

## بررسی برخی خواص فیزیکی، مکانیکی و ضد میکروبی فیلم‌های دولایه پکتین-موم کارنوبا به همراه نانوتیتان

الهام مجد زاده<sup>۱</sup>، احمد رجایی<sup>۲\*</sup>، حسین میرزایی مقدم<sup>۳</sup>، محمد هادی موحد نژاد<sup>۳</sup>

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی شاهرود

۲- استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی شاهرود

۳- استادیار گروه مکانیک بیوسیستم، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی شاهرود.

(تاریخ دریافت: ۹۶/۰۱/۲۵ تاریخ پذیرش: ۹۶/۱۱/۳۰)

### چکیده

در این پژوهش، فیلم‌های امولسیون بر پایه پکتین به روش قالب‌ریزی، تهیه شدند و اثرات نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم و موم کارنوبا به طور هم‌زمان، بر روی خواص مکانیکی و خاصیت ضد میکروبی فیلم‌ها مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که با افزایش میزان نانوذرات نفوذپذیری به بخار آب کاهش پیدا کرد. نتایج آزمایشات مکانیکی صورت گرفته بر روی فیلم‌ها نشان داد که با افزودن موم کارنوبا بر روی فیلم‌های پکتینی، مقاومت کششی فیلم‌ها نسبت به فیلم شاهد، کاهش پیدا کرد. اما نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم باعث افزایش مقاومت کششی شد. بیشترین مقاومت کششی در مورد فیلم‌های حاوی ۱٪ نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم مشاهده شد. همچنین موم کارنوبا باعث افزایش کشسانی فیلم‌ها شد ولی نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم بالعکس، باعث کاهش کشسانی فیلم‌ها شدند. در مورد ویژگی‌های ظاهری فیلم‌ها نتایج نشان داد که نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم و کارنوبا در ساختار زیست‌بسیار، شفافیت و روشنایی فیلم‌ها را کاهش داد. در مورد شاخص زردی، موم کارنوبا باعث افزایش زردی و نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم باعث کاهش زردی شدند. نتایج آزمون ضد میکروبی نشان داد که با افزایش میزان نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم اثر بازدارندگی فیلم‌ها در مقابل باکتری *اشریشیا کلی* بیشتر شد و غلظت ۳٪ بیشترین اثر بازدارندگی را از خود نشان داد. همچنین فیلم‌ها از نظر مورفولوژی و توزیع نانوذرات  $TiO_2$  با استفاده از میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) و پراش اشعه ایکس (XRD)، بررسی شدند. نتایج نشان داد که با افزایش غلظت نانوذرات میزان تجمع و کلوخه‌ای شدن نانوذرات افزایش یافت.

**کلید واژگان:** فیلم نانوکامپوزیتی، دی‌اکسید تیتانیوم، پکتین، موم کارنوبا، بسته‌بندی فعال

\*مسئول مکاتبات: ahmadrajaei@gmail.com

## ۱- مقدمه

امروزه آلودگی‌های شیمیایی ناشی از وارد شدن مواد بسته‌بندی سنتزی و پلاستیک‌ها به محیط زیست یکی از بزرگترین خطراتی است که زندگی بشر را تهدید می‌کند. از این رو پژوهشگران همیشه به دنبال راه‌حلی برای این مشکل مهم و اساسی بوده‌اند. در سال‌های اخیر استفاده از مواد زیست-تخریب‌پذیر در بسته‌بندی مواد غذایی و محصولات کشاورزی و برخی صنایع دیگر مورد توجه قرار گرفته است. بنابراین استفاده از فیلم‌های خوراکی و پوشش‌های قابل تجزیه از مواد بیولوژیک و بسپارهای طبیعی روشی جایگزین به منظور حل مشکل تجمع زباله‌های دیرتجزیه‌پذیر در طبیعت می‌باشد [۱].

فیلم‌های خوراکی براساس ماده ساختاری به سه گروه پلی‌ساکاریدی، پروتئینی و لیپیدی تقسیم می‌شوند. فیلم‌های پلی‌ساکاریدی آب‌دوست هستند و بازدارندگی مناسبی را در برابر روغن‌ها و چربی‌ها فراهم می‌آورند، اما ویژگی‌های بازدارندگی آن‌ها در برابر رطوبت ضعیف است. فیلم‌های پروتئینی عمدتاً ویژگی‌های مکانیکی و بازدارندگی بهتری در مقایسه با فیلم‌های پلی‌ساکاریدی دارند. لیپیدها بازدارندگی خوبی در برابر رطوبت داشته اما در رابطه با پایداریشان (به ویژه اکسیداسیون)، بافت و کیفیت ارگانولپتیکی (آزمون شفافیت و مومی بودن) معایبی دارند. در سال‌های اخیر استفاده از فیلم‌های کامپوزیت به منظور بهبود بسیاری از ویژگی‌های عملکردی فیلم‌های تک‌لایه روتق داشته است. در میان فیلم‌های خوراکی مختلف، فیلم‌های ترکیبی از پروتئین یا پلی‌ساکاریدها با لیپیدها بسیار مورد توجه قرار گرفته‌اند، زیرا لیپیدها به کاهش انتقال بخار آب کمک می‌کنند و پروتئین‌ها یا پلی‌ساکاریدها به فیلم قدرت و استحکام می‌بخشند [۲]. مهمترین لیپیدهایی که عمدتاً مورد استفاده قرار می‌گیرند شامل اسیدهای چرب ۱۴-۱۸ کربنه، مونو، دی و تری استئارین، استئاریل الکل، روغن‌های گیاهی هیدروژنه و غیرهیدروژنه و واکس‌ها (موم زنبور عسل، موم کاندلیلا، کارنوبا و پارافین) می‌باشند. موم کارنوبا از برگ‌های درخت نخل برزیلی به دست می‌آید. این موم سخت‌ترین موم طبیعی شناخته شده است و نقطه ذوبی در حدود ۸۰ درجه سانتی گراد دارد. این موم با روغن‌ها، چربی‌ها و سایر موم‌ها آمیخته می‌شود [۳].

طراحی بسته‌بندی‌های زیست‌تخریب‌پذیر، ابداع بسته‌بندی‌های ضد میکروبی و ایمن نیز بسیار حائز اهمیت است. فیلم‌های

خوراکی می‌توانند به عنوان یک حامل برای افزودنی‌ها و ترکیبات مختلف مانند مواد ضد میکروبی، آنتی‌اکسیدان‌ها، عوامل طعم‌دهنده و غیره عمل کنند که در این حالت به آن‌ها بسته‌بندی فعال گفته می‌شود [۴].

نانو ذرات  $TiO_2$  به دلیل داشتن گروه‌های دارای بار مثبت روی سطح، ماهیت قطبی دارد. این ترکیب دارای سه ساختار بلوری روتایل، آناتاز و بروکیت می‌باشد. کاربرد این نانوذره در سازمان غذا و داروی آمریکا (FDA) به عنوان ترکیبی غیرسمی برای استفاده در غذای انسان، داروها، مواد آرایشی تأیید شده است [۵]. استفاده از این نانوذرات در بسته بندی مواد غذایی می‌تواند باعث از بین رفتن لکه‌های رنگی، ترکیبات بدبو، فساد میکروارگانسیم‌های بیماری‌زا و عوامل آلرژی‌زا در حضور تابش پرتوهای فرابنفش گردد. همچنین این نانوذرات می‌توانند با گاز اتیلن واکنش داده و آن را تجزیه کنند و به این ترتیب باعث افزایش عمر انبارداری میوه و سبزیجات شوند [۶]. افزودن نانوذرات دی‌اکسیدتیتانیوم به فیلم‌ها ویژگی‌های مکانیکی و فیزیکوشیمیایی آن‌ها را بهبود می‌بخشد [۷].

