0.34 (0.95)	3.1 (8.7)

<sup>a</sup> Provisional Tolerable Weekly Intake (PTWI).

<sup>b</sup> Mean (95th percentile).

#### 4. Conclusions

The results of this study show the relatively high Hg content in wild edible mushrooms in southern Spain even though wide variations were found between species. In addition, our results, based on applying PTWI for Hg, indicated that mushroom picker populations, in which elevated consumption levels can be given ( $\geq 100$  g/week), could be exposed to relatively high Hg levels during mushroom picking season. Thus an exhaustive

quantitative risk assessment study should be carried out that would include other Hg contribution sources from the total diet and consider other risk factors in order to provide a more accurate risk estimate. In addition, consumption surveys are needed to obtain the actual estimates of wild edible mushroom consumption by picker populations. These consumption data, when available, will be crucial to achieve more reliable risk estimates.

## 5. Acknowledgements

This work was funded by EGMASA and Consejería de Medio Ambiente (Junta de Andalucía) through the approved contract NET325686/1.

## 6. References

- Alonso, J., García, M.A., Melgar, M.J., 2005. accumulation of selenium and mercury in edible wild macrofungi. *Revista de Toxicología* 22, 101–105.
- Alonso, J., García, M.A., Pérez-López, M., Melgar, M.J., 2004. Macrofungi as potential bioremediation agent in compost material contaminated with heavy metals. *Revista de Toxicología* 21, 11–15.
- AOAC (Association of Analytical Communities International), 2002. Official Methods of Analysis of AOAC International. Volume I. Method 930.04 Moisture in Plants, Washington, DC, USA.
- Campos, J.A., Tejera, N.A., Sánchez, C.J., 2009. Substrate role in the accumulation of heavy metals in sporocarps of wild fungi. *Biometals* 22, 835–841.
- Cibulka, J., Sisa k, L., Pulkrab, K., Míhlova, D., Sza kova, J., Fuci kova, A., et al., 1996. Cadmium, lead, mercury and caesium levels in wild mushrooms and forest berries from different localities of the Czech Republic. *Scientia Agriculturae Bohemica* 27, 113–129.
- Chen, X.H., Zhou, H.B., Qiu, G.Z., 2009. Analysis of several heavy metals in wild edible mushrooms from regions of China. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 83, 280–285.
- Drewnowska, M., Jarzynska, G., Kojta, A.K., Falandysz, J., 2012. Mercury in European bluishers, *Amanita rubescens*, mushrooms and topsoils: bioconcentration potential and intake assessment. *Journal of Environmental Science and Health Part B: Pesticides, Food Contaminants, and Agricultural Wastes* 47, 466–474.
- Ey, J., Schomig, E., Taubert, D., 2007. Dietary sources and antioxidant effects of ergothioneine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 55, 6466–6474.
- Falandysz, J., Kryszewski, K., 1996. Rte ć w grzybach i substracie spod grzybo w zokolice Polanowic w gminie Gubin, wojewo dztwo zielonogo rskie. *Roczn Pan'stw Zakł Hig* 47, 377–388.
- Falandysz, J., Szajek, L., 1994. Content of mercury in fungi *Agaricus* sp. from the region of Gdansk. *Bromatologia i Chemia Toksykologiczna* 27, 33–36.
- Falandysz, J., Kawano, M., Swieczkowski, A., Brzostowski, A., Dadej, M., 2003. Total mercury in wild-grown higher mushrooms and underlying soil from Wdzydze Landscape Park, Northern Poland. *Food Chemistry* 81, 21–26.
- Falandysz, J., Kryszewski, K., Chwir, A., 1996. Rte ć w jadalnych grzybach z terenu Laso w Koš cierskich i Mierzei Wis lanej. *Roczn Pan'stw Zakł Hig* 47, 206–210.

- Falandysz, J., Kunito, T., Kubota, R., Gucia, M., Mazur, A., Falandysz, J., et al., 2008. Some mineral constituents of parasol mushroom (*Macrolepiota procera*). *Journal of Environmental Science and Health B* 43, 187–192.
- FAO/WHO, 2011. Evaluation of certain contaminants in foods. Joint FAO/WHO expert committee on food additives. Seventy-second meeting, Rome, 16–25 February 2010, [http://whqlibdoc.who.int/trs/who\\_trs\\_959\\_eng.pdf](http://whqlibdoc.who.int/trs/who_trs_959_eng.pdf) (accessed 06.05.12).
- Gómez, J., Moreno, B., Ortega, A., 1993. *Setas del Parque Natural de las Sierras Subbéticas Cordobesas*. Editorial Rueda, Madrid (Spain).
- Gucia, M., Jarzynska, G., Rafal, E., Roszak, M., Kojta, A.K., Osiej, I., Falandysz, J., 2011. Multivariate analysis of mineral constituents of edible Parasol mushroom (*Macrolepiota procera*) and soils beneath fruiting bodies collected from North- ern Poland. *Environmental Science and Pollution Research* 19, 416–431.
- Guillamón, E., García-Lafuente, A., Lozano, M., D'Arrigo, M., Rostagno, M.A., Villares, A., Martínez, J.A., 2010. Edible mushrooms: role in the prevention of cardiovascular diseases. *Fitoterapia* 81, 715–723.
- Herman, J.L., Younes, M., 1999. Background to the ADI/TDI/PTWI. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 30, S109–S113.
- Kalac̣, P., 2010. Trace element contents in European species of wild growing edible mushrooms: a review for the period 2000–2009. *Food Chemistry* 122, 2–15.
- Kalac̣, P., Šlapetová, M., 1997. Mercury contents in fruiting bodies of wild growing edible mushrooms. *Potravinářské Vedy* 15, 405–410.
- Kalac̣, P., Svoboda, L., 2000. A review of trace element concentrations in edible mushrooms. *Food Chemistry* 69, 273–281.
- Kalac̣, P., Wittingerová, M., Stasková, I., Šimaček, M., Bastl, J., 1989. Contents of mercury, lead and cadmium in mushrooms. *Ceskoslovenská Hygiene* 34, 568–576 (in Czech).
- Kalac̣, P., Svoboda, L., Havlíčková, B., 2004. Contents of cadmium and mercury in edible mushrooms. *Journal of Applied Biomedicine* 2, 15–20.
- Llobet, J.M., Domingo, J.L., Castell, V., Gosálbez, P., Timonel, I., Gómez, J., Martí-Cid, R., 2010. Chemical Contaminants: Total Diet Study in Catalonia (Spain) 2005–2007. Agencia Catalana de Seguretat Alimentària, [http://www.gencat.cat/salut/acsa/html/ca/dir1538/cont\\_quim2010/contaminants2010\\_cast.pdf](http://www.gencat.cat/salut/acsa/html/ca/dir1538/cont_quim2010/contaminants2010_cast.pdf) (accessed 30.07.12).
- Ministry of Agriculture, Food, Environment (MAFE), 2012. Alimentación en España- Mercasa 2011, [http://www.munimerca.es/mercasa/alimentacion\\_2011/pdfs/pag\\_130-209\\_Frutas.pdf](http://www.munimerca.es/mercasa/alimentacion_2011/pdfs/pag_130-209_Frutas.pdf) (accessed 02.09.12).
- Moreno, B., Gómez, J., Jiménez, F., Infante, F., 1996. *Setas de Andalucía*. Centro Andaluz del Libro, Sevilla (Spain).
- Pérez, S., Hidalgo, A., Del Llano, J., 2008. Los andaluces frente a la salud y sus determinantes. Fundación Sanofi-Aventis y Fundación Gaspar Casal, [http://imw.es/userfiles/file/Salud/La%20Salud%20de%20los%20Andaluces\\_libro.pdf](http://imw.es/userfiles/file/Salud/La%20Salud%20de%20los%20Andaluces_libro.pdf) (accessed 14.08.12).
- Tchounwou, P.B., Ayensu, W.K., Ninashvili, N., Sutton, D., 2003. Review: Environmental exposure to mercury and its toxicopathologic implications for public health. *Environmental Toxicology* 18 (3) 149–175.

- Thomson, M., Ellison, S.L.R., Wood, R., 2002. Harmonized guidelines for single laboratory validation of methods of 825 analysis (IUPAC Technical Report). *Pure and Applied Chemistry* 74, 835–855.
- WHO (World Health Organization), 2010. Preventing Disease Through Healthy Environments: ACTION is Needed on Chemicals of Major Public Health Concern. WHO-Public Health and Environment, Geneva, Switzerland, [http://www.who.int/ipcs/features/10chemicals\\_en.pdf](http://www.who.int/ipcs/features/10chemicals_en.pdf) (accessed 20.08.12).
- Vetter, J., Berta, E., 1997. Mercury content of some wild edible mushrooms. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und -Forschung A* 205, 316–320.
- Zurera, G., Rincon, F., Arcos, F., Pozo-Lora, R., 1986. Mercury content in mushroom species in the Cordova Area. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 36, 662–667.

