

EVALUATION OF HEAVY METALS CONTENT IN EDIBLE MUSHROOMS BY MICROWAVE DIGESTION AND FLAME ATOMIC ABSORPTION SPECTROMETRY[♦]

DÉTERMINATION DES METAUX LOURDS DANS LES CHAMPIGNONS PAR DIGESTION ASSISTÉE PAR MICRO-ONDES ET SPECTROMÉTRIE D'ABSORPTION ATOMIQUE AVEC ATOMISATION PAR FLAMME

**Cristiana Radulescu^{1*}, Claudia Stihl¹, Valerica Gh. Cimpoca^{1,2},
Ion V. Popescu^{1,2,3}, Gabriela Busuioc⁴, Ana Irina Gheboianu²**

¹ *Valahia University of Târgoviște, Faculty of Science and Arts, Department of Sciences, 130082 Târgoviște, Romania*

² *Valahia University of Târgoviște, Multidisciplinary Research Institute for Science and Technologies, 130082 Târgoviște, Romania*

³ *Academy of Romanian Scientists, 050094 Bucharest, Romania*

⁴ *Valahia University of Târgoviște, Faculty of Environmental Engineering and Biotechnologies, Environmental Engineering Department, 130082 Târgoviște, Romania*

*Corresponding author: radulescucristiana@yahoo.com

Received: June 28, 2010

Accepted: March 23, 2011

[♦] Paper presented at the 6th edition of *Colloque Franco-Roumain de Chimie Appliquée, COFrRoCA 2010*, 7-10 July 2010, Orléans, France

Abstract: The aim of this work was to determine the heavy metal (Cd, Cr, Ni, Pb, Mn, Zn, Fe and Cu) content of the fruiting bodies (cap and stipe) of four species (*Amanita caesarea*, *Pleurotus ostreatus*, *Fistulina hepatica* and *Armillariella mellea*) and their substrate, collected from forest sites in Dâmbovița County, Romania. The elements were determined by Flame Atomic Absorption Spectrometry (FAAS) after microwave assisted digestion. From the same collecting point were taken $n = 5$ samples of young and mature fruiting bodies of mushrooms and their substrate. The high concentrations of lead, chrome and cadmium (Pb: 0.25 – 1.89 mg.kg⁻¹, Cr: 0.36 – 1.94 mg.kg⁻¹, Cd: 0.23 – 1.13 mg.kg⁻¹) for all collected wild edible mushrooms, were determined. These data were compared with maximum level for certain contaminants in foodstuffs established by the commission of the European Committees (EC No 466/2001). A quantitative evaluation of the relationship of element uptake by mushrooms from substrate was made by calculating the accumulation coefficient (K_a). The moderately acid pH value of soil influenced the accumulation of Zn and Cd inside of the studied species. The variation of heavy metals content between edible mushrooms species is dependent upon the ability of the species to extract elements from the substrate and on the selective uptake and deposition of metals in tissue.

Keywords: *accumulation coefficient, FAAS, heavy metal, microwave digestion, mushroom*

INTRODUCTION

Les champignons sauvages comestibles sont beaucoup plus nombreux qu'on ne se l'imagine habituellement et plusieurs sont très recherchées pour leur saveur [1 – 3]. Aussi, des nombreuses recherches [4 – 6] ont été consacrées des études des champignons parce qu'elles peuvent jouer un rôle très important dans le domaine de la dépollution. Par exemple, certaines espèces des champignons comestibles peuvent être utilisées en accompagnement de la phytoremédiation ou en association épuratrice [7] avec divers micro-organismes. Certaines espèces sauvages s'avèrent en effet capables de remarquablement bien bioconcentrer les métaux ou radionucléides du sol [1]. Les recherches ont montré que *Armillariella mellea*, un champignon comestible et médicinal possèdent un potentiel immuno-modulateur et peut être utilisé avec succès dans le traitement des maladies infectieuses et cancer [8]. Les champignons sont considérés comme source de protéines, vitamines, matières grasses, glucides, acides aminés et des minéraux [1 – 6].