با توجه به مطالب ذکر شده هدف این پژوهش تولید فیلم ترکیبی زیست تخریب پذیر پکتین و موم کارنوبا به همراه نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم و بررسی برخی از خواص فیزیکی و ضد میکروبی فیلم‌های تولیدی می‌باشد.

## ۲- مواد و روشها

### ۲-۱- مواد

پکتین (پکتین سیب، شرکت سیلوا<sup>۱</sup>، محصول ایتالیا)، موم (واکس میوه کارنوبا مدل M14، کمپانی سازنده XED International، فرانسه)، گلیسرول (شرکت مرک<sup>۲</sup> آلمان)، نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم (نانو تیتان) با نام تجاری P25 ساخت کشور آلمان، شرکت دگوسا و نیتريت کلسیم و سولفات کلسیم (خریداری از شرکت مرک آلمان)، محیط کشت پلیت کانت آگار<sup>۳</sup> و نوترینت براث<sup>۴</sup> از شرکت مرک آلمان، باکتری *اشریشیا کلی* (ATCC:25922) تهیه شده از مؤسسه رازی تهران.

1. Silva

2. Merck

3. Plate count agar

4. Nutrient broth

$\Delta m$  = افت جرمی مربوط به فنجان (گرم)  $P$  = اختلاف فشار جزئی (Pa)، بین درون و بیرون فنجان  $X$  = ضخامت (m)  $A$  = سطح در معرض (m<sup>2</sup>)  $t$  = زمان (S)

#### ۲-۴- اندازه‌گیری ویژگی‌های رنگ فیلم‌ها

جهت تعیین رنگ نمونه‌ها از دستگاه رنگ‌سنج هانتربل (Hunterlab Colorflex EZ ساخت USA) استفاده شد. با استفاده از رنگ‌سنج هانتربل پارامترهای  $a$ ،  $L$  و  $b$  اندازه‌گیری شد. مدل رنگی  $Lab$ ، مرکب از جزء روشنایی (مقدار  $L$  دامنه‌ای از صفر تا ۱۰۰ دارد که صفر = رنگ سیاه و ۱۰۰ = رنگ سفید) و دو جزء رنگی دامنه‌ای از ۱۲۰- تا ۱۲۰+ دارند، شامل جزء  $a$  (-a) = سبزی و  $a$  = قرمزی) و جزء  $b$  (-b) = آبی و  $b$  (+b) = زردی). در مورد هر نمونه، ۳ نقطه مورد اندازه‌گیری قرار گرفت و میانگین در ۳ تکرار محاسبه شد. اختلاف رنگ کل ( $\Delta E$ )، شاخص زردی<sup>۲</sup> (YI) و شاخص سفیدی<sup>۳</sup> (WI) و شفافیت فیلم‌ها، با استفاده از رابطه‌های اشاره شده در کار اوجاق و همکاران (۲۰۱۰) محاسبه شدند [۱۱]. پارامترهای رنگی استاندارد ( $L=92/35$ )،  $a=0/99$  و  $b=1/84$ ) برای محاسبه اختلاف رنگ کل استفاده شد.

#### ۲-۵- اندازه‌گیری خواص مکانیکی فیلم‌ها

آزمایشات مکانیکی با استفاده از دستگاه بافت‌سنج ساخت شرکت بروکفیلد آلمان انجام شد. برای انجام آزمایشات مکانیکی، فیلم‌ها به شکل مستطیل به ابعاد ۵×۲ cm بریده شدند. فاصله بین دو فک دستگاه 40 mm و سرعت دو فک ۲ mm/s تنظیم گردید [۱۲]. پیش از انجام آزمون‌های مکانیکی، به منظور تعدیل رطوبتی فیلم‌ها، تمام نوارهای تهیه شده از نمونه‌های مختلف فیلم در دسیکاتور حاوی محلول اشباع  $Mg(NO_3)_2$  در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت قرار گرفتند. مهم‌ترین شاخص‌های سنجش خواص مکانیکی فاکتورهای استحکام کششی و درصد کشش (تغییر طول نمونه تقسیم بر طول اولیه) در نقطه گسیختگی و مدول یانگ هستند که از روی منحنی‌های تنش-کرنش به دست آمدند [۷].

#### ۲-۲- تهیه فیلم دولایه پکتین-موم کارنوبا به

##### همراه نانوتیتان

برای تهیه فیلم‌های پکتینی از روش پاولات و همکاران با ایجاد اصلاحاتی استفاده شد [۸]. به همین منظور، ابتدا پکتین (۵٪ جرمی/حجمی) به آب مقطر اضافه گردید، سپس گلیسرول نیز به عنوان یک پلاستیسایزر (۵٪ حجمی/حجمی) اضافه شد و در دمای ۶۵ °C به مدت ۳۰ min بر روی همزن مغناطیسی تحت هم زدن مداوم قرار داده شد، بعد از اینکه ژل شفافیت تشکیل شد، محلول در پلیت‌های یکبار مصرف به ضخامت ۱ cm ریخته شد و سپس در دمای محیط (۲۵ °C) و به مدت ۳ الی ۴ روز قرار گرفت تا خشک شوند.

در مرحله بعد تعدادی از فیلم‌های پکتینی با استفاده از امولسیون موم کارنوبا، به روش غوطه‌وری پوشش‌دار شد. همچنین با استفاده از موم کارنوبا محلول‌هایی از نانوذرات دی-اکسید تیتانیوم (با درصدهای ۰/۵، ۱، ۲ و ۳) تهیه شد. برای اطمینان بهتر از پخش شدن ذرات نانو در امولسیون موم کارنوبا از اولتراسوند به مدت ۵ دقیقه استفاده شد و به این ترتیب فیلم‌های پکتینی به دست آمده در مرحله قبل با استفاده از محلول‌های نانو به دست آمده با درصدهای مختلف به روش غوطه‌وری پوشش‌دار شد. برای این منظور نیز از روش ولر و همکاران با اندکی اصلاحات استفاده شد [۹].

#### ۲-۳- اندازه‌گیری نفوذپذیری به بخار آب

آزمون نفوذپذیری به بخار آب (WVP) فیلم‌های تولیدی طبق روش شماره E 96-95 مصوب استاندارد ASTM انجام شد. برای انجام این آزمون از فنجانک‌هایی با قطر داخلی ۳ cm و ارتفاع ۳/۵ cm استفاده شد. فنجانک‌ها محتوی ۸ ml آب مقطر بودند که می‌توانست رطوبت ۱۰۰٪ را در فضای فنجانک‌ها ایجاد کند. نمونه‌های فیلم بر روی دهانه فنجانک‌ها قرار داده شد و با کمک واشر، گریس و گیره محکم و آب‌بندی شدند. فنجانک‌ها درون یک دسیکاتور محتوی سیلیکاژل قرار داده و هر ۱۲ h یک بار توزین شدند و میزان افت وزنی با استفاده از ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۰۰۱ به دست آمد. میزان نفوذپذیری به بخار آب با استفاده از رابطه (۱) به دست آمد [۱۰].

$$WVP = \frac{\Delta m \times X}{A \times \Delta t \times \Delta P}$$

1. Hunter Lab colorimeter
2. Yellowness Index
3. Whiteness Index
4. Texture analyzer

۲۴ از نمونه ها مقدار مشخصی به محیط کشت نوترینت آگار منتقل شده و پس از گرمخانه گذاری در ۳۷ درجه سلسیوس به مدت ۲۴ ساعت تعداد کلنی ها شمارش شد. کاهش سلولها طبق رابطه (۲) محاسبه شد [۱۴].

$$\text{تعداد میکروپ در شاهد} - \text{تعداد میکروپ در نمونه} = \text{سلول کاهش سلول} \\ \text{تعداد میکروپ در شاهد}$$

## ۲-۹- تجزیه و تحلیل آماری

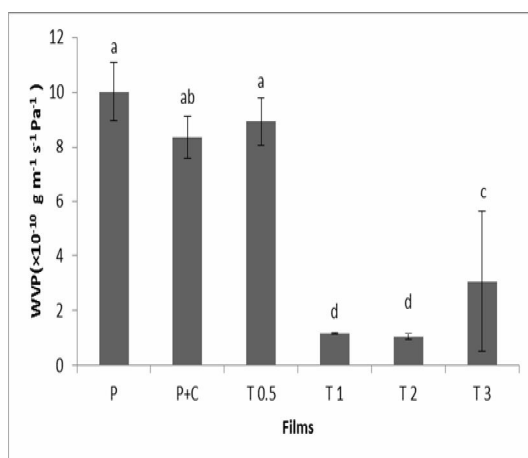
تمام آزمونها، برای هر تیمار در ۳ تکرار صورت پذیرفت. نوع آزمایش طرح کاملا تصادفی بود و دادهها با استفاده از نرم افزار SPSS مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و در نهایت مقایسه میانگین به روش دانکن در سطح ۹۵٪ انجام شد.