## Estudio 2 / Study 2

Wild mushroom consumption by pickers in the south of Spain: a probabilistic approach

Carlos Ostos-Ruiz, Rafael Moreno-Rojas, Susana Ferrer-Bas, Baldomero Moreno-Arroyo, Alicia Moreno-Ortega & Fernando Cámara-Martos

### Abstract

A survey has been made of 300 habitual consumers of the eight species of wild mushrooms most often consumed in the south of Spain. The eight species selected constitute over 95% of the intake of this food in the samples studied. The mean consumption per capita of mushrooms in Spain is of 10.4 kg/year, 8.6 kg of which are consumed during the season, which lasts from between 1 and 3 months. Male pickers from the Huelva province were those who presented the largest intake, their age group being highly influenced by the species. The consumption of each mushroom studied and the total intake were adjusted/fitted to exponential distributions. These distributions could be an effective tool for toxicological or nutritional studies since they permit the evaluation of exposure that makes it possible to calculate the probabilistic risk analysis and the contribution to the reference dietary intake, respectively, for this population group.

Keywords: Wild mushrooms; intake; *Lactarius deliciosus*; *Boletus aereus*; *Cantharellus cibarius*; *Amanita caesarea*; *Tuber melanosporum*; *Macrolepiota procera*; *Terfezia arenaria*; *Agrocybe aegerita*

### 1. Introduction

The identification of vulnerable population groups, or those with special requirements, is of constant concern in the present day world. In addition to the classic groups with special needs, such as children, nursing mothers or expectant women, are elderly people, as well as those with familiar occupational diseases. However, there are some groups which, due to their lifestyles, especially their food habits, may require special attention. This is the case of the Spanish population with its high consumption of fish, that makes it vulnerable to a high intake of mercury (Moreno-Ortega et al. 2017), or the study presented here of wild mushroom pickers, who, given their condition, consume a predictably large amount of this type of food, which, up until now, has not been quantified and nor has its repercussions been assessed.

Wild mushroom picking is widespread all over the world but is of great importance in the south of Europe, where the richness of the species consumed is very high (Moreno et al. 1996). The interest in finding out their composition has been increasing throughout time and numerous articles have been published on the contents of the components and contaminants in wild mushrooms, for both their nutritional and toxicological interest (Kalač 2010). Starting from these data, it has been established that mushrooms have a great capacity to fix inorganic compounds from the environment in which they are found, converting them,

on the one hand, into good contributors of minerals and oligoelements, but at the same time representing a risk of their content of heavy metals if their intake is elevated (Ostos et al. 2015).

Although studies are being made that propose the replacement of meat protein by that supplied by mushrooms for its satiating effect (Hess et al. 2017), the truth is that their toxicological effects could be more of a concern and, specifically, those of heavy metals, given that the latter have harmful effects on human health (Wang et al. 2015).

If we take notice of the official data provided by the Ministry of Agriculture, Fishing, Food and Environment of the Spanish government (MAGRAMA 2017), wild mushroom consumption in Spain is of 3.0 g/day, but as reported in the research by O'Neil et al. (2013), in the U.S.A., according to the NHANES study, there may be highly differentiated consumption patterns among the general population and groups which habitually consume mushrooms, which may mean multiplying by 10 that average consumption. Obviously, both the official data and most research work exclusively evaluate mean consumption but do not calculate high consumption, or, at best, they do so in the form of arbitrary scenarios (Choi et al. 2012a,b; Nharingo et al. 2015).

Also, although several initiatives exist in the administrations to attempt to register wild mushroom pickers in certain regions, especially from the point of view of controlling clandestine mushroom sellers, to inform them on toxic species and encourage sustainable picking, there are currently no official data available on a mushroom picker census. Only some partial data on mycology associations exist and they do not include the total number of pickers and, being private entities, the administration does not have any element of control or census information on their members.

In the end, given the complexity of gaining access to representative samples of the collective, and the inherent difficulties in acquiring consumption data of wild mushroom picking groups, there is currently no information on that consumption. For that reason, some studies have resorted to making an arbitrary estimation of the amounts consumed with no scientific bases to substantiate the figures used (Sun et al. 2016), not consolidating those amounts for their authenticity but for the recurring reference to them taken from classic studies, in which wild mushroom consumption was not established scientifically (Khani et al. 2017).

For all the above, the objective of this study was to establish a consumer distribution of the principal wild mushrooms ingested in the south of Spain, by means of the evaluation of the frequency of their consumption of a representative sample of wild mushroom pickers and fitted by probabilistic methods to the population consumption of that group. The distributions obtained could permit an evaluation of the contribution to the reference dietary intake of the nutrients supplied by the mushrooms and, above all, to assess the intake risk of heavy metals in the collector population by a probabilistic risk analysis.

## 2. Materials and methods

### 2.1. Description of the target population

Given the absence of official censuses on the population of wild mushroom pickers in Spain, a survey was made on the general population, by quotas, which were fitted by gender and ages to the Spanish population pyramid (INE, 2017). In this survey, the question asked was simply whether the person collected wild mushrooms. The result of the 400 surveys made on the general population gave the result that 3.3% of the population declared that they were. This established and permitted the calculation of the volume of the population affected by our evaluation.

There are no official censuses of wild mushroom pickers and a low incidence of them in the general population. So, as the mycological activity is usually carried out individually and in places where it is difficult to access them interviewing, it was decided to perform the survey at mycology events, which a large proportion of mushroom collectors periodically attend, and which take place all over the south of Spain, thus permitting data to be obtained from geographically disparate places.

### 2.2. Survey design

#### *Consulting experts*

To design the survey, several meetings were held with various mycological associations in Andalusia (southern Spain), wild mycology researchers and members of public institutions related to the environment and mycological activity. From the information obtained, it was decided to focus the consumption frequency study on only 12 species (*Lactarius deliciosus*, *Boletus aereus*, *Cantharellus cibarius*, *Amanita caesarea*, *Tuber melanosporum*, *Macrolepiota procera*, *Terfezia arenaria*, *Agrocybe aegerita*, *Pleurotus eryngii*, *Terfezia clavaryii*, *Choiromyces gangliformis* and *Tricholoma terreum*), the first 8 for their gastronomic interest and the last 4 for being edible species emerging in the area. Exhaustive questions were asked about all of them. However, a section was incorporated in which the interviewees could give information freely on the frequency of their consumption of up to 3 more wild mushroom species, on the basis of habitually consuming them.

Similarly, the use of photographs or other types of models to estimate personal consumption of mushrooms was discarded. This was because of the heterogeneity in the size of some mushrooms and, especially, of evidence that the datum of the rate of consumption is usually determined by the collectors due to their practice of weighing the mushrooms and, therefore, having a good estimation of their intake. The weight of the mushrooms harvested is a customary way to evaluate a day of picking, or the mycological richness of the area, and it is used by collectors to comment on their acquisitions.

A pilot survey was carried out at a mycology event held in Constantina. It had several objectives: to train the interviewers who would later conduct the definitive survey, to establish the degree of understanding of the questions asked, and to evaluate questions for which the interviewees might show reluctance, difficulties or simply not give any relevant information.



### 2.3. Survey questionnaire

When deciding on the means of applying the survey designed, we rejected recorded media and self-administered questionnaires, which, for their convenience, seemed at first to be suitable. That was because among the mushroom collectors there were those who, to a great extent, were found in rural populations and their degree of literacy and handling of information technology are not very strong. Also, the wild mushroom collector is usually a person who is reluctant to give any information, in order to prevent any possible intrusion in his/her picking site. Added to this is the lack of any contact data for the distribution of the questionnaire that would result in a biased sampling.

To conduct the survey designed, it was opted to attend the mycological events that are held periodically and are organized by the diverse mycological societies in existence. At these events, the survey was carried out personally by the interviewers trained as per above.

The survey was structured in two sections, on the one hand corresponding to socio-demographic data for the classification of the interviewees, and on the other, on the consumption of wild mushrooms. The socio-demographic data obtained were: gender, age, body weight, being a habitual collector, family environment, place of provenance and customary collection areas.

The mushroom consumption data were differentiated according to which members of the family consumed them and which one consumed the most.

Wild mushrooms are seasonal with a relatively short picking time. However, the collectors frequently conserve them either by drying or freezing. For that reason, they were asked the amount that they consumed during the season or outside the season.

Given that the content of inorganic elements in the stalk and cap may be quite different (Moreno-Rojas et al. 2004), they were asked which part of each mushroom they usually consumed.

### 2.4. Compilation and computer processing

A total of 340 surveys at different mycological events were acquired throughout Andalusia. Three hundred of these were selected for analysis as they were complete in all the items. The number of interviewees was sufficient according to the sampling size calculated (267) for a 95% confidence level and 5% precision.

