

فعالية قشور الرمان والكايتوسان في إزالة سمية الافلاتوكسين B₁ من الأوساط الزرعية السائلة

هبة فرحان دلي* هادي مهدي عبود** مهند محمد نوري*

الملخص

هدفت الدراسة إلى تقويم فاعلية كل من قشور ثمار الرمان ومادة الكايتوسان β -1,4 glucosamine كعوامل امدصاص لإزالة سموم الافلاتوكسين B₁ ومقارنة كفاءتها بكفاءة الفحم المنشط والطين. تمثت عزلة منتجة لسم الافلا B₁ للفطر *Aspergillus flavus* على وسط مستخلص الخميرة-سكرورز السائل لمدة 14 يوماً غومل راسح نمو العزلة بتركيزين 0.5 و1% لكل من الدباغ والكايتوسان والفحم المنشط والطين ولمدة 24 ساعة، جرى بعدها التحري عن سم الافلا B₁ باستخدام تقانة ألواح الكروماتوكرافي الرقيقة (TLC). أظهرت نتائج الكشف بتقانة ألواح الكروماتوكرافي الرقيقة (TLC)، أن استخدام الدباغ بتركيز 0.5 و1% أحدث خفضاً كبيراً في مساحة وشدة تآلق البقع مقارنةً بمساحة وشدة تآلق البقع في معاملة الفحم المنشط من جهة ومادة الكايتوسان من جهة أخرى الذي أظهر كفاءة اقل. على الرغم من إن الطين لم يظهر فاعلية كعامل امدصاص لكنه أظهر فاعلية في تحطيم السموم كما أظهرت ذلك نتائج الفحص بتقانة TLC. تعد هذه الدراسة أول تسجيل لفاعلية الدباغ ومادة الكايتوسان كعوامل مزيله للسمية التي يمكن استخدامها كمضافات في علائق الدواجن.

المقدمة

استقطبت سموم الافلاتوكسين اهتماماً كبيراً واحتلت مكان الصدارة بين السموم الفطرية بسبب تأثيراتها القوية المسرطنة في الحيوانات المخبرية وتأثيراتها السمية الحادة في الإنسان ولانتشارها في مديات حرارية واسعة وبمراحل مختلفة من العمليات الزراعية، إذ توجد في الحقل في مرحلة ما قبل الحصاد، وتزداد في العمليات ما بعد الحصاد كالتجفيف والخزن ويمكنها إن تلوث المحاصيل المخزونة حتى في غياب وجودها في الحقل (14، 16). وعلى الرغم من توصيات المنظمات الزراعية لتقليل من مستويات السموم الفطرية أثناء نمو المحاصيل، الحصاد والخزن إلا أن مشكلة تلوثها ما زالت موجودة، لذلك أجريت العديد من الدراسات لإزالة السموم الفطرية (Detoxification) أو تثبيطها (Inactivation) أو تحطيمها (Degradation) باستخدام طرائق كيميائية وفيزيائية وإحيائية (8).

كشفت الدراسات أثناء العقدين الأخيرين من القرن المنصرم عن مجموعة من المعقدات الكيميائية ذات القابلية العالية على ادمصاص (Adsorption) أو ربط (Binding) سموم الافلاتوكسين B₂ بقوى ربط لا تسعع لها بالتححر في الأوساط السائلة وفي القناة الهضمية للدواجن وتمثلت باستعمال أنواع من الطين والفحم المنشط وهذه المعقدات تضاف إلى الأوساط السائلة وإلى الأعلاف، إذ تقوم بربط السموم وإخراجها مع الفضلات ومنع عملية امدصاصها عن طريق الأمعاء في الدواجن (3، 5، 7).

يعد الكايتوسان مادة ذات نشاط محظي لذا يستعمل في تنقية المياه إذ يؤدي إلى ارتباط الرواسب مع بعضها البعض وبالتالي إزالتها في عملية الترشيح (Filtration)، فضلاً عن أنه يزيل المعادن الثقيلة والزيوت من المياه (24)، (18).