Dans ce travail ont été analysé des métaux lourds (Cd, Cr, Ni, Pb, Mn, Zn, Fe, Cu) dans les champignons sauvages, mais comestibles, (*Amanita caesarea*, *Pleurotus ostreatus*, *Fistulina hepatica* et *Armillariella mellea*) utilisant la méthode de digestion assistées par micro-ondes et Spectrométrie d'Absorption Atomique avec Atomisation par Flamme (SAA-AF). Aussi, leur substrat a été analysé par les mêmes méthodes.

EXPERIMENTAL

Matériels et réactifs

Les échantillons de champignons (*Amanita caesarea*, *Pleurotus ostreatus*, *Fistulina hepatica* et *Armillariella mellea*) ont été collectés dans dix domaines forestiers de comté de Dambovita, Roumanie, altitude comprise entre 300 – 500 m, à différentes périodes de la vie, jeunes et adultes. Les échantillons ($n = 5$) ont été collectés du printemps à l'automne 2009, à différents moments de la journée: matin, midi et la mi-journée, en arrachant leur substrat, écorce de chêne, écorce de peuplier et le sol, avec l'aide d'un scalpel de plastique.

Champignons frais ont été lavés avec d'eau distillée, séchées, puis ont été séparé le chapeau de pied. Les échantillons ont été séchés à 60 °C pendant 10 à 12 heures, puis porté à la consistance de poudre par la coupe et broyage.

Caractéristiques des champignons choisies: *Amanita caesarea* - chapeau ovoïde 8 – 10 cm (jeune) à hémisphérique 15 – 20 cm (adulte), et enfin convexe, rouge orangé vif, luisant, assez souvent couvert de grands lambeaux de la volve, blancs; pied 8 à 15 cm, robuste, droit ou légèrement courbé, de la couleur des lames. *Pleurotus ostreatus* - chapeau 7 – 8 cm (jeune) à 10 – 14 cm (adulte), gris brun ou noirâtre mais souvent beaucoup plus clair, excentré, convexe puis étalé, en forme de coquille d'huître puis d'éventail; pied 1 à 2 cm à quasi-inexistant, latéral, blanc et ferme. *Fistulina hepatica* – chapeau de diamètre 10 – 15 cm (jeune) à 15 – 25 cm (adulte), orangée chez le jeune - marge concolore; pied inexistant chez très réduit jaune - orangé. *Armillariella mellea* – chapeau de diamètre de 5 cm, jaune, (jeune) 10 cm brun roussâtre (adulte); pied cylindrique, long entre 5 cm, respectivement 20 cm.

Dans le Tableau 1 sont présentées des informations sur la classe, la famille, l'habitat et des restrictions sur la consommation de ces espèces de champignons.

Tableau 1. La classe, la famille, l'habitat et restrictions sur la consommation de ces espèces de champignons analysés

Champignon	Classe/Famille	Habitat	Restrictions sur la consommation
<i>Amanita caesarea</i>	Agaricomycetes / Amanitaceae	Sol	Comestible
<i>Pleurotus ostreatus</i>	Agaricomycetes / Pleurotaceae	L'écorce de peuplier	Comestible
<i>Fistulina hepatica</i>	Basidiomycetes/ Fistulinaceae	L'écorce de chêne	Comestible seulement jeune
<i>Armillariella mellea</i>	Basidiomycetes / Tricholomataceae	Sol, chêne	Comestible seulement jeune

Les échantillons de substrat (l'écorce de peuplier, l'écorce de chêne, sol) ont été séchés à 70 °C dans les 24 heures. Après séchage des échantillons de substrat ont été hachées, étant apportées sous forme de poudre fine.

Réactifs: Acide nitrique supra-pure (65% HNO₃) pour l'analyse des traces (Merck), solution de peroxyde d'hydrogène 30% pour analyse des traces (Fluka), acide hydrochlorique 37% (Merck) et potassium chlorite (Aldrich), eau ultra pure déionisée obtenue par un purificateur EASYPure II (Bernstead), résistance = 18 MΩ.