To calculate the frequency distributions, a specific distribution programme called DecisionTools Suite v.7, in its specific risk analysis component @Risk, was used. Basically, a set of individual data is supplied on which the probabilistic distribution best fitting these data is assessed. For this purpose, what @Risk does is to generate random data based on the initial ones by means of diverse algorithms, the one most used in the scientific literature being Monte-Carlo, the one employed in our study. The parameters established for the generation of the fits to the distributions derived from the primary data were those offered by default by the software, or those included as being habitual in the bibliography consulted (Morales et al. 2011)

The simulation in @Risk for the frequency distribution calculation was configured with 100,000 interactions and by applying the Monte Carlo random distribution numbers. The type of sampling was Latin Hypercube and the generator Mersenne Twister, with a random initial seed.

A statistical study has been made using the General Linear Model for the annual consumption of each species studied, the joint intake of the eight mushrooms (the total studied) and the total of mushrooms consumed (absolute total), using classification factors like gender, age group, province, the collector, length of time they have been collecting, and the family of pickers. We then performed a statistical study to assess the effect of these factors on the possible ingestion of mushrooms, using SPSS v20 software.

### 3. Results

The interviewees were mostly men (69.3%) of between 25 and 50 years (56.7%). Habitual collectors (81.0%), with relatives who were collectors (60.0%), they had been picking mushrooms for over 10 years (80.1%) and their average weight was 74 kg (79 kg in men and 63 kg in women).

With regard to general consumption information, 95.3% declared that the whole family consume the mushrooms that they collect. 58.4% reported a similar consumption by each member of the family, whereas the rest said that the greatest consumer in the family was the collector himself/herself. This datum is of great interest when estimating a future exposure to different heavy metals or other contaminants in identifying the principal mushroom consumers, i.e. the population most at risk.

It was proven that the consumption of *P. eryngii*, *T. clavaryii*, *C. gangliformis* and *Tricholoma terreum* was completely anecdotal, so that they were not included in the statistical study or in the calculations of the probabilistic fit, and were added to 'the ingestion of other mushrooms', together with those that the interviewees had indicated openly.

Therefore, the individualised statistical study and the probabilistic fits were focused on the eight species consumed most: *L. deliciosus*, *B. aereus*, *C. cibarius*, *A. caesarea*, *T. melanosporum*, *M. procera*, *T. arenaria* and *A. aegerita*. Table 1 shows the average consumption of each of the mushrooms studied, with the heading 'others' corresponding to the rest of the species not expressly mentioned in the study. In the survey, the species in order of consumption are: *L. deliciosus*, *B. aereus*, *C. cibarius*, *A. caesarea*, *T. melanosporum*, *M. procera*, *T. arenaria* and *A. aegerita*. The total average intake of the eight mushrooms surveyed was 9.99 kg/year and if those not directly surveyed are added, it reaches 10.43 kg/year. This difference of 0.44 kg/year, due to the total mushrooms not directly studied, is a smaller amount than that contributed by the one least consumed out of those investigated, and corresponds to less than 5% of the total amount of mushrooms consumed. This confirms that the selection of mushrooms made was the correct one and that, for an individualised study of the effect of consuming specific mushrooms, it would not be necessary to take into account this group.

Another datum included in the survey is the amount of each species consumed during the season and outside it, 83% of the intake occurring during the season. However, there

are differences between species since some of them come near to 90%, such as the case of *A. aegerita*, *M. procera* or *A. caesarea*, whereas for others it is around 75%, i.e. *B. aereus* or *T. melanosporum*. Considering that most of the mushrooms are collected during short periods (sometimes of under one month), this signifies that, in the cases of conveying some type of toxic substance (e.g. heavy metals), in addition to the risk of chronic poisoning, an acute onset with a consumption of over 1400 g/week witnessed in the survey should be taken into account.

**Table 1.** Consumption of different mushroom species studied and other mushrooms consumed (mean  $\pm$  DT) (kg/year).

Species	Intake
<i>Agrocybe aegerita</i>	0.64 $\pm$ 1.892
<i>Amanita caesarea</i>	1.19 $\pm$ 2.352
<i>Boletus aereus</i>	1.44 $\pm$ 3.187
<i>Cantharellus cibarius</i>	1.20 $\pm$ 2.766
<i>Lactarius deliciosus</i>	2.51 $\pm$ 4.019
<i>Macrolepiota procera</i>	1.08 $\pm$ 2.091
<i>Terfezia arenaria</i>	0.69 $\pm$ 1.930
<i>Tuber melanosporum</i>	1.16 $\pm$ 2.894
Others	0.44 $\pm$ 2.534
Total	10.43 $\pm$ 12.956

With regard to the anatomical parts of the mushrooms consumed (Table 2), 64% report consuming the whole mushroom, 35% only the cap and, only incidentally, the stem. There are obviously variations per species, *C. cibarius* being consumed whole by over 98% of the interviewees, and, conversely, 75% of the consumers only eat the cap of *M. procera*. Given the different accumulation capacity of metals in stem and cap (Moreno-Rojas et al. 2004) depending on the species, this should be taken into account in the risk analyses.

**Table 2.** Consumption declared by pickers of anatomical parts of the mushrooms studied.

Species	Whole (%)	Cap (%)	Tip (%)
<i>Agrocybe aegerita</i>	48	49	3
<i>Amanita caesarea</i>	61	39	0
<i>Boletus aereus</i>	82	16	2
<i>Cantharellus cibarius</i>	98	2	0
<i>Lactarius deliciosus</i>	59	40	1
<i>Macrolepiota procera</i>	25	75	0
<i>Terfezia arenaria</i>	87	9	4
<i>Tuber melanosporum</i>	65	33	3
Total	64	35	1

As can be seen in Table 1, in general terms the variability is very high. This is because not all the mushrooms are accessible to all the collectors, or are to their liking, so that some interviewees declared that they do not consume certain species that in their geographical area are less abundant.

On the basis of the statistical study using SPSS v.20, the time that the individual had spent in collecting mushrooms was not significant for the consumption of any of the species of mushroom studied either, individually or totally ( $p > 0.05$ ). The age group of the pickers only affected the consumption of *B. aereus* ( $p < 0.001$ ) and *A. caesarea* ( $p < 0.05$ ). The Tukey homogeneity of means a posteriori test ( $p < 0.05$ ) indicates a consumption gradient for the case of *B. aereus*, i.e. the older the collector the higher the gradient; however, for *A. caesarea*, the effect was the opposite, with a greater consumption in consumers under 25 years, and similar in the other two groups of older ones (Table 4).

Having some member of the family as a collector means larger intakes of all the mushrooms studied and of the total consumption compared to those who did not. However, those differences were not always statistically significant ( $p < 0.05$ ),

Being a collector lead to a larger consumption for all the species studied, and therefore on the total, but this was only significant ( $p < 0.01$ ) in *M. procera* and both totals, and with a lower level of significance ( $p < 0.05$ ) for *A. caesarea*, *C. cibarius* and *L. deliciosus*.

Finally, the province where the consumer resided produced differences in consumption of almost all the mushrooms, although they were not significant ( $p > 0.05$ ) for *A. aegerita* and *M. procera*; there was a low level of significance ( $p < 0.05$ ) for *B. aereus* (the largest consumer group is in Huelva and Cádiz) and *T. arenaria* (consumed most in Almería and Huelva); with an intermediate level of significance ( $p < 0.01$ ) for *L. deliciosus* (largest consumption groups in Almería, Granada and Huelva); and with a high level of significance ( $p < 0.001$ ) for *A. caesarea* (largest consumption in Huelva), *C. cibarius* (largest consumption in Cádiz), *T. melanosporum* (largest consumption in Almería and Huelva), in the total consumption (largest consumption in Huelva). In all the cases, the groups with the largest consumption per province indicated correspond to the homogeneous groups made with the Tukey test ( $p < 0.05$ ).