تحتوي قشور الرمان على التانين (Tannin) وهو المكون الرئيس للنواتج الثانوية (Secondary

Bioproduct) لقشرة ثمرة الرمان، إذ تصل نسبته إلى 28%، ولها القابلية على التحلل المائي (Hydrolysable

* كلية العلوم - الجامعة المستنصرية - بغداد، العراق.

** وزارة العلوم والتكنولوجيا - بغداد، العراق.

(Tannins)، لذا تستخدم كمضادات للأكسدة و كبح نشاط الجذور الحرة. لذا هدفت هذه الدراسة نحو
تقويم كفاءة قشور ثمار الرمان *Punica granatum* (الدباغ) والكايوسان (Chitosan) في امدصاص سموم
الافلاتوكسين B₁ من الأوساط السائلة ومقارنة كفاءتها بكفاءة الفحم المنشط والطين.

المواد وطرائق البحث

استخدم وسط مستخلص الخميرة - سكرورز (YES) لزراعة عزلات الفطر *Aspergillus flavus* المنتجة للافلاتوكسين B₁ (تم الحصول عليها من مختبر الأحياء المجهرية- كلية العلوم- الجامعة المستنصرية. لأنه وسطاً جيداً لنمو الفطريات وإنتاجها للسموم (12)، بعد تحضير الوسط (حضر هذا الوسط اعتماداً على *Davis et al., 1966*) وزع في دوارق زجاجية حجم 500 مل بواقع 250 مل لكل دورق، عقرت الدوارق في المؤسدة، لقيحت بعزلات الفطر *A. flavus* من مزارعها على وسط PDA بواقع قرص قطره 7 ملم وبعمراسبوع واحد وبمعدل ثلاثة مكررات لكل عزلة. حضنت الدوارق في الظلام وبدرجة حرارة 25±2 م° لمدة أسبوعين مع الرج اليومي ثم أجريت لها عملية اختبار فاعلية عوامل الامتصاص (9). اختبرت فاعلية كل من الفحم المنشط والطين وقشور ثمار الرمان (الدباغ) والكايوسان على امدصاص سموم الافلاتوكسين B₁ من الراشح عزلة الفطر *Asp. flavus* وضبطت الدالة الحامضية للراشح بإضافة حامض الهيدروكلوريك حين الوصول إلى الدالة الحامضية 5.3 ليتناسب مع معدل ما موجود فعلاً في القناة الهضمية للدواجن (23)، بعدها اخذ الراشح ووزع على قناني معتمة ومعقمة وبواقع 25 مل لكل قنينة وأضيفت المواد المذكورة آنفاً كلاً على انفراد بتركيزين 0.125 غم (0.5%) و0.25 غم (1%) / 25 مل لكل قنينة وبثلاثة مكررات لكل معاملة مع ترك 3 قناني تحوي مستخلص العزلة فقط للمقارنة. وضعت القناني على جهاز الهزاز بعد إحكام غلقها بسرعة 500 دورة/دقيقة ولمدة 24 ساعة، ثم أجريت لها عملية نبد مركزي باستخدام جهاز النبد المركزي بسرعة 1000 دورة/دقيقة لمدة 30 دقيقة، بعدها رشحت من خلال ورق الترشيح واستقبل محلول الراسب في قناني معقمة وتم جمع الراسب من ورق الترشيح بغسله في 15 مل من ماء مقطر واستقبل محلول الراسب في قناني معقمة، وأجريت بعد ذلك عملية استخلاص للافلاتوكسين B₁ من الراشح والراسب. اتبعت طريقة Jones (15) مع إجراء بعض التحويرات من قبلنا وهي:

- فصل سموم AFB₁ من الأوساط السائلة (YES) بدلاً من الأوساط أو المواد الصلبة مثل فستق الحقل والذرة.
- تم فصل سموم AFB₁ من محلول الراسب للفحم المنشط والطين وقشور ثمار الرمان (الدباغ) والكايوسان.
- استخدمت ألواح TLC جاهزة بدلاً من استخدام ألواح محضرة مختبرياً.
- ترك المزيج لمدة 15 دقيقة لإتمام عملية فصل الطبقتين بدلاً من 30 دقيقة.
- أجريت هذه التحويرات لغرض فصل السموم الفطرية (Aflatoxin B₁) من مزارعها على وسط YES، تسوفاً ألواح TLC جاهزة محلياً وكفاءة فصل الطبقتين في هذه المدة (15 دقيقة). وتمت الطريقة على النحو التالي:
- اخذ حجم 10 مل من الراشح ووضع في قمع الفصل وأضيف له مقدار حجمه كلوروفورم مع الرج لظرد الغازات الناتجة وتكرر العملية مرتين وأعطى الرمز (A).
- اخذ حجم 10 مل من محلول الراسب ووضع في قمع الفصل وأضيف له مقدار حجمه كلوروفورم مع الرج لظرد الغازات الناتجة وتكرر العملية مرتين وأعطى الرمز (B).
- ترك المزيج (A) و(B) لمدة 15 دقيقة في قمع الفصل لإتمام عملية فصل الطبقتين ثم مررت الطبقة السفلى المتمثلة بالكلوروفورم في كبريتات الصوديوم اللامائية ورشحت باستخدام ورق الترشيح.

- جفف راسح المزيغ (A) و (B) باستخدام الخففة وحفظ بالجمدة لحين إجراء الكشف أو استخدامه مباشرة لغرض إجراء الكشف الكيميائي عليه.

أجريت بعد ذلك عملية التحليل الكيميائي بطريقة TLC إذ تم الكشف عن الافلاتوكسين B₁ في مستخلصات مزارع عزلات الفطر *A.flavus* على ألواح هلام السليكا 20×20 Silica gel G60 سم بعد تنشيطها في الفرن الكهربائي بدرجة 105 م° لمدة ساعتين (20). بوجود السم القياسي AFB₁ واستخدم نظام الفصل كلوروفورم : ميثانول (10:90) حجم: حجم، ثم عمل خط مستقيم على لوحه TLC يبعد مسافة 2 سم من قاعدة اللوحه، أذيب المستخلص الجاف في 1 مل من الكلوروفورم وسحب منه 20 مايكروليتر ووضع بشكل بقعة على اللوحه بمسافة 1.5 سم بين كل بقعة وأخرى كما عملت بقعة واحدة من السم القياسي AFB₁ على اللوحه نفسها للمقارنة. تركت الألواح لحين جفاف البقع ووضعت في إناء الفصل الحاوي على محلول الفصل وتمت مراقبتها لحين وصول الغلول إلى مسافة تقارب 18 سم من نقطة البداية (2)، أخرجت الألواح وجففت ثم فحصت تحت الأشعة فوق البنفسجية ذات الطول الموجي 365 نانوميتر وتمت مطابقة معامل الترحيل (Rf) ولون التآلق مع المادة القياسية للمركب AFB₁.