## ۳- نتایج و بحث

### ۳-۱- ویژگیهای نفوذپذیری نسبت به بخار

#### آب فیلمها

نتایج مربوط به آزمون نفوذپذیری به بخار آب در شکل (۱) آورده شده است. با توجه به شکل (۱) میزان WVP در فیلمهای امولسیون شاهد (فیلم پکتینی) بالاتر از فیلمهای پکتینی به همراه موم کارنوبا و نانوذرات  $\text{TiO}_2$  مشاهده شد. اما نتایج آماری نشان داد که نمونه شاهد و فیلم پکتین-کارنوبا و همچنین فیلم پکتین-کارنوبا به همراه ۰/۵٪ نانوذرات  $\text{TiO}_2$  اختلاف معنی داری در سطح ۵ درصد با یکدیگر نداشتند.



**Fig 1** Effect of different amounts of  $\text{TiO}_2$  and carnauba wax on water vapor permeability of pectin-based films (p: pectin, c: carnauba wax, T:  $\text{TiO}_2\%$ )

## ۲-۶- آزمون پراش پرتو ایکس (XRD)

در این پژوهش از دستگاه پراش اشعه ایکس فیلیپس ساخت کشور هلند، مدل XPert Pro MDP برای ارزیابی فیلمها استفاده شد. گستره زاویه اندازه گیری این دستگاه ۰/۶-۱۵۷ درجه بود [۱۳].

## ۲-۷- آزمون میکروسکوپ الکترونی روبشی

### (SEM)

در این پژوهش به جهت بررسی و مطالعه تغییرات سطحی فیلمها و چگونگی توزیع ذرات در سطح فیلمها از میکروسکوپ الکترونی روبشی استفاده شد. در این قسمت نیز از دستگاه SEM فیلیپس ساخت کشور هلند، مدل XL30، استفاده شد. تفکیک پذیری عددی این دستگاه ۲nm بود. ولتاژ شتاب دهنده این دستگاه نیز ۱-۳۰ کیلو الکترون ولت بود.

## ۲-۸- بررسی فعالیت ضد میکروبی فیلمها

به منظور بررسی ویژگی ضد میکروبی فیلمهای پکتین-موم کارنوبا به همراه نانو دی اکسید تیتانیوم از آزمون شمارش میکروبی به روش کشت در پلیت و میکروب اشیریشیا کلی، در ساعت های ۶ و ۲۴ گرمخانه گذاری شده (دمای  $37^\circ\text{C}$ ) استفاده شد. در ابتدای کار محلول هایی از نانو دی اکسید تیتانیوم (۰ شاهد)، ۰/۵، ۱، ۲، ۳٪ تهیه شد. گام بعدی فعال سازی میکروب بود، به این منظور مقداری از میکروب را به درون محیط کشت نوترینت آگار<sup>۱</sup> پاساژ داده و به مدت ۲۴ h در انکوباتور شیکردار در دمای  $37^\circ\text{C}$  قرار داده شد تا میکروب رشد کند، رشد میکروبها باعث ایجاد کدورت در محیط کشت گردید، میزان کدورت با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر اندازه گیری شد، جذب بین ۰/۴ تا ۰/۷ نشان دهنده تعداد میکروبها در حدود نیم مکفارلند ( $1/5 \times 10^6$ ) بود. به تعداد هر نمونه چهار لوله آزمایش قرار داده و عملیات رقت سازی تا  $10^{-4}$  انجام شد. سپس از هر نمونه فیلم به رقت های  $10^{-4}$  اضافه شد. در مرحله بعدی رقت های  $10^{-4}$  هر نمونه را درون پلیت هایی ریخته و درب آنها با سلوفان بسته و به مدت ۲ h در زیر نور فرابنفش نزدیک قرار داده، بعد از ۲ h نمونهها را برداشته و در انکوباتور شیکردار با دور ۷۰ rpm و دمای  $37^\circ\text{C}$  به مدت ۲۴ h قرار داده شد، در ساعت های ۶ و