Digestion assistée par micro-ondes

La digestion des échantillons a été faite dans un four à micro-ondes en système fermé (Microwave Berghof MWS-2), en présence d'acide nitrique 65% et peroxyde d'hydrogène 30% et en présence d'un mélange d'acide nitrique 65% et acide hydrochlorique 37%, pour l'analyse des métaux lourds dans les champignons, respectivement les substrats. Après digestion (40 minutes pour champignons et 60 minutes pour substrats), les échantillons sont refroidis pendant 30 minutes à température ambiante, puis les solutions claires sont placées dans les flacons de 50 mL, par dilution avec d'eau ultra pure.

Spectrométrie d'absorption atomique avec atomisation par flamme

L'analyse de métaux lourds a été réalisée avec un spectrophotomètre d'absorption atomique avec atomisation par flamme AVANTA GBC, piloté par microordinateur et équipé avec les lampes spécifiques (HCl). « Certified Standard Reference Material » SRM 1515 (Apple Leaves) et SRM 2710 et 2711 (Montana Soil) de National Institute of Standards and Technologies (NIST), sont utilisés pour vérifier les résultats.

Détermination des concentrations de Cr, Ni, Cu, Cd, Pb, Mn, Zn et Fe de champignons et de leur substrat a été réalisées en utilisant la méthode de la courbe de calibration en fonction de la concentration d'absorbant [8, 9]. Plusieurs solutions de différentes concentrations connues ont été préparées et la concentration des éléments dans l'échantillon inconnu a été déterminée par extrapolation à partir de la courbe d'étalonnage [10 – 13]. Toutes les concentrations des échantillons ont été reportées en mg.kg⁻¹ de poids sec de matières. En utilisant les conditions expérimentales optimales, la méthode proposée a permis la détermination de métaux lourds avec une précision, exprimée avec l'écart type relatif (R.S.D.), de 0,1 – 5,5%.

Le pH du substrat solide a été déterminé selon la méthode ISO 10390:2005. Les échantillons solides (poids 10 g) ont été traités avec 50 mL de KCl 0,1 N, sous agitation pendant 30 min. Après 1 heure, le pH de chaque échantillon a été mesuré avec un pH-mètre Consort P501 à température ambiante.

RÉSULTATS ET DISCUSSIONS

Huit métaux lourds (Pb, Cr, Cd, Ni, Cu, Mn, Zn et Fe) ont été analysés dans les champignons sauvages comestibles (*Amanita caesarea*, *Pleurotus ostreatus*, *Fistulina hepatica* et *Armillariella mellea*) et leurs substrats dans certaines zones du comté de Dambovită.

Le pH de tous des échantillons du sol et substrat examinées a été modérément acide. Le résultat a montré que le pH était entre 5,9 et 6,2 pour le sol et entre 6,9 et 7,3 pour le

substrat qui est habitat intermédiaire (peuplier et chêne) pour les champignons *Pleurotus ostreatus* et *Fistulina hepatica*.

Dans les Tableaux 2 et 3 sont présentées les concentrations moyennes de métaux lourds dans le sol et champignons sauvages comestibles.

Dans le corps des champignons adultes ont été trouvé des concentrations élevées de métaux lourds (exprimées en mg.kg^{-1}), comparativement à ceux trouvés dans les substrats. Aussi, dans le corps des champignons jeunes ont été déterminé des concentrations inférieures de métaux lourds comparativement à ceux trouvés dans les champignons adultes. Pour toutes les espèces des champignons ont été enregistrées dépassant aux niveaux de plomb, chrome et cadmium (Pb: 0,25 – 1,89 mg.kg^{-1} , Cr: 0,36 – 1,94 mg.kg^{-1} , Cd: 0,23 – 1,13 mg.kg^{-1}) par rapport aux concentrations maximales autorisées (CMA) pour ces éléments prévu dans le Régulation de Commission Européenne 466/2001 et 1881/2006 [CMA (Pb) = 0,10 mg.kg^{-1} ; CMA (Cr) = 0,10 mg.kg^{-1} ; CMA (Cd) = 0,05 – 0,1 mg.kg^{-1}] [14, 15].