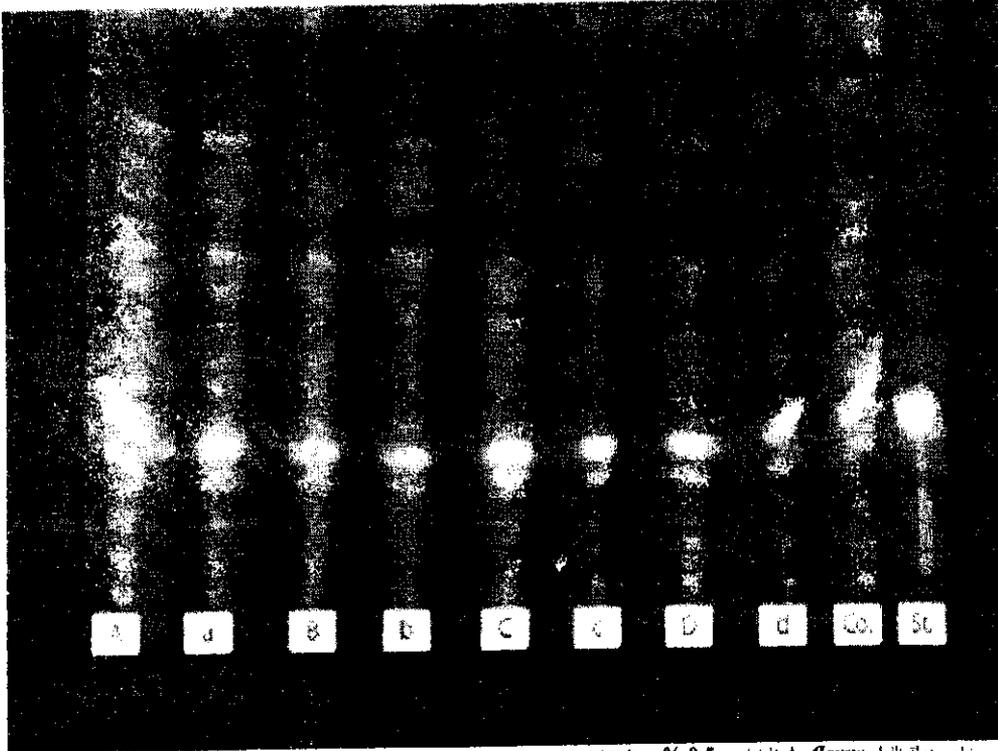
النتائج والمناقشة

أوضحت النتائج كفاءة الفحم المنشط والدباغ والكايتوسان على إزالة السمية وهذا ما أكدته نتائج الكشف على ألواح TLC من خلال خفض مساحة البقعة وشدة تآلقها.

على الرغم من كفاءة هذه المواد على امتصاص الافلاتوكسين B₁ إلا إن الدباغ أظهر تفوقاً على بقية المسواد المختبرة بدلالة مساحة وشدة تآلق البقع على ألواح TLC (شكل 1 و 2). وكان لإضافة الدباغ بنسبة 1% كانت فعالة في خفض مساحة بقعة الراشح وشدة التآلق، إذ إن مساحة البقعة في مستخلص الراسب كان مساوياً لمساحة البقعة في مستخلص الراشح، وكان لون التآلق متساوياً في كل من الراسب والراشح، وكذلك أدت إضافته بنسبة 0.5% إلى خفض مساحة بقعة الراشح وشدة تآلقه.