**Table 3.** Percentiles of the consumption of different mushroom species studied and total intake (kg/year).

Percentile	<i>Agrocybe aegerita</i>	<i>Amanita caesarea</i>	<i>Boletus aereus</i>	<i>Cantharellus cibarius</i>	<i>Lactarius deliciosus</i>	<i>Macrolepiota procera</i>	<i>Terfezia arenaria</i>	<i>Tuber melanosporum</i>	Eight mushrooms	Total
1	0.004	0.008	0.010	0.008	0.017	0.007	0.005	0.008	0.066	0.070
5	0.031	0.057	0.069	0.057	0.120	0.052	0.033	0.056	0.474	0.500
10	0.066	0.121	0.147	0.122	0.256	0.110	0.070	0.118	1.009	1.064
15	0.102	0.189	0.229	0.190	0.399	0.171	0.109	0.185	1.574	1.660
20	0.141	0.262	0.316	0.263	0.551	0.237	0.151	0.255	2.174	2.292
25	0.182	0.338	0.408	0.340	0.713	0.306	0.195	0.330	2.812	2.965
30	0.227	0.420	0.507	0.422	0.886	0.380	0.242	0.410	3.495	3.685
35	0.274	0.509	0.614	0.511	1.071	0.460	0.293	0.496	4.228	4.457
40	0.326	0.604	0.729	0.607	1.272	0.546	0.348	0.589	5.019	5.292
45	0.381	0.707	0.854	0.711	1.490	0.640	0.407	0.690	5.880	6.199
50	0.443	0.821	0.990	0.824	1.729	0.743	0.473	0.801	6.823	7.193
55	0.510	0.946	1.142	0.950	1.993	0.856	0.545	0.923	7.865	8.292
60	0.586	1.086	1.311	1.091	2.288	0.983	0.626	1.060	9.030	9.520
65	0.671	1.245	1.502	1.251	2.623	1.127	0.717	1.215	10.351	10.913
70	0.770	1.429	1.724	1.435	3.009	1.293	0.823	1.394	11.875	12.520
75	0.887	1.645	1.986	1.653	3.466	1.489	0.948	1.605	13.678	14.422
80	1.030	1.911	2.306	1.920	4.025	1.729	1.101	1.864	15.885	16.748
85	1.215	2.253	2.719	2.263	4.746	2.039	1.298	2.198	18.731	19.748
90	1.475	2.736	3.301	2.748	5.763	2.475	1.575	2.669	22.741	23.977
95	1.920	3.560	4.296	3.576	7.500	3.221	2.050	3.473	29.597	31.205
99	2.952	5.475	6.607	5.500	11.534	4.954	3.153	5.341	45.515	47.988

### Fits of the distributions

It was verified that both for the mushroom species studied individually and the total, the exponential was obtained as the best adjustment/fit for all the tests used which were: Akaike information criterion (AIC), Bayesian information criterion (BIC), the Chi-squared and the Kolmogorov–Smirnov statistics. Its frequency distribution was adjusted using @Risk software. The exponential distribution of the total consumption is shown in Figure 1, in which it can be seen how 5% of the population of habitual mushroom consumers eat over 31 kg/year, which should be borne in mind for future studies on the analysis of hazard from heavy metals in this group of the population at risk. Table 3 shows the percentiles for each species and consumption totals, obtained from exponential distributions. With this table, it will be possible to simulate intake scenarios of these mushrooms to contrast them with contaminant content data and make risk evaluations.

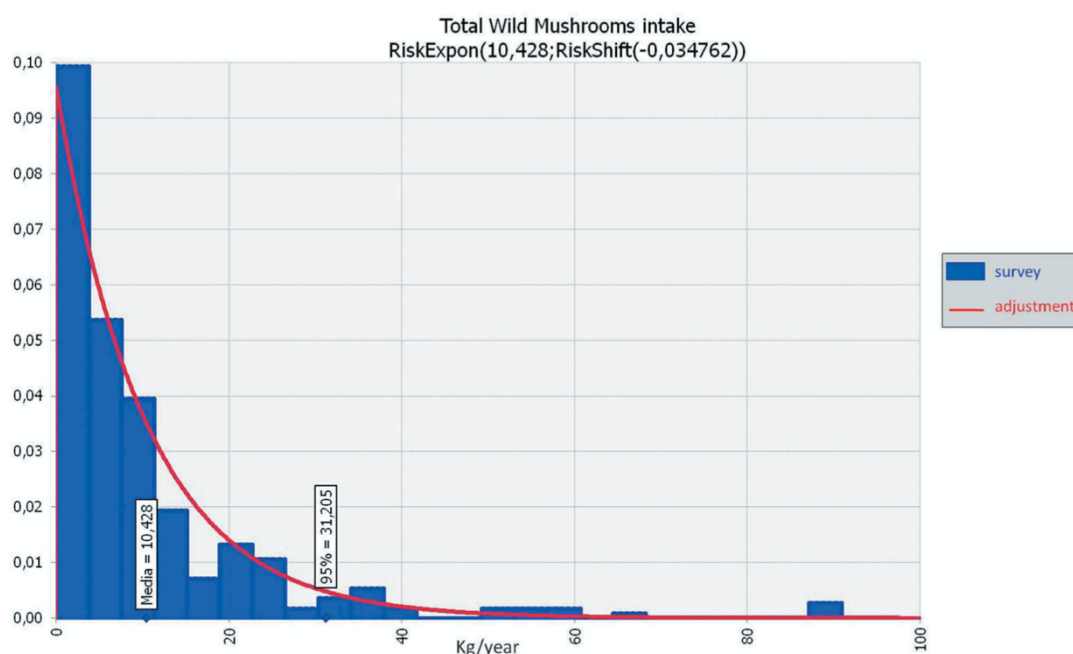


Figure 1. Distribution of frequencies and population adjustment of the total consumption of mushrooms in collectors.

Table 4. Significance levels obtained using the General Linear Model (SPSS v20) for the annual consumption of each species studied, the joint intake of the eight mushrooms (the total studied) and the total of mushrooms consumed (absolute total).

	Sex	Age group	Province	Collector	Time spent	Collector family
<i>Agrocybe aegerita</i>	0.260	0.307	0.169	0.363	0.277	0.043
<i>Amanita caesarea</i>	0.004	0.030	0.000	0.027	0.084	0.178
<i>Boletus aereus</i>	0.021	0.000	0.013	0.639	0.150	0.280
<i>Cantharellus cibarius</i>	0.045	0.802	0.000	0.048	0.555	0.260
<i>Lactarius deliciosus</i>	0.004	0.278	0.005	0.014	0.830	0.015
<i>Macrolepiota procera</i>	0.109	0.130	0.219	0.007	0.313	0.040
<i>Pleurotus eryngii</i>	0.398	0.859	0.044	0.311	0.860	0.733
<i>Terfezia arenaria</i>	0.304	0.421	0.045	0.124	0.059	0.113
<i>Tuber melanosporum</i>	0.106	0.271	0.000	0.770	0.246	0.891
Total studied	0.002	0.069	0.000	0.008	0.054	0.020
AbsoluteTotal	0.002	0.061	0.000	0.007	0.059	0.015

## 4. Discussion

There is currently no real information on the consumption of wild mushrooms and the extrapolation of consumption to the general public would be skewed, as was deduced in this research. For nutritional or toxicological studies, arbitrary amounts are assumed, as in the case of Hess et al. (2017), who used portions of 226 g to replace the habitual meat intake, or Du et al. (2017) who, according to dietary guidelines in China, found that the dietary intake for vegetables (including mushrooms) is less than 0.35 kg daily. It is also customary to use an ‘assumed intake’ of 300 g/day proposed by Kalač and Svoboda (2000); Svoboda et al. (2000) and used by Khani et al. (2017), without specifying how that amount has been obtained.

O’Neil et al. (2013), taking data from the NHANES study of 2010–2013, identify two groups of ‘mushroom consumers’ representing between 1.9 and 9.7% of the population of the U.S.A, in terms of what is defined as being a consumer of dishes mainly composed of mushrooms or with them. That range could include what in our study we have identified as collector population (3.3%). The consumption data given in this study correspond to between  $20.6 \pm 0.8$  and  $39.5 \pm 2.6$  g daily (according to the definition used by the consumer), which is comparable to those obtained in our study of  $28.6 \pm 35.5$  g/day. Also, the data given for the general population, indicated by O’Neil as being of between 0.9 and 2.3 g/day, agree with those reported by MAGRAMA (2017) of 3.5 and 3.0 g/day for the consumption of champignons and other mushrooms in Spain and Andalusia (southern Spain). The proportionality in the O’Neil (2013) study and in ours between the general public and consumers (collectors) is similar, with around 10 times greater consumption in the latter. This evidences the need to characterize this population group that is possibly more at risk due to its intake of heavy metals or other contaminants, as reported in numerous publications (Siisiäâk 1996).

## 5. Conclusions

It can be concluded that wild mushroom pickers and their families make up a population group with a larger mushroom consumption than the general population and they had not been characterized up to now. The consumption of this kind of product in the population studied is of an exponential type. It becomes necessary to describe the function of density, or, for an easier management, the consumption percentiles. Given that the combined consumption of several species by the collector is customary, the presentation of results in the form of percentiles, individualized and jointly, could be very helpful for risk analyses.

We consider that, with the data supplied for the consumption of wild mushrooms, an adequate evaluation could be made of the risk from them of heavy metal intake, or of their contribution to the reference dietary intake of certain nutrients.

### Disclosure statement

No potential conflict of interest was reported by the authors.

## Funding

This work was funded by EGMASA and Consejería de Medio Ambiente (Junta de Andalucía) through the approved contract NET325686.