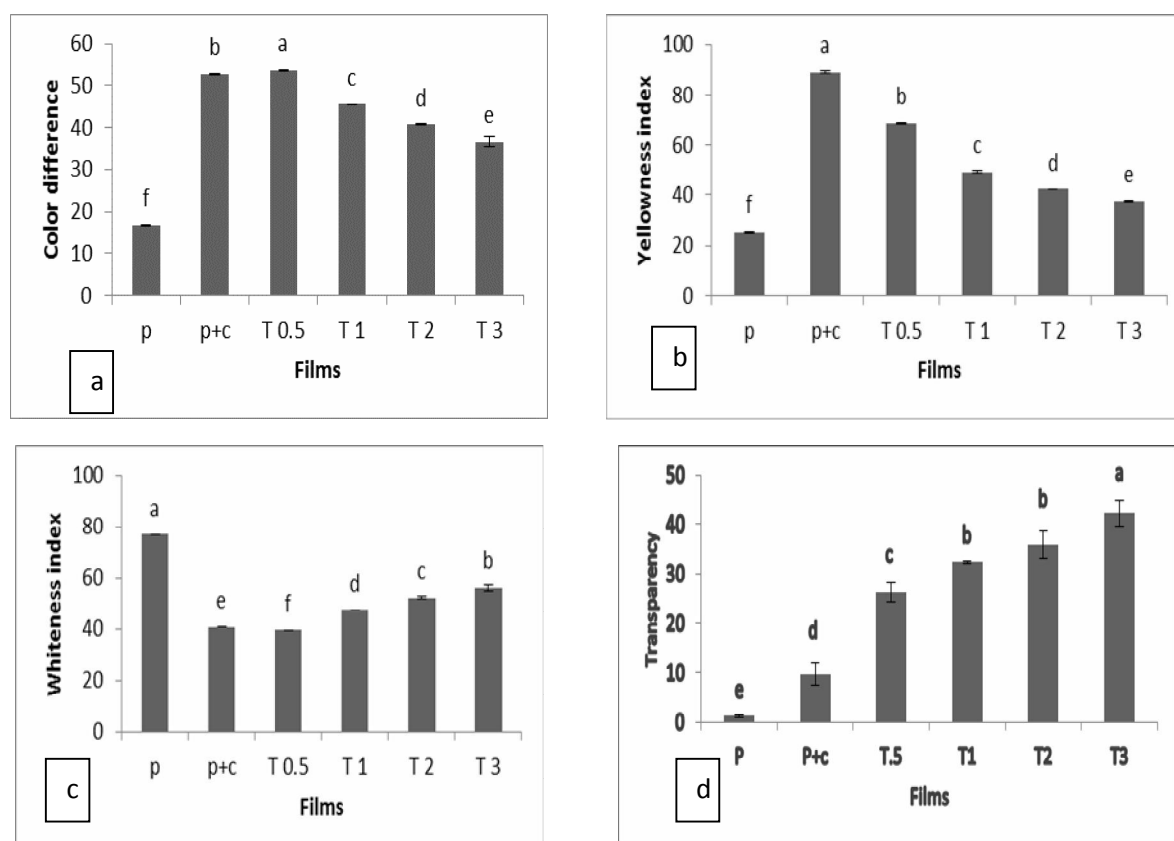
1. Nutrient broth

ترکیب و یک بار به صورت پوشش بر روی فیلم‌ها به کار بردند. نتایج نشان داد که مقدار WVP برای فیلم‌های دولایه و ترکیبی به ترتیب  $0.05 \pm 0.01 \text{ g mil m}^{-2} \text{ day}^{-1} \text{ mmHg}^{-1}$  و  $0.04 \pm 0.01 \text{ g mil m}^{-2} \text{ day}^{-1} \text{ mmHg}^{-1}$  [۱۷]. لی و همکاران در سال ۲۰۱۱، فیلم آب پنیر با غلظت ۱٪ نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم را پیشنهاد کردند که بالاترین میزان ممانعت در برابر بخار آب را نشان داده بود. دلیل این موضوع کلوخه‌ای شدن و تجمع نانوذرات در غلظت‌های بالاتر از ۱٪ در بخش‌های خاص از شبکه پروتئینی و تخریب این شبکه گزارش شد [۱۸].

### ۲-۳- ارزیابی رنگ فیلم‌ها

با توجه به شکل (۲a)، در مورد شاخص اختلاف رنگ کل نمونه‌های حاوی موم کارنوبا و نانوذرات  $\text{TiO}_2$  در غلظت ۰/۵٪ بیشترین اختلاف رنگ کل مشاهده شد ولی با افزایش میزان نانوذرات این ویژگی کاهش یافت.

این نتایج حاکی از آن است که موم کارنوبا و همچنین نانوذرات  $\text{TiO}_2$  در غلظت‌های پایین اثری معنی‌داری بر نفوذپذیری به بخار آب فیلم‌ها نداشته‌اند. اما غلظت‌های بالای نانو ذرات  $\text{TiO}_2$  اثر معنی‌داری بر نفوذپذیری به بخار آب فیلم‌ها داشت. با توجه به اینکه نانوذرات، فضاهای خالی بین مولکولی را پر می‌کنند و سبب کاهش نفوذپذیری نسبت به بخار آب فیلم‌ها می‌شوند [۱۵]. دیافورت و همکاران در سال ۲۰۰۰، فیلم‌هایی از متیل سلولز و مخلوطی از لپیدها به عنوان لایه دوم تهیه کردند. نتایج به دست آمده کاهش در میزان نفوذپذیری نسبت به بخار آب را نشان داد [۱۶]. گتارد و همکاران در سال ۱۹۹۲، فیلم‌های دولایه از گلوتن گندم با موم زنبورعسل و موم پارافین ساختند. میزان نفوذپذیری در فیلم‌های شاهد  $1/05 \text{ g mm m}^{-2} \text{ mmHg}^{-1} 24^{-1}$  و در فیلم‌های پوشش‌دار شده  $0/076 \text{ g mm m}^{-2} \text{ mmHg}^{-1} 24^{-1}$  دست آمد [۸]. گرینر و فنما در سال ۱۹۸۹، از متیل سلولز فیلم‌های خوراکی تهیه کردند و موم زنبورعسل را یک بار در



**Fig 2** Effect of different amounts of  $\text{TiO}_2$  and carnauba wax on color difference (a), yellowing index (b), white index (c) and transparency (d) of pectin-based films (p: pectin, c: carnauba wax, T:  $\text{TiO}_2\%$ )

$\text{TiO}_2$  باعث کاهش معنی‌دار شاخص زردی در نمونه‌ها شد. به طوری که کم‌ترین میزان تغییر شاخص زردی نسبت به نمونه

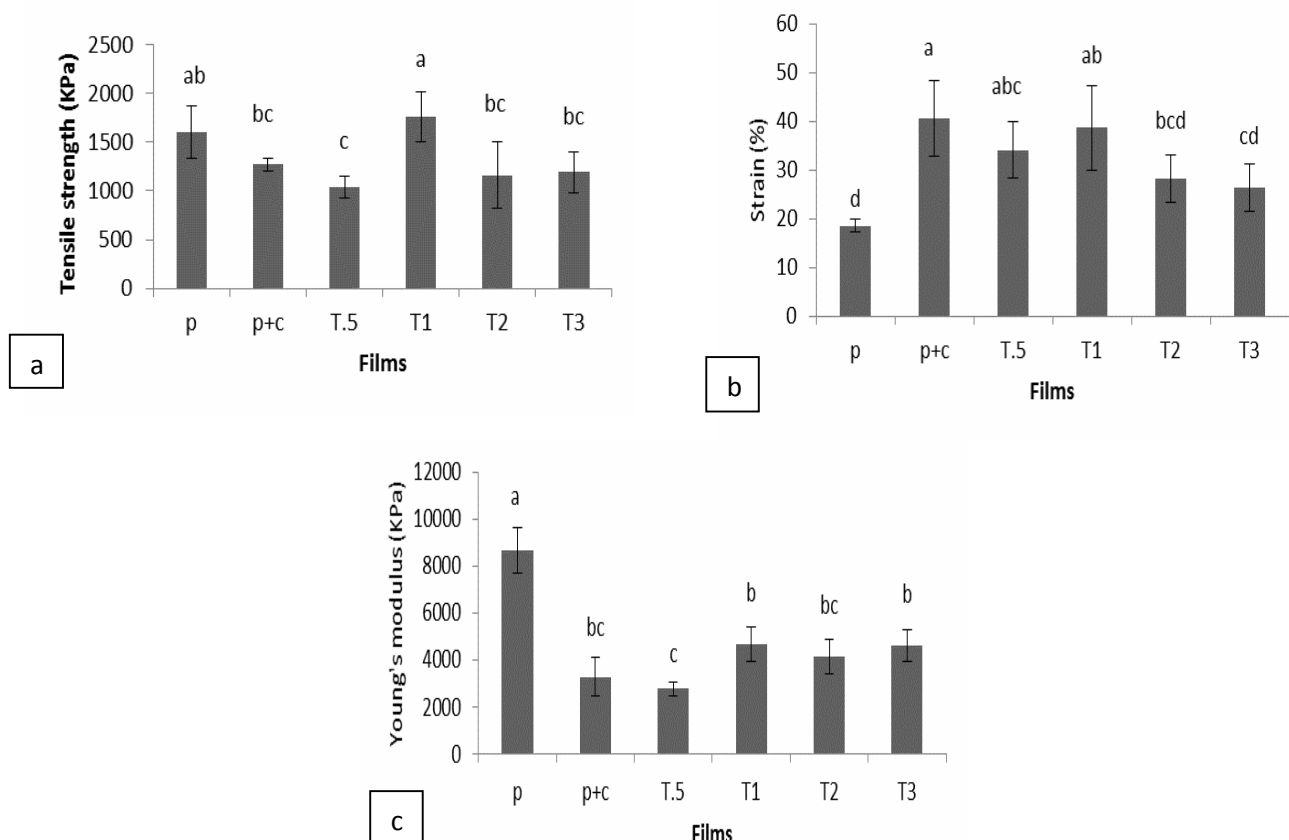
در مورد شاخص زردی نیز با توجه به شکل (۲b)، با اضافه شدن موم کارنوبا این شاخص افزایش یافت، ولی نانوذرات

ذرات  $TiO_2$  بیان کردند که این نانوذرات در غلظت‌های پایین-تر خواص ممانعتی فیلم‌ها در برابر نور را به طور قابل توجهی بهبود بخشید. اما با افزایش غلظت نانوذرات میزان کدورت فیلم‌ها افزایش یافت [۱۹]. ولر و همکاران در پژوهشی در سال ۱۹۹۸، از زئین ذرت همراه موم‌های سورگوم و کارنوبا فیلم‌های زیست‌تخریب‌پذیر ساختند. آن‌ها در بررسی ویژگی‌های رنگ‌سنجی این فیلم‌ها گزارش کردند که فیلم‌های با موم کارنوبا نسبت به فیلم‌های دارای موم سورگوم، شاخص زردی بالاتری داشتند که این به دلیل رنگ زرد-نارنجی موم کارنوبا بود. همچنین گزارش کردند که با اضافه کردن این ترکیبات مومی به فیلم‌های زئینی، میزان کدورت فیلم‌ها افزایش یافت [۹].