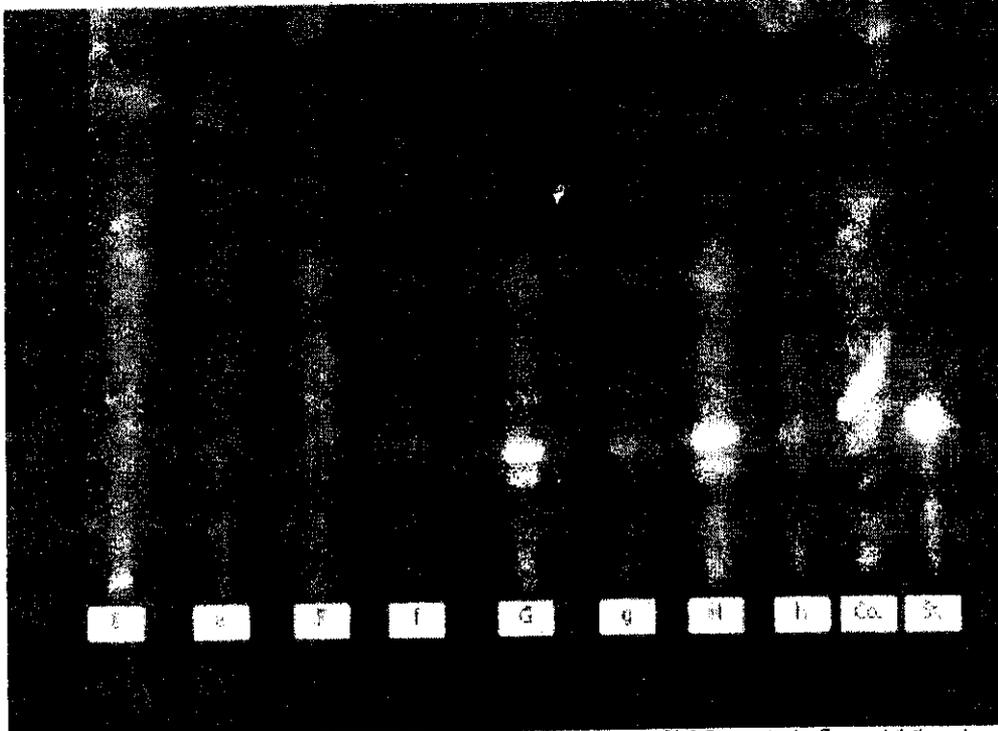
أظهر الفحم المنشط كفاءة أقل من الدباغ في امتصاص سم الافلاتوكسين B₁ وذلك عندما أدت إضافته بنسبة 1% إلى خفض مساحة بقعة الراشح وشدة التآلق وان إضافته بنسبة 0.5% أدت إلى خفض مساحة البقعة وشدة التآلق وبمستوى أقل من المعاملة بتركيز 1%. في حين أظهر الكايتوسان قابلية على امتصاص سم الافلاتوكسين B₁ إذ أظهرت النتائج اختزال مساحة بقعة الراشح وشدة تآلقه ولكن بكفاءة أقل من الفحم والدباغ. كما لم يظهر الطين أية قابلية على امتصاص الافلاتوكسين B₁ من الراشح بل أدى إلى اختفاء السم من الراشح والراسب في كلتا الإضافتين (1 و 0.5%).

أدت إضافة الفحم المنشط إلى راسح مستخلص العزلة ذات الدالة الحامضية 5.3 إلى تغيير جاهزية مركبات الافلاتوكسين للامتصاص من خلال امتصاص أو ربط الافلاتوكسين إلى سطح هذه المادة الكيميائية جزئياً بواسطة أواصر هيدروجينية قوية بين الشحنتات المختلفة لكل من الفحم المنشط من جهة وبين جزيئات سم الافلاتوكسين B₁ من جهة أخرى (19). تتفق هذه النتائج مع ما ذكره الورشان (3) إذ إن إضافة 1% من الفحم المنشط للمحلول الملوث بمكغم/لتر حققت اختزالاً في تركيز السم بنسبة 85%. كما ذكر Fabio وجماعته (11) في دراسة شملت 19 نوعاً من الفحم المنشط تفاوتت قابلية الفحم المنشط على امتصاص سم الافلاتوكسين B₁ إذ تراوحت بين 44-99% بحسب نوع الفحم والمعاملة التي أجريت عليه، وكانت هناك 4 أنواع أظهرت قابلية امتصاص أكثر من 99%.



A: راضع مستخلص عزلة الفطر *A. flavus* المعامل مع 0.5 % من الدباغ. B: راضع مستخلص عزلة الفطر *A. flavus* المعامل مع 0.5 % من الدباغ. C: راضع مستخلص عزلة الفطر *A. flavus* المعامل مع 1 % من الدباغ. D: راضع مستخلص عزلة الفطر *A. flavus* المعامل مع 1 % من الفقم المنشط AC. E: راضع مستخلص عزلة الفطر *A. flavus* المعامل مع 0.5 % من الفقم المنشط AC. F: راضع مستخلص عزلة الفطر *A. flavus* المعامل مع 1 % من الفقم المنشط AC. G: راضع مستخلص عزلة الفطر *A. flavus* المعامل مع 0.5 % من الكابتوسان. H: راضع مستخلص عزلة الفطر *A. flavus* المعامل مع 1 % من الكابتوسان. Co: راضع مستخلص عزلة الفطر *A. flavus* بدون معاملة. St: سم الافلاتوكسين القياسي.