## ORCID

Rafael Moreno-Rojas <http://orcid.org/0000-0003-3134-7392>

Susana Ferrer-Bas <http://orcid.org/0000-0002-6437-1244>

Alicia Moreno-Ortega <http://orcid.org/0000-0002-2892-4294>

Fernando Cámara-Martos <http://orcid.org/0000-0003-1171-1062>

## 6. References

- Choi H, Park SK, Lee BN, Kim M. 2012a. Risk assessment of lead and cadmium through mushrooms. *Korean J Food Sci Technol.* 44:666–672.
- Choi H, Park SK, Lee BN, Kim M. 2012b. Risk assessment of arsenic and mercury in mushrooms. *Korean J Food Sci Technol.* 27:388–394.
- Du P, Wu X, He H, Zhang Y, Xu J, Dong F, Zheng Y, Liu X. 2017. Evaluation of the safe use and dietary risk of beta- cypermethrin, pyriproxyfen, avermectin, diflubenzuron and chlorothalonil in button mushroom. *Sci Rep.* 7 (1):8694.
- Hess JM, Wang Q, Kraft C, Slavin JL. 2017. Impact of *Agaricus bisporus* mushroom consumption on satiety and food intake. *Appetite.* 117:179–185.
- Instituto Nacional de Estadística (INE). 2017. España en cifras; consultado el 2017 Dec 27. [http://www.ine.es/prody ser/espa\\_cifras/2017/index.html](http://www.ine.es/prody ser/espa_cifras/2017/index.html).
- Kalač P. 2010. Trace element contents in European species of wild growing edible mushrooms: a review for the period 2000–2009. *Food Chem.* 122:2–15.
- Kalač P, Svoboda L. 2000. A review of trace element concentrations in edible mushrooms. *Food Chem.* 69:273–281.
- Khani R, Moudi M, Khojeh V. 2017. Contamination level, distribution and health risk assessment of heavy and toxic metallic and metalloid elements in a cultivated mushroom *Pleurotus florida* (Mont.) singer. *Environ Sci Pollut Res.* 24:4699–4708.
- [MAGRAMA] Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente. 2017. Consumo en hogares de julio 2016 a junio 2017 del grupo desagregado de patatas y hortalizas; consultado el 2017 Dec 27. [mapama.gob.es/es/alimentacion/temas/consumo-y-comercializacion-y-distribucion-alimentaria/panel-de-consumo-alimentario/base-de-datos-de-consumo-en-hogares/resultado1.asp](http://mapama.gob.es/es/alimentacion/temas/consumo-y-comercializacion-y-distribucion-alimentaria/panel-de-consumo-alimentario/base-de-datos-de-consumo-en-hogares/resultado1.asp).
- Morales JSS, Rojas RM, Pérez-Rodríguez F, Casas AA, López MAA. 2011. Risk assessment of the lead intake by consumption of red deer and wild boar meat in southern Spain. *Food Addit Contam Part A.* 28:1021–1033.
- Moreno B, Gómez J, Jiménez F, Infante F. 1996. *Setas de Andalucía.* Sevilla (Spain): Centro Andaluz del Libro.

- Moreno-Ortega A, Moreno-Rojas R, Martínez-Álvarez JR, González Estecha M, Castro González NP, Amaro López MÁ. 2017. Probabilistic risk analysis of mercury intake via food consumption in Spain. *J Trace Elem Med Biol.* 43:135–141.
- Moreno-Rojas R, Díaz-Valverde MA, Arroyo BM, González TJ, Capote CJB. 2004. Mineral content of gurumelo (*Amanita ponderosa*). *Food Chem.* 85:325–330.
- Nharingo T, Ndumo T, Moyo M. 2015. Human health risks due to heavy metals through consumption of wild mushrooms from Macheke forest, Rail Block forest and Muganyi communal lands in Zimbabwe. *Environ Monit Assess.* 187:738.
- O’Neil CE, Nicklas TA, Fulgoni VL. 2013. Mushroom intake is associated with better nutrient intake and diet quality: 2001–2010 National Health and Nutrition Examination Survey. *J Nutr Food Sci.* 3:5.
- Ostos C, Pérez-Rodríguez F, Arroyo BM, Moreno-Rojas R. 2015. Study of mercury content in wild edible mushrooms and its contribution to the Provisional Tolerable Weekly Intake in Spain. *J Food Compos Anal.* 37:136–142.
- Šišiaák L. 1996. The importance of forests as a source of mushrooms and berries in the Czech Republic. *Mykologický Sborník.* 73:98–101
- Sun J, Zhang J, Zhao YL, Wang YZ, Li WY. 2016. Arsenic, cadmium and lead in sclerotia of *Wolfiporia extensa* of Yunnan, China. *Food Addit Contam Part B.* 9:106–112.
- Svoboda L, Zimmermannová K, Kalač P. 2000. Concentrations of mercury, cadmium, lead and copper in fruiting bodies of edible mushrooms in an emission area of a copper smelter and a mercury smelter. *Sci Total Environ.* 246:61–67.
- Wang T, Feng W, Kuang D, Deng Q, Zhang W, Wang S, He M, Zhang X, Wu T, Guo H. 2015. The effects of heavy metals and their interactions with polycyclic aromatic hydrocarbons on the oxidative stress among coke-oven workers. *Environ Res.* 140:405–413.





80

Hg

Capítulo V  
Chapter V

Discusión / Discussion



## Discusión

En la investigación que hemos realizado sobre la bibliografía publicada hasta la fecha, se ha evidenciado la falta de datos sobre el contenido de mercurio de muchas de las especies de hongos silvestres comestibles que se pueden encontrar en Andalucía. Tenemos datos sobre *Boletus aereus* (2-5 mg/kg peso seco), *Cantharellus cibarius* (0.012-0.25 mg/kg peso seco), *Lactarius deliciosus* (0.18-1 mg/kg peso seco), *Macrolepiota procera* (0.5-10 mg/kg peso seco) y *Morchella esculenta* (<0.5 mg/kg peso seco).

La exposición al mercurio ha sido identificada como una seria amenaza para la salud pública, siendo considerada por la OMS como uno de los diez elementos principales a tener en cuenta. Es por eso que la identificación de grupos de población vulnerables o con necesidades especiales es una preocupación constante en el mundo actual, sin embargo, existen algunos colectivos que, por sus hábitos alimentarios, pueden requerir una atención especial, como es el caso de los recolectores de setas silvestres, los cuales tienen unos hábitos de consumo que difieren del resto de la población y no se les tiene en cuenta para determinar los umbrales recomendados.

La recolección de setas silvestres comestibles es una actividad muy extendida y que involucra a un gran número de consumidores en toda España y sur de Europa, lo que, sumado a los beneficios nutricionales de las mismas, ha hecho crecer notablemente su consumo durante los últimos años.

En consecuencia, el objetivo de este estudio fue determinar el contenido de Hg en diferentes especies seleccionadas de hongos silvestres comestibles recolectados en Andalucía y evaluar el nivel de exposición de las poblaciones de recolectores de hongos utilizando el criterio de seguridad bien reconocido Provisional Tolerable Weekly Intake (PTWI) para Hg.

Se analizaron por separado las concentraciones en pie y sombrerillo de las siguientes especies: *Agrocybe aegerita*, *Amanita caesarea*, *Boletus aereus*, *Cantharellus cibarius*, *Lactarius deliciosus*, *Macrolepiota procera*, *Morchella* spp., *Pleurotus eryngii* y *Terfezia arenaria*

Los niveles de concentración mínima y máxima fueron  $0.09 \pm 0.08$  y  $10.28 \pm 2.92$  mg / kg de peso seco, que correspondieron a *Terfezia arenaria* (pieza completa al ser una trufa) y a *Boletus aereus* (sombrerillo), respectivamente.

Cuando no se distingue entre parte anatómica los resultados más altos fueron de nuevo para *Boletus aereus* (9.19 mg / kg de peso seco), seguida de *Macrolepiota procera* (2,43 mg / kg de peso seco) y *Amanita caesarea* (1,42 mg / kg de peso seco), el resto de las especies analizadas presentaron valores de concentración que oscilaron entre 0.09 y 0.49 mg / kg de peso seco; estos valores corresponden a *Terfezia arenaria* y *Lactarius deliciosus*, respectivamente.

Comparando los resultados obtenidos con los reportados por otros estudios para la concentración de mercurio, encontramos que para *Boletus aereus* ( $10,28 \pm 2,92$  mg / kg de peso seco) nuestros resultados fueron mucho más altos que el resto, mientras que para *Macrolepiota procera* están en concordancia con los encontrados en la bibliografía.

A nivel general, el contenido de Hg era significativamente mayor en el sombrero que en el pie de las setas analizadas, sin embargo, solo tres especies mostraron diferencias significativas entre ambas partes anatómicas, con niveles que oscilan entre 1.5 mg / kg de peso seco de media para *Amanita caesarea* y *Macrolepiota procera*, y de 2 mg / kg de peso seco más altos en el sombrero para *Boletus aereus*. Estas diferencias de concentración entre la parte anatómica de la seta que se considere para evaluar el riesgo del consumo de las mismas es importante, ya que las costumbres o tradiciones culinarias de cada región específica pueden diferir en cuanto a qué parte del hongo se cuece y se consume.