### ۳-۳- خواص مکانیکی

نتایج حاصل از آزمون کشش فیلم‌های پکتینی حاوی نانوذرات  $TiO_2$  و موم کارنوبا در غلظت‌های مختلف در شکل (۳a) نشان داده شده است.

شاهد (فیلم پکتینی) در مورد فیلم حاوی ۳٪ نانوذرات  $TiO_2$  مشاهده شد. در مورد شاخص سفیدی نیز چنانچه در شکل (۲c) مشاهده می‌شود، فیلم‌های پکتینی پوشش داده شده با موم کارنوبا باعث کاهش شاخص سفیدی ولی نانوذرات  $TiO_2$  باعث افزایش شاخص سفیدی شد، که علت آن می‌تواند به دلیل رنگ سفید نانوذرات  $TiO_2$  حاصل شده باشد. در مورد شاخص شفافیت با توجه به شکل (۲d)، بیشترین شفافیت مربوط به فیلم شاهد (فیلم پکتینی) است. اما موم کارنوبا و نانوذرات  $TiO_2$  هر دو به طور معنی‌داری باعث کاهش شفافیت فیلم‌ها شدند. فیلم‌های پکتینی بدون رنگ و کاملاً شفاف بوده، در اثر پوشش‌دهی با موم کارنوبا نارنجی رنگ شدند ولی همچنان شفافیت داشتند اما در اثر افزودن ذرات نانو پوشش فیلم‌ها کدر و به رنگ سفید نزدیک‌تر شد که علت آن را می‌توان به رنگ نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم نسبت داد که سفید رنگ بوده و با افزایش درصد نانوتیتان نیز کدورت هم بیشتر شد. وجدان و همکاران در سال ۲۰۱۶، در بررسی ویژگی‌های رنگ‌سنجی فیلم‌های دولایه ژلاتین/ آگار به همراه



**Fig 3** Effect of different amounts of  $TiO_2$  and carnauba wax on tensile strength (a), strain (b), and young's modulus (c) of pectin-based films (p: pectin, c: carnauba wax, T:  $TiO_2$ %)

مقدار استحکام کششی برای نمونه شاهد  $1600\text{ KPa}$  بود. با پوشش‌دهی فیلم‌ها توسط موم کارنوبا مقاومت کششی فیلم به

فیلم‌های پکتینی می‌تواند اثرات نرم‌کنندگی داشته و در نتیجه

می‌توان کنترل کرد. افزودن عوامل نرم‌کننده برای غلبه بر شکنندگی فیلم‌ها که به دلیل نیروهای درون مولکولی بالا ایجاد می‌شود، ضروری است. نرم‌کننده‌هایی با مولکول‌های کوچک، سبب کاهش پیوندهای هیدروژنی و اختلال در شبکه زیست-بسپاری می‌شوند که نه تنها انعطاف‌پذیری را افزایش می‌دهند، بلکه سبب افزایش نفوذپذیری فیلم نسبت به گازها نیز می‌شوند [۲]. افزایش مقدار نرم‌کننده مورد استفاده سبب کاهش مقاومت مکانیکی (کاهش مقاومت کششی) و افزایش کشش‌پذیری (افزایش ازدیاد طول در نقطه شکست) می‌شود. وجدان و همکاران در سال ۲۰۱۶، خصوصیات مکانیکی فیلم‌های دولایه ژلاتین/ آگار محتوای نانوتیتان را مورد بررسی قرار دادند. آن‌ها اعلام کردند که با افزودن  $\text{TiO}_2$  به مقدار  $0.5 \text{ g}/100\text{g}$  استحکام کششی فیلم‌ها از  $10.8 \text{ MPa}$  به  $13.91 \text{ MPa}$  افزایش پیدا کرد. ولی با افزایش بیشتر غلظت نانوذرات، استحکام کششی کاهش پیدا کرد [۱۹]. ژو و همکاران در سال ۲۰۰۹، فیلم‌هایی از پروتئین آب پنیر تهیه کردند و نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم را با مقادیر ۰/۵، ۱، ۲ و ۴٪ به این فیلم‌ها اضافه کرده و خصوصیات مکانیکی این فیلم‌ها را بررسی کردند. نتایج نشان داد که فیلم‌های نانوکامپوزیتی که دارای ۰/۵٪ نانوذرات بودند بهترین خواص مکانیکی را از خود نشان دادند. در درصد‌های ۱، ۲ و ۴٪ افت ناگهانی در مقادیر مدول الاستیک، استحکام کششی و میزان کشیدگی تا نقطه شکست دیده می‌شود که علت آن را کلوخه‌ای شدن و تجمع ذرات نانو در درصد‌های بالا و در نتیجه آسیب دیدن بافت زمینه‌ای زیست‌بسپار بیان کردند [۷].

### ۳-۴-آزمون پراش پرتو ایکس (XRD)

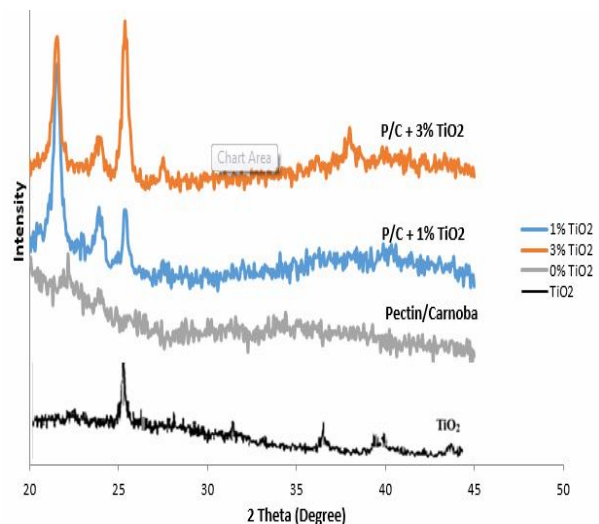
بر اساس نمودار XRD (شکل ۴) نمونه نانوتیتان با سه نمونه فیلم دولایه پکتین- کارنوبا با سه درصد نانوتیتان (۰، ۱ و ۳٪) با هم مقایسه گردید.