شكل 1: كفاءة الممدصات الكيميائية المختبرة على امدصاص الافلاتوكسين B₁



E: راضع مستخلص عزلة الفطر *A. flavus* المعامل مع 0.5 % من الطين حارة. F: راضع مستخلص عزلة الفطر *A. flavus* المعامل مع 1 % من الطين حارة. G: راضع مستخلص عزلة الفطر *A. flavus* المعامل مع 0.5 % من الكابتوسان. H: راضع مستخلص عزلة الفطر *A. flavus* المعامل مع 1 % من الكابتوسان. Co: راضع مستخلص عزلة الفطر *A. flavus* بدون معاملة. St: سم الافلاتوكسين القياسي.

شكل 2: كفاءة الممدصات الكيميائية المختبرة على امدصاص الافلاتوكسين B₁

واعتماداً على هذه النتائج فقد اظهر الطين (طين خاوة) قابلية على تحطيم الافلاتوكسين B₁ (إذ لم يظهر السم في الراشح والراسب) مما أدى إلى اختفاء السم من الراشح، وقد يعود ذلك إلى احتواء الطين على أحياء مجهرية تمتلك قابلية عالية على تحطيم الافلاتوكسين B₁ وبالتالي اختفائه. وتتفق هذه النتائج مع ما ذكر سابقاً (22) إذ وجد أن الفطريات *Rhizopus sp.720*, *Rhizopus sp. 668*, *Phoma sp.*, *Trichoderma sp.639*, *Sporotrichum sp. ADA*, *Sporotrichum sp. sf*، و *Alternaria sp.* أظهرت قدرة عالية على تحطيم سم الافلاتوكسين B₁ ما بين 65-99% أثناء 5 أيام عند درجة حرارة 28±2°م. كما ذكر Al-shanon (6) إن استخدام الخميرة *Saccharomyces cerevisiae* بتركيز 0.3% أدى إلى إزالة الافلاتوكسين B₁ بتركيز 2000 ppm في علائق الدواجن الملوثة به. وذكر D'Souza and Brackell (10) إن للبكتريا *Flavobacterium aurantiacum* قدرة على إزالة سموم الافلاتوكسين B₁ في الأوساط السائلة وفي العديد من المنتجات الغذائية بضمنها الحليب والفول السوداني والخنطة وأظهرت كفاءة عالية دون إن تترك أي تأثيرات في المنتوج. كما أشار Karlovsky (17) إلى قدرة كل من *Lactobacillus sp.*, *Streptococcus sp.* و *Bifidobacterium sp.* على تحطيم الافلاتوكسين B₁ في الحليب أثناء عملية التخمير.

تعود فعالية الكايتوسان في إزالة السمية إلى أنه مادة ذات نشاط مخلي إذ يحوي على شحنات موجبة في المحاليل الحامضية (18)، لذا يستعمل الكايتوسان في تنقية المياه إذ يؤدي إلى ارتباط الرواسب مع بعضها البعض وبالتالي إزالتها في عملية الترشيح (Filtration)، فضلاً عن أنه يزيل المعادن الثقيلة والزيوت من المياه (24). ونظراً لفعالية الكايتوسان في الارتباط مع الدهون في الجهاز الهضمي فهو يستخدم في معالجة ارتفاع الكولسترول في الدم وزيادة الوزن (13). كما ويستخدم الكايتوسان كمحطات للنمو ويزيد من قابلية النبات للدفاع ضد الإصابات الفطرية (21). أما الدباغ فقد ترجع فعاليته في إزالة السمية إلى وجود التانين (Tannin) وهو المكون الرئيس للسنواتج الثانوية (Secondary Bioproduct) لقشرة ثمرة الرمان، إذ تصل نسبته إلى 28%، وهناك نوعان من التانينات Punicalin و Punicalagin الموجودة في قشرة ثمرة الرمان التي لها القابلية على التحلل المسائي (Hydrolysable Tannins)، وتستخدم هذه التانينات الذائبة في الماء كمضادات للأوكسدة وخصوصاً ذات الأوزان الجزيئية العالية لاحتوائها على عدد كبير من مجاميع الهيدروكسيل الفينولية للجزيئة الواحدة التي تعزز من نشاط التانين (Tannin) في كبح نشاط الجذور الحرة وبتراكيز واطنة جداً (1).