Tableau 2. La concentration moyenne des métaux lourds dans les corps des champignons comestibles jeunes (à 7 jours) et leur substrat (mg.kg^{-1} matière sèche)

Champignon et substrat (n = 5)	Zn	Cu	Fe	Cd	Mn	Cr	Ni	Pb
<i>Amanita caesarea</i> (Chapeau)	84,4±0,2	31,3±0,7	69,4±3,7	0,60±0,2	41,4±0,7	1,55±0,2	0,69±0,1	1,66±0,2
<i>Amanita caesarea</i> (Pied)	50,8±0,3	17,3±0,8	51,9±3,3	0,31±0,1	37,9±0,4	1,12±0,1	0,79±0,4	0,89±0,3
Sol	723±0,8	139,2±1,2	4,163±5,7*	2,17±0,4	239,5±1,3	3,17±0,3	11,57±1,5	12,9±1,8
<i>Pleurotus ostreatus</i> (Chapeau)	22,4±1,9	5,8±0,1	143,1±3,6	0,47±0,1	7,4±0,8	0,73±0,1	0,71±0,2	0,52±0,1
<i>Pleurotus ostreatus</i> (Pied)	20,5±1,7	3,7±0,3	122,6±3,1	0,29±0,1	6,9±1,0	0,59±0,2	0,32±0,1	0,44±0,1
L'écorce de peuplier	35,4±1,8	12,6±1,5	304,9±5,1	2,12±0,4	28,8±1,1	2,79±0,2	2,7±0,3	2,42±0,5
<i>Fistulina hepatica</i> (Chapeau)	25,6±1,4	5,08±1,1	113,4±4,2	0,37±0,1	9,52±0,6	0,65±0,2	0,52±0,1	0,61±0,2
<i>Fistulina hepatica</i> (Pied)	19,8±1,8	3,42±1,2	82,7±4,1	0,23±0,1	7,31±0,2	0,36±0,1	0,26±0,1	0,25±0,1
L'écorce de chêne	42,8±3,1	10,6±1,3	267,7±5,3	1,02±0,3	26,2±1,8	2,83±0,3	2,05±0,5	2,53±0,8
<i>Armillariella mellea</i> (Chapeau)	80,5±0,5	17,1±1,2	190,3±3,5	0,82±0,1	16,1±1,8	1,53±0,7	1,02±0,3	1,65±0,2
<i>Armillariella mellea</i> (Pied)	39,2±0,2	10,4±1,9	132,3±3,1	0,71±0,2	10,9±1,6	0,93±0,3	0,62±0,1	0,92±0,3
Sol	515,6±2,9	210,5±1,9	5,607±5,2*	2,55±0,5	123,4±4,1	11,55±2,5	7,45±1,2	11,7±2,4

* - Fraction de la masse [%]

Les dates expérimentales ont démontrées que ces espèces de champignons accumulent des quantités appréciables de zinc, fer et cuivre et dans la trace chrome, cadmium, nickel, manganèse et plomb.

Dans cette étude ont été déterminé les coefficients de bioaccumulation avec la relation:

$$K_a = C_m/C_s$$

ou C_m est la concentration de métal lourd dans le champignon et C_s est la concentration de métal lourd dans le substrat.

Dans le Tableau 2 s'observe que le sol de forêt, modérément acide, à une concentration modérée en zinc (723 mg.kg^{-1} et $515,6 \text{ mg.kg}^{-1}$) qui conduit implicitement à une concentration modérée de cadmium ($2,17 \text{ mg.kg}^{-1}$ et $2,55 \text{ mg.kg}^{-1}$). Les concentrations de fer par rapport aux limites admissibles de métaux lourds présentent dans la littérature [1 – 3] sont très élevés dans les corps de champignons. Les métaux lourds ont été principalement bioconcentrés en chapeau pour les espèces étudiées (Tableaux 2 et 3) et peuvent présenter un risque pour la santé humaine parce qu'elles sont consommées fréquemment par la population de Roumanie.