Existen multitud de factores que pueden influir en el grado de fijación del mercurio por una misma especie de seta, entre los que destaca sobre los demás el nivel de contaminación de la zona geográfica donde se recolectan, de ahí las horquillas tan amplias de concentración que se dan entre los diferentes estudios.

Para darle una dimensión mayor a los resultados obtenidos en nuestro estudio, si los comparamos con alimentos con los que los hongos están tradicionalmente relacionados como son las verduras, e incluso englobados en el mismo grupo en las encuestas nacionales de consumo, el contenido medio de Hg para las verduras correspondió a 0,004 mg / kg de peso seco, muy por debajo de los niveles encontrados en las setas analizadas, lo que demuestra que las setas silvestres son una fuente importante de Hg en nuestra dieta en comparación con otros productos alimenticios.

Para estimar la contribución de las setas estudiadas a la ingesta de Hg mediante el % de la PTWI, y ante la falta de datos de consumo específicos, se utilizó el consumo semanal per cápita de setas cultivadas de la población española según Ministerio de Alimentación, Agricultura y Medio Ambiente (MAFE), que correspondió a 0,011 kg / persona / semana, expresado en peso húmedo. Usando valores promedios de concentración de Hg el resultó osciló entre 0.06 y 3.5% de PTWI para las diferentes especies de hongos analizadas, cuando se utilizó el percentil 95 de las concentraciones de Hg obtenidas en nuestro estudio, la contribución aumentó ligeramente hasta el rango de 0,13 a 5,4% PTWI.

Las partes de los hongos que más contribuyeron a la PTWI fueron el sombrerillo de *Boletus aereus* y *Macrolepiota procera*, con valores de 3.5 (95: 5.4) y 1.4 (95: 3.2) % PTWI, respectivamente. En contraste, el sombrero de *Cantharellus cibarius* y *Pleorotus eryngii* mostró la menor contribución, con valores de 0.06 (0.13) y 0.07 (0.28) % ISTP, respectivamente.

Cuando supusimos un valor de consumo más elevado, de 100 g de peso fresco, la contribución de los hongos a la ingesta de Hg osciló entre 0,58 y 31% para los valores medios y entre 1,16 y 49% cuando se utilizó el percentil 95. Los valores para *Boletus aereus* y *Macrolepiota procera* fue de 31 y 12 (49% y 29% PTWI), respectivamente.

En último lugar, y basándonos en otros estudios realizados, subimos el valor de consumo hasta los 300 y 500 g diarios para *Macrolepiota procera*, alcanzando valores de 16-87,5% y de 27,5-145% PTWI respectivamente.

Ante la falta de datos concretos sobre patrones de consumo entre la población recolectora en Andalucía, se realizó una encuesta entre 300 consumidores habituales de las ocho especies de setas silvestres más consumidas en Andalucía, obteniendo el siguiente orden de consumo: *Lactarius deliciosus*, *Boletus aereus*, *Cantharellus cibarius*, *Amanita caesarea*, *Tuber melanosporum*, *Macrolepiota procera*, *Terfezia arenaria* y *Agrocybe aegerita*. La

ingesta media total fue de 9,99 kg / año y si se suman los no encuestados directamente llega a 10,43 kg / año, de los cuales 8,6 kg se consumen durante la temporada (1 y 3 meses). Con respecto a las partes anatómicas el 64% reporta consumir el hongo completo, el 35% solo el sombrero y, solo de manera puntual el pie.

También se pudo evidenciar que el 5% de la población de consumidores habituales de hongos consume más de 31 kg / año, lo que conviene tener en cuenta para futuros estudios de análisis de peligrosidad.

De nuestro estudio podemos deducir que la extrapolación del consumo real de setas silvestres al público en general estaría sesgada, como se deduce en esta investigación.

Al comparar los datos de consumo obtenidos en nuestro estudio de  $28,6 \pm 35,5$  g / día, con los reportados por MAGRAMA es 2017 de 3,5 y 3,0 g / día para el consumo de champiñones y otros hongos en España, vemos que la diferencia entre recolectores y público general es 10 veces mayor en nuestro caso, lo que evidencia la necesidad de caracterizar a este grupo de población que posiblemente se encuentra en mayor riesgo por su ingesta de metales pesados u otros contaminantes. Además, es importante resaltar que tanto los datos oficiales como la mayoría de los trabajos de investigación evalúan exclusivamente el consumo medio durante el año, pero no calculan el consumo elevado que se puede dar en un período concreto del año.

Ya que el consumo de setas en la población estudiada es de tipo exponencial, se hace necesario describir la función de densidad o los percentiles de consumo, y como es habitual que se de un consumo combinado de varias especies por parte del recolector, la presentación de resultados en forma de percentiles, individualizados y en conjunto, podría ser de gran ayuda para los análisis de riesgo.



80

Hg

Capítulo VI

Chapter VI

Conclusiones / Conclusions





## Conclusiones

**CONCLUSIÓN 1:** Existen determinadas especies de setas silvestres recolectadas en Andalucía que presentan niveles importantes de metales pesados, como el mercurio, como es el caso de *Boletus aereus* de 10.28 + 2.92 mg/kg de DW (peso seco).

**CONCLUSIÓN 2:** El consumo de setas silvestres por el colectivo de recolectores de setas de Andalucía, y su entorno más cercano, muestran una diferencia considerable con la población general, y además se da una estacionalidad del mismo, concentrándose casi todo el consumo en 1-3 meses, coincidiendo con los meses de recolección, llegando a alcanzar valores de 8.6 kg/temporada.

**CONCLUSIÓN 3:** Basándonos en los datos de concentración y consumo obtenidos en el desarrollo de la presente tesis, podemos concluir que existen determinadas especies de setas silvestres en Andalucía con una importante contribución de Hg a la dieta de los recolectores de setas y su entorno, sobrepasando la admisión semanal tolerable y su consecuente riesgo para la salud.



80

Hg

Capítulo VII  
Chapter VII

Bibliografía / References



## Bibliografía no incluida en los artículos

- AMAP/UNEP. (2008). Technical Background Report to the Global Atmospheric Mercury Assessment. Arctic Monitoring and Assessment Programme/UNEP Chemicals Branch 2008. Disponible en URL: [www.chem.unep.ch/mercury/Atmospheric\\_Emissions/Technical\\_background\\_report.pdf](http://www.chem.unep.ch/mercury/Atmospheric_Emissions/Technical_background_report.pdf)
- Andersen, A., Lykke, S.E., Lange, M., & Bech, K. (1982). Trace elements in edible mushrooms. *Stat. Levedsmiddelinst., Denmark*, 68: 29 (in Danish).
- Alonso, J., Salgado, M. J., García, M. A., & Melgar, M. J. (2000). Accumulation of mercury in edible macrofungi: Influence of some factors. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 38: 158–162.
- Alvarez, MD., Mateos, J., Peinado, MV., Capo, MA. (2006). Vicia Faba L.: Biomonitoring capacity of water pollution caused by metilmercury. *Observatorio medioambiental*, 9: 111-123.
- Berglund, F.; Berlin, M.; Birke, G.; Cederlof, R.; Von Euler, U.; Friberg, L.; Holmstedt, B.; Jonsson, E.; Luning, K. C.; Ramel, C.; Skerfving, S.; Swensson, A.; Tejning, S. (1971). Methylmercury in fish: A toxicologic-epidemiologic evaluation of risks". *Nord, Hyg. Tidskr., suppl.* 4.
- ATSDR Agency for Toxic Substances and Disease Registry (1999). Toxicological Profile for Mercury. US Department of Health and Human Services, Public Health Service, ATSDR, Atlanta, GA. Disponible en URL: [www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp46.html](http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp46.html)
- Barber, T. E. (1978). Inorganic mercury intoxications reminiscent of amyotrophic lateral sclerosis. *Journal of Occupational Medicine*. 20: 667.
- Bargagli, R., & Baldi, F. (1984). Mercury and methyl mercury in higher fungi and their relation with the substrata in a cinnabar mining area. *Chemosphere*, 13: 1059-1071.
- Boudene, Cl. (1990). Toxicidad de los metales. *Toxicología y seguridad de los alimentos*, 148-151. Omega S.A., Barcelona.
- Cammilleri, G., Vazzana, M., Arizza, V., Giunta, F., Vella, A., Lo Dico, G., Giaccone, V., Giofrè, S.V., Giangrosso, G., Cicero, N., Ferrantelli, V. (2018). Mercury in fish products: what's the best for consumers between bluefin tuna and yellowfin tuna. *Natural Product Research*, 32:4, 457-462.
- Campos, J.A., Tejera, N.A., Sánchez, C.J. (2009). Substrate role in the accumulation of heavy metals in sporocarps of wild fungi. *Biometals*, 22: 835–841.
- Comisión Europea (2005). Communication from the commission to the european parliament and the council on the review of the Community Strategy Concerning Mercury. Disponible en: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/PDF/?uri=CELEX:52010DC0723&from=ES>.
- Comisión Europea (2008). Information note. Methyl mercury in fish and fishery products. Disponible en: [http://ec.europa.eu/food/food/chemicalsafety/contaminants/information\\_note\\_mercury-fish\\_21042008.pdf](http://ec.europa.eu/food/food/chemicalsafety/contaminants/information_note_mercury-fish_21042008.pdf).
- Chudzyński, K., Bielawski, L., & Falandysz, J. (2009). Mercury bio-concentration potential of larch bolete, *Suillus grevillei*, mushroom. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 83: 275–279.