ساختار کلی فیلم را سست‌تر کند [۲۰]. پس می‌توان نتیجه گرفت که موم کارنوبا بر شبکه زل پکتین اثر گذاشته و باعث نرم‌تر شدن و سست‌تر شدن فیلم‌ها شده است. با افزودن ۰/۵٪ نانوذره  $\text{TiO}_2$  میزان استحکام کششی به  $10.41 \text{ KPa}$  کاهش یافت اما با افزایش بیشتر نانو ذرات  $\text{TiO}_2$  به میزان ۱٪ استحکام کششی به طور چشمگیری افزایش پیدا کرد. می‌توان چنین نتیجه‌گیری کرد که افزودن نانوذرات تیتان به میزان ۱٪ توانسته از تأثیرات نرم‌کنندگی موم بکاهد. در غلظت‌های ۲ و ۳٪ نانوتیتان دوباره کاهش در استحکام کششی مشاهده شده که علت آن را می‌توان به زخم‌تر بودن پوشش در این غلظت‌ها و در نتیجه داشتن اثر نرم‌کنندگی بیشتر بر ساختار فیلم پکتینی دانست. دیافورت و همکاران در سال ۲۰۰۰، فیلم‌های دولایه از متیل سلولز و مخلوطی از چربی‌ها ساختند. آن‌ها اعلام کردند که ضخامت لایه چربی تأثیر کمی در خواص مکانیکی فیلم‌ها داشت و مقاومت مکانیکی فیلم‌ها را عمدتاً به شبکه متیل سلولز نسبت دادند [۱۶]. میزان کرنش یا میزان کشیدگی فیلم‌ها در شکل (۳b) نشان داده شده است. نتایج حاکی از آن است که موم کارنوبا باعث افزایش انعطاف‌پذیری و خاصیت کشسانی فیلم‌ها شده است اما نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم باعث کاهش این ویژگی فیلم‌های پکتینی شد. این امر می‌تواند به این دلیل باشد که نانوذرات تیتانیوم در سطح پوشش با بستر خود و با یکدیگر پیوند برقرار کرده و نیز به دلیل کلوخه‌ای شدن، باعث کاهش انعطاف‌پذیری فیلم‌ها شده‌اند. اثر موم کارنوبا و نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم بر ویژگی مدول یانگ فیلم‌ها در شکل (۳c) نشان داده شده است. نتایج نشان می‌دهد که موم کارنوبا و نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم هر دو باعث کاهش معنی‌دار مدول یانگ فیلم‌های پکتینی شده است. علت کاهش آن می‌تواند حاصل از نرم شدن فیلم پکتینی توسط کارنوبا بوده و مقداری موجب کاهش سختی فیلم می‌شود. همچنین وجود نانوتیتان در کارنوبا موجب بهبود مدول شده است، البته از غلظت ۱٪ به بالا تأثیر معنی‌داری در سطح ۵ درصد مشاهده نشد. از عوامل مؤثر بر خصوصیات مکانیکی فیلم‌ها علاوه بر نوع و مقدار بسپار استفاده شده، نوع و میزان نرم‌کننده مورد استفاده می‌باشد [۲۱]. فیلم‌های بدون نرم‌کننده به علت برهم‌کنش‌های بسپار-بسپار ترد و شکننده بوده و در زمان جدا کردن فیلم از ظرفی که در آن ساخته شده، به راحتی پاره می‌شود. شکنندگی فیلم‌ها را با استفاده از عوامل نرم‌کننده

۲۵,۳۷۵ درجه می‌باشد که با رابطه براگ قطر کریستالیزه شدن ذرات نانو برابر با ۳۵,۰۷ آنگستروم به دست آمد. در تحقیق وجدان و همکاران با افزایش میزان نانوتیتان در فیلم دولایه ژلاتین- آگار نیز نتایج مشابهی بدست آمد و نتایج نشان داد که با افزایش غلظت میزان کلوخه شدن ذرات بالا رفته و زاویه این رخداد در حدود ۲۶ درجه بوده که تایید کننده نتایج تحقیق حاضر می‌باشد [۱۹]. در تحقیقی دیگر اثرات نانوذرات  $TiO_2$  با فاز آنتاز در فیلم‌های ساخته شده از پروتئین آب پنیر توسط لی و همکاران در سال ۲۰۱۱ مورد مطالعه قرار گرفت. آن‌ها گزارش کردند که با افزایش غلظت نانوذرات، شدت پیک‌ها و اندازه نانوذرات افزایش پیدا کرد و دلیل آن را کلوخه‌ای شدن نانوذرات در غلظت‌های بالا عنوان کردند [۱۸].

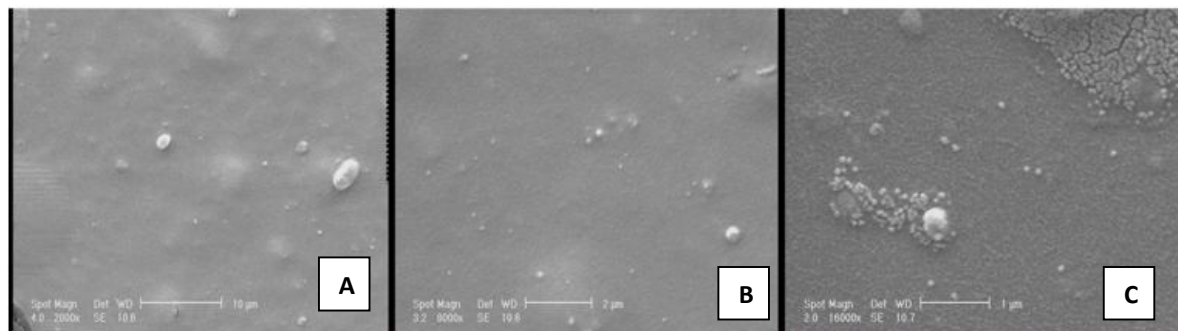
### ۳-۵-آزمون میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM)

در شکل‌های (۵) و (۶)، تصاویر SEM مربوط به فیلم‌های دولایه پکتین موم کارنوبا به همراه نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم نمایش داده شده است.

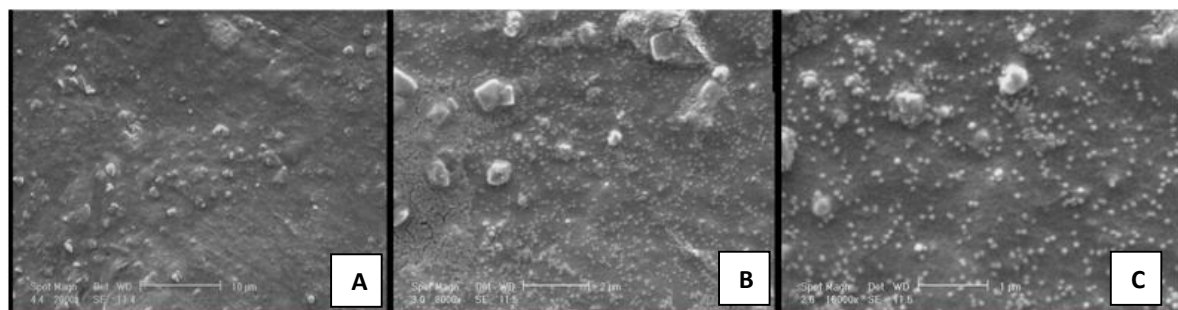


**Fig 4** X-ray diffraction of  $TiO_2$  and bilayer pectin-carnauba films incorporating different percentages of  $TiO_2$

با توجه به نمودار نانوتیتان خالص در زاویه حدود ۲۵ درجه یک پیک دیده می‌شود. در منحنی فیلم دولایه بدون نانوتیتان پیکی وجود ندارد. با افزایش درصد نانوتیتان پیک ظاهر شده و در ۳٪ پیک تیزتر و چگالی آن افزایش می‌یابد که نشان دهنده کریستالیزه شدن می‌باشد. علت این امر به دلیل کلوخه‌ای شدن نانوتیتان در درصد بالاتر می‌باشد. زاویه  $2\theta$  در این پیک



**Fig.5.** Representative SEM micrographs of bilayer pectin-carnauba film containing 1%  $TiO_2$  (A: magnification  $\times 2000$ , B: magnification  $\times 8000$  and C: magnification  $\times 16000$ )



**Fig.6.** Representative SEM micrographs of bilayer pectin-carnauba film containing 3%  $TiO_2$  (A: magnification  $\times 2000$ , B: magnification  $\times 8000$  and C: magnification  $\times 16000$ )



نتایج بازدارندگی فیلم‌های حاوی نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم در ساعت ششم نشان داد که فیلم حاوی ۰/۵٪ نانوذره دی‌اکسید تیتانیوم باعث کاهش ۵۷ درصدی از رشد باکتری نسبت به فیلم شاهد شده است. نتایج بازدارندگی در ساعت ششم نشان داد که با افزایش نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم میزان بازدارندگی نیز افزایش یافت و این افزایش بازدارندگی برای غلظت ۳٪ نانوذره دی‌اکسید تیتانیوم به ۹۶٪ رسید. با توجه به شکل (۷b)، نتایج بازدارندگی مربوط به ساعت بیست و چهارم نشان داد که غلظت ۰/۵٪ نانوذرات، ۱۲٪ بازدارندگی داشته است. اما غلظت ۳٪ در حدود ۹۰٪ بازدارندگی داشته است.