Tableau 3. La concentration moyenne des métaux lourds dans les corps des champignons comestibles adultes et leur substrat (mg.kg^{-1} matière sèche)

Champignon et substrat (n=5)	Zn	Cu	Fe	Cd	Mn	Cr	Ni	Pb
<i>Amanita caesarea</i> (Chapeau)	92,3±1,1	34,7±0,8	73,2±3,9	1,13±0,3	44,9±0,6	1,63±0,4	0,71±0,2	1,83±0,1
<i>Amanita caesarea</i> (Pied)	57,2±0,9	18,6±0,5	58,2±3,4	0,38±0,1	38,9±0,9	1,18±0,2	0,53±0,2	1,02±0,4
Sol	723±0,8	139,2±1,2	4,163±5,7*	2,17±0,4	239,5±1,3	3,17±0,3	11,57±1,5	12,9±1,8
<i>Pleurotus ostreatus</i> (Chapeau)	35,3±1,1	10,2±1,1	184,3±4,2	0,87±0,2	11,8±1,3	1,08±0,2	1,29±0,4	0,85±0,2
<i>Pleurotus ostreatus</i> (Pied)	34,0±1,3	8,3±0,6	182,2±4,6	0,39±0,1	10,3±1,1	0,63±0,1	0,41±0,1	0,64±0,2
L'écorce de peuplier	40,4±1,8	12,6±1,5	304,9±5,1	2,12±0,4	28,8±1,1	2,79±0,2	2,7±0,3	2,42±0,5
<i>Fistulina hepatica</i> (Chapeau)	38,5±1,4	8,02±0,8	143,1±4,6	0,52±0,3	12,4±0,8	1,1±0,3	0,92±0,2	0,92±0,4
<i>Fistulina hepatica</i> (Pied)	31,1±1,8	4,11±1,0	112,6±3,7	0,33±0,2	10,42±1,2	0,41±0,1	0,32±0,1	0,37±0,1
L'écorce de chêne	42,8±3,1	10,6±1,3	267,7±5,3	1,02±0,3	26,2±1,8	2,83±0,3	2,05±0,5	2,53±0,8
<i>Armillaria mellea</i> (Chapeau)	88,2±1,7	22,1±1,4	200,7±4,9	0,91±0,2	18,7±2,1	1,94±0,4	1,45±0,4	1,89±0,3
<i>Armillaria mellea</i> (Pied)	43,2±1,4	14,2±1,2	152,3±3,5	0,61±0,2	11,6±1,1	0,95±0,4	0,74±0,1	1,21±0,2
Sol	515,6±2,9	210,5±1,9	5,607±5,2*	2,55±0,5	123,4±4,1	11,55±2,5	7,45±1,2	11,7±2,4

* - Fraction de la masse [%]

Tableau 4. K_a - le coefficient de bioaccumulation des métaux lourds dans le corps (chapeau et pied) de champignons jeunes sauvages comestibles

Champignon	Zn	Cu	Mn	Cd	Cr	Ni	Pb
<i>Amanita caesarea</i> (Chapeau)	0,11	0,22	0,17	0,27	0,48	0,05	0,12
<i>Amanita caesarea</i> (Pied)	0,07	0,12	0,15	0,15	0,35	0,06	0,06
<i>Pleurotus ostreatus</i> (Chapeau)	0,63	0,46	0,25	0,22	0,26	0,26	0,21
<i>Pleurotus ostreatus</i> (Pied)	0,57	0,29	0,23	0,13	0,21	0,11	0,18
<i>Fistulina hepatica</i> (Chapeau)	0,59	0,47	0,36	0,36	0,22	0,25	0,24
<i>Fistulina hepatica</i> (Pied)	0,46	0,32	0,27	0,27	0,12	0,12	0,09
<i>Armillariella mellea</i> (Chapeau)	0,15	0,08	0,13	0,31	0,13	0,13	0,14
<i>Armillariella mellea</i> (Pied)	0,07	0,04	0,08	0,27	0,08	0,08	0,07