- Chudzyński, K., Jarzyńska, G., Stefańska, A., Falandysz, J. (2011). Mercury content and bio-concentration potential of Slippery Jack, *Suillus luteus*, mushroom. *Food Chemistry*, 125 (3): 986-990.
- Clarkson TW, Vyas JB, Ballatori N. (2007). Mechanisms of Mercury Disposition in the Body. *Am J Ind Med*, 50:757-64.
- Cibulka, J., Sisaák, L., Pulkrab, K., Miholová, D., Szačkova, J., Fucíková, A., et al. (1996). Cadmium, lead, mercury and caesium levels in wild mushrooms and forest berries from different localities of the Czech Republic. *Scientia Agriculturae Bohemica* 27: 113–129.
- Demirbaş, A. (2000). Accumulation of heavy metals in some edible mushrooms from Turkey. *Food Chemistry*, 68: 415-419.
- Demirbas, A. (2001). Concentrations of 21 metals in 18 species of mushrooms growing in the East Black Sea region. *Food Chemistry*, 75(4): 453-457.
- EFSA (European Food Safety Authority) (2004). Opinion of the Scientific Panel on Contaminants in the Food Chain on a request from the Commission related to mercury and methylmercury in food. *EFSA Journal*, 34: 114.
- Español CS. (1990) Estudio sobre correlación de valores de mercurio en ambiente y fluidos biológicos con la aparición de sintomatología clínica en trabajadores de Minas de Almadén. Almadén: Minas de Almadén y Arrayanes S. A.
- Falandysz, J. (2017). Mercury accumulation of three *Lactarius* mushroom species. *Food Chem* 214:96–101. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.07.062>
- Falandysz, J., Borovička, J. (2012). Macro and trace mineral constituents and radionuclides in mushrooms: Health benefits and risks. *Applied microbiology and biotechnology*, p. 97.
- Falandysz, J; Chwir, A. (1997). The concentrations and bioconcentration factors of mercury in mushrooms from the Mierzeja Wisłana sand-bar, Northern Poland. *Science of the total environment*, 203(3): 221-228 .
- Falandysz J., Marcinowicz A., Danisiewicz D., Galecka K. (1997 b). Rtec in mushrooms and mushroom substrate in the region of Lubiana, Koscierzyna commune. *Bromatology and Toxicological Chemistry*, 30(1): 63-68.
- Falandysz, J., Kryszewski, K. (1996). Mercury in mushrooms and mushroom substrate near Polanowice in the commune of Gubin, Zielona Góra voivodeship. *Roczn Pan'stw Zakł Hig*, 47: 377–388.
- Falandysz, J., Kryszewski, K., Chwir, A. (1996). Mercury in edible mushrooms from the area of Laso w Kos'cierskie and the Vistula Spit. *Roczn Pan'stw Zakł Hig*, 47: 206–210.
- Falandysz, J.; Lipka, K.; Gućia, M.; Kawano, M.; Strumnik, K. & Kannan, K. (2002). Accumulation factors of mercury in mushrooms from Zaborski Landscape Park, Poland. *Environental Internationa*, 28:421-427.
- Gebauer, K.; Connor, B. (1991). Cutaneous mercury granuloma. *Australas. J. Dermatol.* 32: 129.

- Gonzalez-Estecha, M., A. Bodas-Pinedo, J. J. Guillen-Perez, M. A. Rubio-Herrera, J. R. Martinez-Alvarez, M. A. Herraiz-Martinez, N. Martell-Claros, J. M. Ordonez-Iriarte, M. Sainz-Martin, R. Farre-Rovira, T. Martinez-Astorquiza, J. A. Garcia-Donaire, E. Calvo-Manuel, I. Breton-Lesmes, S. Prieto-Menchero, M. T. Llorente-Ballesteros, M. J. Martinez-Garcia, R. Moreno-Rojas, J. Salas-Salvado, P. Bermejo-Barrera, M. A. Cuadrado-Cenzual, C. Gallardo-Pino, M. B. Fuentes, M. Torres-Moreno, E. M. Trasobares-Iglesias, B. B. Martin, M. Arroyo-Fernandez, and A. Calle-Pascual. (2015a). Consensus document on the prevention of exposure to methylmercury in Spain: *nutricion hospitalaria*, 31: 16-31.
- Gonzalez-Estecha, M., A. Bodas-Pinedo, J. J. Guillen-Perez, M. A. Rubio-Herrera, J. M. Ordonez-Iriarte, E. M. Trasobares-Iglesias, N. Martell-Claros, J. R. Martinez-Alvarez, R. Farre-Rovira, M. A. Herraiz-Martinez, T. Martinez-Astorquiza, E. Calvo-Manuel, M. Sainz-Martin, I. Breton-Lesmes, S. Prieto-Menchero, M. T. Llorente-Ballesteros, M. J. Martinez-Garcia, J. Salas-Salvado, P. Bermejo-Barrera, J. A. Garcia-Donaire, M. A. Cuadrado-Cenzual, C. Gallardo-Pino, R. Moreno-Rojas, M. Arroyo-Fernandez, and A. Calle-Pascual. (2014a). Methylmercury exposure in the general population; toxicokinetics; differences by gender, nutritional and genetic factors: *Nutricion Hospitalaria*, 30: 969-988
- Gonzalez-Estecha, M., A. Bodas-Pinedo, J. J. Guillen-Perez, M. A. Rubio-Herrera, J. M. Ordonez-Iriarte, E. M. Trasobares-Iglesias, N. Martell-Claros, J. R. Martinez-Alvarez, R. Farre-Rovira, M. A. Herraiz-Martinez, T. Martinez-Astorquiza, E. Calvo-Manuel, M. Sainz-Martin, I. Breton-Lesmes, S. Prieto-Menchero, M. T. Llorente-Ballesteros, M. J. Martinez-Garcia, J. Salas-Salvado, P. Bermejo-Barrera, J. A. Garcia-Donaire, M. A. Cuadrado-Cenzual, C. Gallardo-Pino, R. Moreno-Rojas, M. Arroyo-Fernandez, and A. Calle-Pascual. (2014). Methylmercury exposure in the general population; toxicokinetics; differences by gender, nutritional and genetic factors: *nutricion hospitalaria*, 30: 969-988.
- Gonzalez-Estecha, M., A. Bodas-Pinedo, M. A. Rubio-Herrera, N. Martell-Claros, E. M. Trasobares-Iglesias, J. M. Ordonez-Iriarte, J. J. Guillen-Perez, M. A. Herraiz-Martinez, J. A. Garcia-Donaire, R. Farre-Rovira, E. Calvo-Manuel, J. R. Martinez-Alvarez, M. T. Llorente-Ballesteros, M. Sainz-Martin, T. Martinez-Astorquiza, M. J. Martinez-Garcia, I. B. Lesmes, M. A. Cuadrado-Cenzual, S. Prieto-Menchero, C. Gallardo-Pino, R. Moreno-Rojas, P. Bermejo-Barrera, M. Torres-Moreno, M. Arroyo-Fernandez, and A. Calle-Pascual. (2014b). The effects of methylmercury on health in children and adults; national and international studies: *nutricion hospitalaria*, 30: 989-1007.
- Goyer, R. A. (1993). Toxic effects of metals. *Casarett and Doull's toxicology*, 646-651 The basic Sciences of Poisons. Mc Graw-Hill.
- Guillamón, E., García-Lafuente, A., Lozano, M., D'Arrigo, M., Rostagno, M.A., Villares, A., Martínez, J.A. (2010). Edible mushrooms: role in the prevention of cardiovascular diseases. *Fitoterapia*, 81: 715–723.
- Jayachandran, M., Xiao, J., Xu, B. (2017). A critical review on health promoting benefits of edible mushrooms through gut microbiota. *Int J Mol Sci*, 18 (9).
- Jeng, S. L. y Yang, C. P. (1995). Determination of lead, cadmium, mercury and copper Concentrations In Duck Eggs in Taiwan. *Poultry Science*: 74: 187-193.
- Kalač, P. (2009). Chemical composition and nutritional value of European species of wild growing mushrooms: A review. *Food Chemistry*, 113 (1): 9-16.