همچنین نتایج نشان داد که غلظت‌های کم نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم در ساعت‌های اولیه اثر بیشتری را از خود نشان داده است ولی با افزایش زمان اثر بازدارندگی آن‌ها کم شده است. علت این امر می‌تواند به این دلیل باشد که نانوذرات  $TiO_2$  موجب اکسیداسیون ترکیبات موجود در دیواره سلولی باکتری‌ها شده است و امکان تکثیر و رشد باکتری را کاهش داده‌اند. نصیری و محمدی نافچی در سال ۲۰۱۳، در پژوهشی بر روی فیلم‌های ژلاتین گاوی به همراه نانوتیتان با غلظت‌های ۱، ۲، ۳ و ۵٪ گزارش کردند که نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم در برابر باکتری‌هایی مانند *استافیلوکوکوس اورئوس*<sup>۲</sup> و *اشریشیا کلی* اثرات ضد میکروبی عالی از خود نشان داد. آن‌ها گزارش کردند که اثر ضد میکروبی نانوکامپوزیت ژلاتین -  $TiO_2$  به طور قابل توجهی با افزایش غلظت  $TiO_2$  افزایش یافت [۱۵].

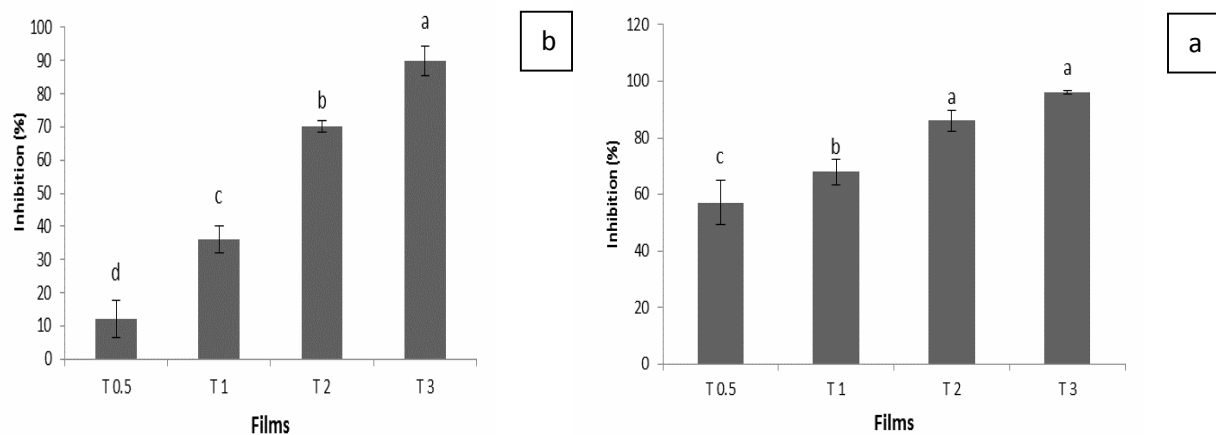
شکل (۵)، تصاویر SEM، مربوط به فیلم دولایه پکتین-موم کارنوبا به همراه نانوتیتان با غلظت ۱٪ را نشان می‌دهد. همان‌طور که در شکل مشخص است در بعضی نقاط کلوخه شدن و تجمع نانوذرات را مشاهده می‌کنیم، که علت آن تمایل شدید نانوذرات به واکنش با یکدیگر و در نتیجه به هم چسبیدن و ایجاد حالت کلوخه‌ای است. احتمال کلوخه‌ای شدن نانوذرات در درصدهای پایین کمتر است ولی با افزایش غلظت نانوذرات این احتمال بالاتر می‌رود. همان‌طور که در شکل (۶) مشاهده می‌کنید با افزایش درصد نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم از ۱٪ به ۳٪، به علت افزایش نانوذرات میزان تجمع و کلوخه شدن نانوذرات هم افزایش پیدا کرد. لی و همکاران در سال ۲۰۱۱، بعد از بررسی تصاویر گرفته شده با میکروسکوپ الکترونی روبشی گزارش دادند که مقادیر کم نانوذرات (کمتر از ۰/۲۵٪) اثر معنی‌داری بر ساختار فیلم در مقایسه با فیلم شاهد نداشت. اما مقادیر بالاتر از نانوذرات به دلیل کلوخه‌ای شدن و به وجود آمدن ذرات حجیم درون شبکه، سبب تخریب شبکه پروتئینی می‌شدند [۱۸]. جیانگ<sup>۱</sup> و همکاران در سال ۲۰۱۰، در بررسی خصوصیات میکروساختاری فیلم‌های خوراکی از ژلاتین و پروتئین آب پنیر به همراه نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم گزارش کردند که در سطوح پایین نانوذرات (کمتر از ۰/۲۵ درصد) احتمال پخش شدن ذرات درون شبکه بیشتر از چسبیدن نانوذرات به یکدیگر است و این اتفاق در سطوح بالاتر (بیش از ۱٪) از نانوذرات عکس شد [۲۲].

### ۳-۶- آزمون میکروبی

اثرات ضد میکروبی فیلم‌های تولیدی حاوی غلظت‌های مختلف نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم در ساعت ۶ گرمخانه‌گذاری در شکل (۷a) نشان داده شده است.

2. *Staphylococcus aureus*

1. Jiang



**Fig 7** Effect of different amounts of TiO<sub>2</sub> on antimicrobial activity of bilayer pectin-carnauba film against *E. coli* at 6 (a) and 24 (b) incubation at 37 °C (T: TiO<sub>2</sub>%)

اصلی فیلم آسیب کمی وارد نمود. نتایج آزمون میکروبی نشان داد که با افزایش نانوذرات TiO<sub>2</sub>، میزان بازدارندگی در مقابل رشد باکتری *اشریشیا کلی* به طور قابل توجهی افزایش یافت.

## ۵- منابع

- [1] Dash, M., Chiellini, F., Ottenbrite, R. M., & Chiellini, E. (2011). "Chitosan—A versatile semi-synthetic polymer in biomedical applications". *Progress in polymer science*, 36(8), 981-1014.
- [2] Gontard, N., Guilbert, S., & CUQ, J. L. (1992). "Edible wheat gluten films: influence of the main process variables on film properties using response surface methodology". *Journal of food science*, 57(1), 190-195.
- [3] Chiumarelli, M., & Hubinger, M. D. (2012). "Stability, solubility, mechanical and barrier properties of cassava starch-Carnauba wax edible coatings to preserve fresh-cut apples". *Food hydrocolloids*, 28(1), 59-67.
- [4] Vermeiren, L., Devlieghere, F., Van Beest, M., De Kruijf, N., & Debevere, J. (1999). "Developments in the active packaging of foods". *Trends in food science & technology*, 10(3), 77-86.
- [5] Chen, X., & Mao, S. S. (2007). "Titanium dioxide nanomaterials: synthesis, properties, modifications, and applications". *Chem. Rev*, 107(7), 2891-2959.
- [6] Xiao-e, L., Green, A. N., Haque, S. A., Mills, A., & Durrant, J. R. (2004). Light-driven oxygen scavenging by titania/polymer nanocomposite films. *Journal of*

لیو<sup>۱</sup> و همکاران در سال ۲۰۱۲، در بررسی اثر ضد میکروبی نانوذرات TiO<sub>2</sub> در نانوکامپوزیت‌های پلی‌ونیل‌الکل، گزارش کردند که نانوذرات تیتانیوم با اتصال به گروه‌های تیول دیواره سلولی باکتری‌ها، باعث تخریب و دناتوراسیون پرتئین‌های غشایی شده و با ایجاد اختلال در نفوذپذیری غشایی موجب مرگ سلول می‌شود [۲۳].