Dans le Tableau 4 s'observe comme espèces saprophytes jeunes *Fistulina hepatica* et *Pleurotus ostreatus*, qui vivent sur l'écorce des arbres sont susceptibles de bioaccumulation de zinc, cuivre, manganèse, ainsi que le cadmium, le chrome, le nickel et le plomb. Ces espèces accumulent des métaux lourds dans le chapeau en concentration plus élevée que le pied.

Tableau 5. K_a - le coefficient de bioaccumulation des métaux lourds dans le corps (chapeau et pied) de champignons adultes sauvages comestibles

Champignon	Zn	Cu	Mn	Cd	Cr	Ni	Pb
<i>Amanita caesarea</i> (Chapeau)	0,12	0,25	0,18	0,52	0,51	0,06	0,14
<i>Amanita caesarea</i> (Pied)	0,08	0,13	0,16	0,17	0,37	0,04	0,08
<i>Pleurotus ostreatus</i> (Chapeau)	0,87	0,81	0,41	0,41	0,38	0,47	0,35
<i>Pleurotus ostreatus</i> (Pied)	0,84	0,65	0,35	0,18	0,22	0,15	0,26
<i>Fistulina hepatica</i> (Chapeau)	0,90	0,75	0,47	0,51	0,38	0,44	0,36
<i>Fistulina hepatica</i> (Pied)	0,72	0,38	0,39	0,32	0,14	0,15	0,14
<i>Armillariella mellea</i> (Chapeau)	0,17	0,10	0,15	0,35	0,16	0,19	0,16
<i>Armillariella mellea</i> (Pied)	0,08	0,06	0,09	0,24	0,08	0,10	0,10

Étudiant les valeurs de coefficient de bioaccumulation (Tableaux 4 et 5) des métaux lourds dans le corps des champignons étudiés, s'observent que les champignons matures sont meilleurs bioaccumulateurs des métaux lourds que les mêmes espèces des champignons, mais jeunes.

Espèces de champignons jeunes *Amanita caesarea* et *Armillariella mellea* sont susceptibles de bioaccumulation le cuivre, le chrome et le plomb (Figures 1 et 3).

Les espèces des champignons saprophytes, jeunes ou adultes, *Pleurotus ostreatus* et *Fistulina hepatica* collectés par les zones forestières à proximité de la voie routière ont des concentrations élevées de plomb (0,52 – 0,92 mg.kg⁻¹), cadmium (0,37 – 0,87 mg.kg⁻¹) et cuivre (5,08 – 10,2 mg.kg⁻¹) dans le chapeau (Figures 3 et 4).

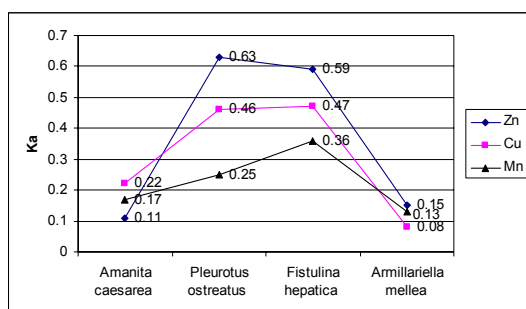


Figure 1. Bioaccumulation des métaux dans le chapeau des champignons jeunes sauvages comestibles

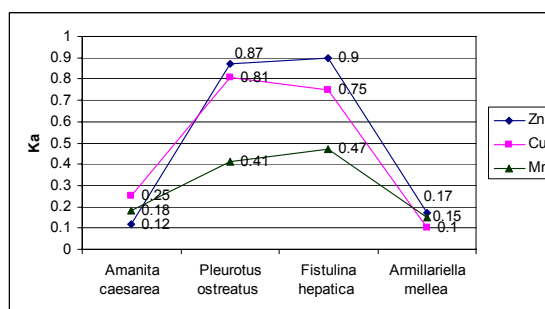


Figure 2. Bioaccumulation des métaux dans le chapeau des champignons adultes sauvages comestibles