كما تقدم يعد هذا أول تسجيل في العراق لقدرة هاتين المادتين على امدصاص سم الافلاتوكسين من الناحية التطبيقية، فبعد كفاءة دباغ الرمان وبهذه النسبة الواطئة ذات أهمية بالغة خصوصاً وإن هذه المادة متوفرة محلياً ولا تحتاج إلى معاملات مسبقة سوى عملية التجفيف والطحن.

المصادر

- 1- السعيد، أسيل ياسين كاظم (2008). تأثير المستخلص المائي الخام لقشور الرمان على خطوط الخلايا السرطانية النامية في الدجاج والقران. رسالة ماجستير. كلية العلوم. الجامعة المستنصرية.
- 2- العزاوي، بتول زينل (1977). دراسة مدى تلوث العلائق الحيوانية بالافلاتوكسين والفطريات المنتجة له والمعزولة منها. رسالة ماجستير. كلية العلوم. جامعة بغداد.
- 3- الورشان، سالم حسن صالح (2006). مقارنة بعض المعززات الحياتية ومتمزين في خفض الآثار السلبية للسم أفلا B₁ وتحسين الأداء الإنتاجي لفروج اللحم. أطروحة دكتوراه. كلية الزراعة. جامعة بغداد.
- 4- دلي، هبه فرحان (2009). عزل وتشخيص الفطريات المرافقة لأعلاف الدواجن والتجوي عن مستوى التلوث بالافلاتوكسين. رسالة ماجستير. كلية العلوم. الجامعة المستنصرية.