- Kalac̃, P. (2010). Trace element contents in European species of wild growing edible mushrooms: a review for the period 2000–2009. *Food Chemistry* 122: 2–15.
- Kalač, P., Šlapetová, M. (1997). Mercury contents in fruiting bodies of wild growing edible mushrooms. *Potravinářské Vědy*, 15:405-410.
- Kalac, P.; Staskova, I. (1994). Heavy metals in fruiting bodies of wild growing mushrooms of the genus *Agaricus*. *Potravinarske Vedy*, 12(3): 185-194.
- Kalac̃, P., Svoboda, L. (2000). A review of trace element concentrations in edible mushrooms. *Food Chemistry*, 69:273–281.
- Kalac, P., Wittingerova, M., Staskova, I. (1989b). The contents of seven biogenic trace elements in edible mushrooms. *Potravinarske Vedy*, 7(2):131-136.
- Kazantzis, G. (1980). Mercury. *Metals in the environment*, 221-263. Academic Press.
- Kozarski, M., Klaus, A., Jakovljevic, D., Todorovic, N., Vunduk, J., Petrović, P., Niksic, M., Vrvic, MM., Van Griensven, L. (2015). Antioxidants of edible mushrooms. *Molecules*, 20 (10):19489-19525.
- McDowell, L. (1992). Cap.XV. Aluminum, Arsenic, Camium, Lead and Mercury. *Minerals in animal and human nutrition*, 364-365. Academic Press. New York.
- McLauchlan, G. A. (1991). Acute mercury poisoning. *Anaesthesia*. 46: 110.
- Melgar, M. J., Alonso, J., & García, M. A. (2009). Mercury in edible mushrooms and underlying soil: Bioconcentration factors and toxicological risk. *Science of the Total Environment*, 407: 5328–5334.
- Moreno, B., Gómez, J., Jiménez, F., Infante, F. (1996). *Setas de Andalucía*. Centro Andaluz del Libro, Sevilla (Spain).
- Moreno-Ortega A, Moreno-Rojas R, Martínez-Álvarez JR, González Estecha M, Castro González NP, Amaro López MÁ. (2017). Probabilistic risk analysis of mercury intake via food consumption in Spain. *J Trace Elem Med Biol*. 43:135–141.
- Nordberg, G.F.; Skerfving, S. (1971). "Metabolism". En: *Mercury, Mercurials and Mercaptans*. Miller, M. W., and Clarkson, T. W. (Eds.), Charles & Thomas Publisher, 111: 29-92.
- Nowakowski, P., Markiewicz-Zukowska, R., Soroczynska, J., Puscion-Jakubik, A., Mielcarek, K., Halina, M., Socha, K. (2021). Evaluation of toxic element content and health risk assessment of edible wild mushrooms. *Journal of Food Composition and Analysis*, 96:103698.
- Longley, E. O.; Barnes, R., Jones, A. (1968). Mercurialism. *Med. Trial. Tech. Q.* 15: 29.
- Patra, M. y Sharma, A. (2000): Mercury Toxicity In Plants. *Bot. Rev.* 66: 379-422.
- Pullicino, V. N.; Taylor, D. N.; Patrick, J. D. (1985). Multiple metallic mercury emboli. *Br. J. Radiol.* 58: 470.
- Ramírez, AV. (2008). Intoxicación ocupacional por mercurio. *An Fac med.*, 69(1): 46-51
- Reglamento (CE) n° 396/2005 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 23 de febrero de 2005 relativo a los límites máximos de residuos de plaguicidas en alimentos y piensos de origen vegetal y animal y que modifica la Directiva 91/414/CEE del Consejo Texto pertinente a efectos del EEE. DO L 70:1.
- Reglamento (CE) No 1881/2006 de la Comisión, de 19 de diciembre de 2006, por el que fija el contenido máximo de determinados contaminantes en los productos alimenticios. DO L 364: 524.

- Reglamento (UE) 2018/73 de la comisión de 16 de enero de 2018 por el que se modifican los anexos II y III del Reglamento (CE) n°396/2005 del Parlamento Europeo y del Consejo en lo relativo a los límites máximos de residuos de compuestos de mercurio en determinados productos. DO L 13:8.
- Schmutz, M., Carron, P.N., Yersin, B., Trueb, L. (2018). Mushroom poisoning: a retrospective study concerning 11-years of admissions in a Swiss Emergency Department. *Internal and emergency medicine*, 13 (1): 59-67.
- Seaton, A.; Bishop, C. (1978). Acute mercury pneumonitis. *Br. J. Ind. Med.* 35: 258.
- Sesli, E., Tüzen, M. (1999). Levels of trace elements in the fruiting bodies of macrofungi growing in the East Black Sea region of Turkey. *Food Chemistry*, 65: 453-460.
- Shibamoto, T. y Bjeldanes, L. F. (1993). *Introduction to food toxicology*. Academic Press. San Diego.
- Shils, M.E. (1988). Magnesium in health and disease. *Annual Review of Nutrition*, 8: 429-460.
- Simmons-Willis TA, Koh AS, Clarkson TW, Ballatori N.(2002). Transport of a neurotoxicant by molecular mimicry: the methylmercury-L-cysteine complex is a substrate for human L-type large neutral amino acid transporter (LAT) 1 and LAT2. *Biochem J*, 367(1): 239-46.
- Širić, I., Kasap, A., Bedeković, D., Falandysz, J. (2017). Lead, cadmium and mercury contents and bioaccumulation potential of wild edible saprophytic and ectomycorrhizal mushrooms. *Croatia. J Environ Sci Health B*, 52 (3): 156-165.
- Sova, Z., Cibulka, J., Száková, J., Míhlová, D., Mader, P., & Reisnerová, H. (1991). Contents of cadmium, mercury and lead in mushrooms from two areas in Bohemia. *Sborník Agronomické fakulty v Č. Budějovicích, ř. zootech.*, 8(1): 13–29 (in Czech).
- Strapáč, I., Baranová, M. (2016). Content of chemical elements in wood-destroying fungi. *Folia Veterinaria*, 60 (4): 29-36.
- Sundseth, K.; Pacyna, J.M.; Pacyna, E.G.; Pirrone, N.; Thorne, R.J. (2017) Global Sources and Pathways of Mercury in the Context of Human Health. *Int. J. Environ. Res. Public Health*, 14: 105.
- Svoboda, L., Havlíčková, B., Kalač, P., (2006). Contents of cadmium, mercury and lead in edible mushrooms growing in a historical silver-mining area. *Food Chemistry*, 96 (4): 580-585.
- Svoboda, L., Kalač, P., Špička, J., Janoušková, D. (2002). Leaching of cadmium, lead and mercury from fresh and differently preserved edible mushroom, *Xerocomus badius*, during soaking and boiling. *Food Chemistry*, 79 (1): 41-45.
- Szynkowska, M.I., Pawlaczyk, A., Albinska, J., & Paryjczak, T. (2008). Comparison of accumulation ability of toxicologically important metals in caps and stalks in chosen mushrooms. *Polish Journal of Chemistry*, 82: 313–319.
- Tchounwou, P.B., Ayensu, W.K., Ninashvili, N., Sutton, D. (2003). Review: Environmental exposure to mercury and its toxicopathologic implications for public health. *Environmental Toxicology* 18 (3): 149–175.
- Tsubaki, T. (1971): "Clinical and epidemiological aspects of organic mercury intoxication". En: *Proceedings of the Symposium on Mercury in Man's Environment.*, Royal Society of Canada, 131-136.
- Tuzen, M., & Soylak, M. (2005). Mercury contamination in mushroom samples from Tokat, Turkey. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 74: 968–972.

- Underwood, E. J. (1977). Trace elements in human and animal nutrition. Academic Press, New York.
- Vetter, J., Berta, E., (1997). Mercury content of some wild edible mushrooms. Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und -Forschung A 205: 316–320.
- Watson, D. (1993). Safety of chemicals in food. Chemical contaminants. Ellis Horwood. New York.
- Wendroff, A. P. (1990). Domestic mercury pollution. Nature, 347, 623.
- WHO, E. (1996). Bioavailability of heavy metals and decontamination of soils by plants. Appl Geochem 11: 163-167.
- Wilcke, C. (1989). Artspezifische Schwermetallaufnahme von Wildpilzen und Zuchtchampignons. Proc. 6th Int. Trace Elements Symp, 5: 1545–1552. Leipzig (in German).
- Zarski, T. P., Zarska, H., Arkuszewska, E., Váľka, J., Sokol, J., & Beseda, I. (1999). The bioindicative role of mushrooms in the evaluation of environmental contamination with mercury compounds. Ekológia (Bratislava), 18: 223–229.
- Zurera, G., Rincon, F., Arcos, F., Pozo-Lora, R. (1986). Mercury content in mushroom species in the Cordova Area. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology 36: 662–667.