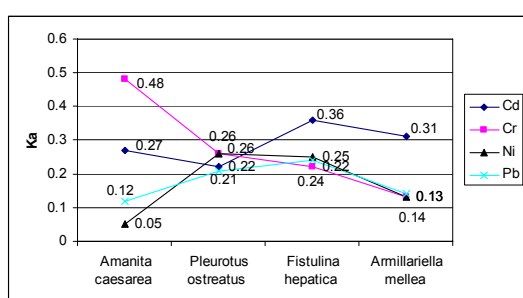


Figure 3. Bioaccumulation des métaux lourds dans le chapeau des champignons jeunes sauvages comestibles

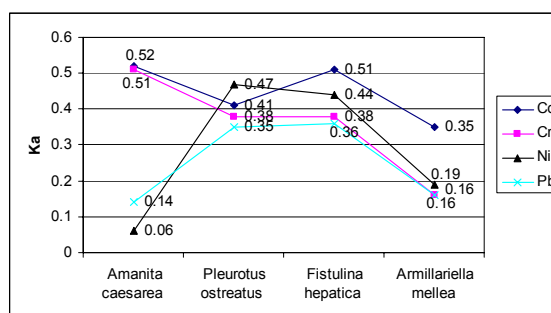


Figure 4. Bioaccumulation des métaux lourds dans le chapeau des champignons adultes sauvages comestibles

Tous les métaux lourds ont été bioconcentrés principalement dans le chapeau que le pied des champignons et ces haut niveaux de plomb et de cadmium dans toutes les espèces, peut provoquer des douleurs abdominales, convulsions, somnolence, vomissements, si sont consommées des peuples. Le niveau maximal pour certains contaminants dans les denrées alimentaires établies par la Commission des comités européenne (CE no 466/2001) est fixé à 0,2 et 0,3 mg.kg^{-1} de poids humide dans des champignons cultivés pour le Cd et respectivement Pb.

CONCLUSIONS

Détermination des métaux lourds dans les champignons sauvages comestibles a fait l'objet du présent article. Le corps des champignons, vraiment accumulé des métaux lourds du substrat et c'est la conséquence de plusieurs facteurs, comme le pH et la concentration des métaux lourds en sites pollués. Digestion assistée par micro-ondes utilisée dans ce travail et un technique d'analyse fiable et rapide pour la décomposition des échantillons de champignons des certains métaux comme le fer, le manganèse, le zinc, le cuivre, le chrome, le nickel, le cadmium et plomb.

Spectrométrie d'absorption atomique avec atomisation par flamme (SAA-AF) a été choisi pour l'analyse des métaux parce qu'elle est le plus rapide, offre également une

bonne sensibilité et peut mesurer des concentrations des éléments jusqu'à partie par million (ppm). La possibilité d'utilisation de la spectrométrie d'absorption atomique avec atomisation par flamme en vue de la détermination des agents de la pollution devient de plus en plus importante dans l'environnement et protection de la santé, tenant compte des effets cumulatifs de certains ions métalliques.

La capacité d'accumulation des éléments du substrat est espèce - dépendante. Les analyses ont arrêtées que tous les métaux lourds ont été bioconcentrés principalement dans le chapeau que de pied de champignon. Les champignons sauvages comestibles *Amanita caesarea*, *Pleurotus ostreatus*, *Fistulina hepatica* et *Armillariella mellea* matures sont meilleurs bioaccumulateurs de métaux lourds que les mêmes espèces des champignons, mais jeunes.

REMERCIEMENTS

Ce travail a été soutenu par des projets ANCS PN-II 17/12.09.2007 et PN-II-P4 72172/2008 et aussi, CNCSIS-UEFISCSU, projet PNII - IDEI 624/2008.