## ۴- نتیجه‌گیری

نتایج این تحقیق نشان داد که نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم میزان تراوایی فیلم‌های تولیدی را نسبت به بخار آب و رطوبت، به طور قابل توجهی کاهش داد. در مورد خواص مکانیکی فیلم‌ها، افزودن موم کارنوبا به عنوان پوشش روی فیلم‌ها استحکام کششی فیلم‌ها را کاهش داد. درصد های کم نانوذرات سبب بهبود استحکام کششی فیلم‌ها شد، اما درصد‌های بالاتر تأثیری روی این فاکتور نداشت. همچنین موم کارنوبا باعث افزایش انعطاف‌پذیری فیلم‌ها شد و با افزایش غلظت نانوذرات این انعطاف‌پذیری کاهش یافت. علاوه بر این فیلم‌های پکتینی کاملاً شفاف و بی‌رنگ بودند که با افزودن موم کارنوبا شاخص زردی و با افزودن نانوذرات TiO<sub>2</sub> شاخص سفیدی افزایش یافت. نتایج آزمون XRD و SEM نشان داد که با افزایش نانوذرات TiO<sub>2</sub> میزان کلوخه‌ای شدن و تجمع نانوذرات افزایش یافت. از آنجا که در این پژوهش از نانوذرات به عنوان پوشش روی فیلم پکتینی استفاده شده است، این کلوخه‌ای شدن به شبکه

- [16] Debeaufort, F., Quezada-Gallo, J. A., Delporte, B., & Voilley, A. (2000). "Lipid hydrophobicity and physical state effects on the properties of bilayer edible films". *Journal of Membrane Science*, 180(1), 47-55.
- [17] Greener, I. K., & Fennema, O. (1989). "Barrier properties and surface characteristics of edible, bilayer films". *Journal of Food Science*, 54(6), 1393-1399.
- [18] Li, Y., Jiang, Y., Liu, F., Ren, F., Zhao, G., & Leng, X. (2011). "Fabrication and characterization of TiO<sub>2</sub>/whey protein isolate nanocomposite film". *Food Hydrocolloids*, 25(5), 1098-1104.
- [19] Vejdani, A., Ojagh, S. M., Adeli, A., & Abdollahi, M. (2016). "Effect of TiO<sub>2</sub> nanoparticles on the physico-mechanical and ultraviolet light barrier properties of fish gelatin/agar bilayer film". *LWT-Food Science & Technology*, 71, 88-95.
- [20] Akter, N., Khan, R. A., Salmieri, S., Sharmin, N., Dussault, D., & Lacroix, M. (2012). "Fabrication and mechanical characterization of biodegradable and synthetic polymeric films: Effect of gamma radiation". *Radiation Physics & Chemistry*, 81(8), 995-998.
- [21] Viroben, G., Barbot, J., Mouloungui, Z., & Guéguen, J. (2000). "Preparation and characterization of films from pea protein". *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 48(4), 1064-1069.
- [22] Jiang, Y., Li, Y., Chai, Z., & Leng, X. (2010). "Study of the physical properties of whey protein isolate and gelatin composite films". *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 58(8), 5100-5108.
- [23] Liu, F., Liu, H., Li, X., Zhao, H., Zhu, D., Zheng, Y., & Li, C. (2012). "Nano-TiO<sub>2</sub>@Ag/PVC film with enhanced antibacterial activities and photocatalytic properties". *Applied Surface Science*, 258(10), 4667-4671.
- Photochemistry & Photobiology A: Chemistry*, 162(2), 253-259.
- [7] Zhou, J., Wang, S., & Gunasekaran, S. (2009). Preparation and characterization of whey protein film incorporated with TiO<sub>2</sub> nanoparticles. *Journal of Food Science*, 74(7), N50-N56.
- [8] Pavlath, A. E., Voisin, A., & Robertson, G. H. (1999). "Pectin-based biodegradable water insoluble films". In *Macromolecular Symposia*, 140(1), 107-113.
- [9] Weller, C. L., Gennadios, A., & Saraiva, R. A. (1998). "Edible bilayer films from zein and grain sorghum wax or carnauba wax". *LWT-Food Science & Technology*, 31(3), 279-285.
- [10] ASTM, (1995). "Standard test methods for water vapor transmission of material, E96-95". Annual book of ASTM, Philadelphia, PA: American Society for Testing and Materials.
- [11] Ojagh, S. M., Rezaei, M., Razavi, S. H., & Hosseini, S. M. H. (2010). "Development and evaluation of a novel biodegradable film made from chitosan and cinnamon essential oil with low affinity toward water". *Food Chemistry*, 122(1), 161-166.
- [12] Lee, K. Y., Shim, J., & Lee, H. G. (2004). "Mechanical properties of gellan and gelatin composite films". *Carbohydrate Polymers*, 56(2), 251-254.
- [13] Figueiro, S. D., Góes, J. C., Moreira, R. A., & Sombra, A. S. B. (2004). "On the physico-chemical and dielectric properties of glutaraldehyde crosslinked galactomannan-collagen films". *Carbohydrate Polymers*, 56(3), 313-320.
- [14] Rangelova, N., Aleksandrov, L., Angelova, T., Georgieva, N., & Müller, R. (2014). Preparation and characterization of SiO<sub>2</sub>/CMC/Ag hybrids with antibacterial properties. *Carbohydrate Polymers*, 101, 1166-1175.
- [15] Nassiri, R., & MohammadiNafchi, A. (2013). "Antimicrobial and barrier properties of bovine gelatin films reinforced by nano TiO<sub>2</sub>". *Journal of Chemical Health Risks*, 3(3).

## Investigation of some physical, mechanical and antimicrobial properties of bilayer pectin-carnauba wax films incorporating nanoparticles of TiO<sub>2</sub>

Majdzadeh E.<sup>1</sup>, Rajaei A.<sup>2\*</sup>, Mirzaee Moghaddam H.<sup>3</sup>, Movahednejad, M. H.<sup>3</sup>

1. MSc student of Food Science and Technology, Faculty of Agricultural Engineering, Shahrood University of Technology, Iran.
2. Assistant Professor of Food Science and Technology, Faculty of Agricultural Engineering, Shahrood University of Technology, Iran.
3. Assistant Professor of Mechanics of Biosystems Engineering, Faculty of Agricultural Engineering, Shahrood University of Technology, Iran.

(Received: 2017/04/14 Accepted:2018/02/19)

In this study, emulsion films based on pectin were prepared by the casting method, and the effect of titanium dioxide (TiO<sub>2</sub>) nanoparticles and carnauba wax on the mechanical and the antimicrobial properties of films were studied. The results showed that water vapor permeability was decreased by increasing of nanoparticles. Mechanical tests showed that the tensile strength (TS) of films was lower than control film due to adding wax carnauba. But TiO<sub>2</sub> increased the TS of films. The highest TS was observed in the films incorporating 1% TiO<sub>2</sub>. Carnauba wax increased the elasticity of films, but TiO<sub>2</sub> reduced this parameter. Results showed that both TiO<sub>2</sub> and carnauba wax decreased the transparency of films. In the case of the yellow index, carnauba wax increased and TiO<sub>2</sub> decreased the "b" value. Antimicrobial test results showed that the inhibitory effect of films against *Escherichia coli* was increased by the TiO<sub>2</sub> and 3% TiO<sub>2</sub> had the highest inhibitory effect. Also, the films were studied in terms of morphology and distribution of nanoparticles using scanning electron microscopy (SEM) and X-ray diffraction (XRD). The results showed that by increasing the nanoparticle concentration, agglomeration of nanoparticles was increased.

**Keywords:** Nanocomposite film, Titanium dioxide, Pectin, carnauba wax, Active packaging

---

\* Corresponding Author E-Mail Address: ahmadrajaei@gmail.com