- 5- مغلس، محمود احمد عبد القادر (2004). الكشف عن الفيومونيزين B₁ وإمكانية إزالة سميته في حبوب الذرة الصفراء وتأثيراته الحيوية في الطيور الداجنة. أطروحة دكتوراه. كلية الزراعة. جامعة بغداد.
- 6- Al-Shanon, A.F. (2001). Ability of various isolates of *Saccharomyces cerevisiae* on removal of aflatoxin in broiler feedstuff. Thesis of Master of Science. College of Science. Al-Nahrine University.
- 7- Bara, C. (2008). Aflatoxin B₁ removal from contaminated media. FACICULA: Ecotoxicologie, Zootehnie.Si Tehnologh DE Industrie Alimentara.vol.7.
- 8- Council for Agriculture, Science and Technology (CAST) (2003). Mycotoxins: Risks in Plants, Animal and Human Systems. In:
- 9- Davis, N.D.; U.L. Diener and D.W. Eldridage (1966). Production of aflatoxin B₁ and G₁ by *Aspergillus flavus* in a semisynthetic medium. Appl. Microbiol., 14:378.
- 10- D'Souza, D.H. and R.E. Brackett (2001). Aflatoxin B₁ degradation by *Flavobacterium aurantiacum* in the presence of reducing conditions and seryl and sulfhydryl group inhibitors. J. Food prot., 64:268-271.
- 11- Fabio, Pietri, G.A.; B. Fallico; T. Bertuzzi; S. Scire; M. Galvano and R. Maggiore (1997). Activated Carbons: *in vivo* affinity for fumonisin B₁ and relation of adsorption ability to physicochemical parameters. J. of Food Protection, 60 (8):985-991.
- 12- Fente ,C.A.; J. Jaimez Ordaz; B.I. Vazques; C.M. Franco and A. Cepeda (2001). New additive for culture media for rapid identification of aflatoxin production *Aspergillus* strains. Appl. Environ. Microbiol. 67(10):4858-4862.
- 13- Gades, M.D. and J.S. Stern (2003). Chitosan supplementation and fecal fat excretion in men. Obesity Research Org.
- 14- Gratz, S.; H. Mykkanen; A.C. Ouwehand; R. Juvonen; S. Salienc and H. El-Nezami (2004). Intestinal Mucus alters the ability of probiotic bacteria to aflatoxin B₁ *in vitro*. Appl. and Envi. Microbi.
- 15- Jones, B.D. (1972). Method of aflatoxin analysis. G.70. Tropical Products Institute.
- 16- Kabak, B.; A.D.W. Dobson and H. Var (2006). Strategies to prevent mycotoxin contamination of food and animal feed. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 46 (8)593-619.
- 17- Karlovsky, P. (1999). Biological detoxification of fungal toxins and its use in plant breeding, feed, and food production. Nat. Toxins, 7:1-23.
- 18- Kean, T.; S. Roth and M. Thanou (2005). Trimethylated chitosans as non-viral gene delivery vectors: cytotoxicity and transfection efficiency. J. Control Release, 103 (3):643-653.
- 19- Lemke, S.L.; S.E. Ottinger; K. Mayura; C.L. Ake; K. Pimpukdee; N. Wang and T.D. Phillips (2001). Development of a multi-tiered approach to the *in vitro* prescreening of clay-based enterosorbents. Anim. Feed Sci. Technol., 93:17-29.
- 20- Seitz, L.M. and H.W. Mohr (1977). New method for quantification of aflatoxin in corn. Cerela Chem. 54:179-183.
- 21- Shahidi, F. and J. Synowiecki, (1991). Isolation and characterization of nutrients and value-added products from snow crab (*Chionoecetes opillio*) and shrimp (*Pandalus borealis*) processing discards. J. of Agricultural and Food chemistry, 39(8):1527-1532.
- 22- Shantha, T. (1999). Fungal degradation of aflatoxin B₁. Nat. Toxins, 7:175-178.
- 23- Whitlow, G.G. (2000). Sturkie's avian physiology. 5 ed. 314.
- 24- Woodmansey, A. (2002). Chitosan Treatment of Sediment Laden Water- Washington State I-90 Issaquah Project. Fedral Highway Administration. U.S. Department of Transportation.

THE EFFICIENCY OF POMEGRANATE PERICARP AND CHITOSAN IN DETOXIFICATION AFLATOXIN B₁

H.F. Duli*

H.M. Aboud**

M.M. Noori*

ABSTRACT

This study was aimed to evaluate the activity of Pomegranate pericarp and chitosan (β -1, 4 glucosamine) as absorptive agents for Aflatoxin B₁ as compared to activated carbon and clay. A toxigenic isolate of *Aspergillus flavus* for aflatoxin B₁ was cultivated on yeast extract – sucrose broth for 14 days, the culture filtrate treated with 0.5 and 1% of each of Pomegranate pericarp, chitosan, activated carbon and clay separately for 24 hours, aflatoxin B₁ detection using Thin Layer Chromatography was conducted. The results of Thin Layer Chromatography (TLC) revealed that using of Pomegranate pericarp in concentration 0.5 and 1% induced sever reduction in both the spot area and its fluorescence as compared to that of activated carbon and chitosan which appear less efficient. Although clay didn't appear as absorptive agent but it showed high activity in degrading the toxin as showed by the TLC results. This study was the first in recording the detoxification of Pomegranate pericarp and chitosan as detoxification agents, which made possible to utilize them as additives to poultry feed.

* College of Science.- El-Mustansria Univ.- Baghdad, Iraq.

**Ministry of Science and Tech.- Baghdad, Iraq.