REFERENCES

1. Kalac, P., Svoboda, L.: A review of trace element concentrations in edible mushrooms, *Food Chem.*, **2000**, 69, 273-281;
2. Turkecul, I., Elmastas, M., Tuzen, M.: Determination of iron, copper, manganese, zinc, lead, and cadmium in mushroom samples from Tokat, Turkey, *Food Chem.*, **2004**, 84, 389-392;
3. Svoboda, L., Havlickova, B., Kalac, P.: Contents of cadmium, mercury and lead in edible mushrooms growing in a historical silver-mining area, *Food Chem.*, **2006**, 96, 580-585;
4. Stih, C., Radulescu, C., Busuioc, G., Popescu, I.V., Gheboianu, A., Ene A.: Studies on Accumulation of Heavy Metals from Substrate to Edible Wild Mushrooms, *Romanian Journal of Physics*, **2011**, 56 (1-2), 257-264;
5. Radulescu, C., Stih, C., Busuioc, G., Gheboianu, A.I., Popescu, I.V.: Studies concerning heavy metals bioaccumulation of wild edible mushrooms from industrial area by using spectrometric techniques, *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, **2010**, 84 (5), 641-647;
6. Radulescu, C., Stih, C., Popescu, I.V., Busuioc, G., Gheboianu, A.I., Cimpoa, Gh. V., Dulama, I.D., Diaconescu, M.: Determination of heavy metals content in wild mushrooms and soil by EDXRF and FAAS techniques, *Ovidius University Annals of Chemistry*, **2010**, 21 (1), 9-14;
7. Ene, A., Popescu, I.V., Stih, C., Gheboianu, A., Radulescu, C., Tigau, N., Gosav, S.: Assessment of river water quality in central and eastern parts of Romania using atomic and optical methods, *Journal of Science and Arts*, **2010**, 12 (1), 113-118;
8. Kim, S.K., Jintaek, I.M., Cheol-Heui, Y., Son, J.Y., Son, C.G., Park, D.K., Han, S.H.: *Armillariella mellea* induces maturation of human dendritic cells without induction of cytokine expression, *Journal of Ethnopharmacology*, **2008**, 119 (1), 153-159;
9. CITAC/EURACHEM Guide. *Guide to Quality in Analytical Chemistry*, Edition **2002**;
10. Popescu, I.V., Frontasyeva, M., Stih, C., Cimpoa, Gh.V., Radulescu, C., Gheboianu, A., Oros, C., Vlaicu, Gh., Petre, C., Bancuta, I., Dulama, I.D.: Nuclear and Nuclear Related Analytical Methods Applied in Environmental Research, *Romanian Journal of Physics*, **2010**, 55 (7-8), (accepted);
11. Popescu, I.V., Frontasyeva, M., Stih, C., Cimpoa, Gh.V., Radulescu, C., Gheboianu, A., Oros, C., Vlaicu, Gh., Bancuta, I., Dulama, I.D.: Analysis of Cr, Fe, Mn, Ni and Zn from Mosses by NAA, AAS and ICP-AES Methods, *Journal of Science and Arts*, **2009**, 11 (2), 268-274;

12. State, G., Popescu, I.V., Gheboianu, A.I., Radulescu, C., Dulama, I.D., Bancuta, I., Stirbescu, R.: Identification of Air Pollution Elements in Lichens Used as Bioindicators, by the XRF and AAS Methods, *Romanian Journal of Physics*, **2010**, 56 (1-2), 240-249;
13. State, G., Popescu, I.V., Gheboianu, A., Radulescu, C., Dulama, I., Bancuta, I., Stirbescu, R.: Lichens as biomonitors of heavy metal air pollution in the Targoviste area, *Journal of Science and Arts*, **2010**, 12 (1), 119-124;
14. *** Commission Regulation (EC) No 466/2001; Setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs, *Official Journal of the European Union*, **2001**, L 364/5;
15. *** Commission Regulation (EC) No 1881/2006; Setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs. *Official Journal of the European Union*, **2006**, L 88/29.