DEVELOPMENT OF POLYMERIC SYSTEMS FOR EARLY DETECTION AND MITIGATION OF FOOD AND WATER BORNE PATHOGENIC BACTERIA

PRABHJOT KAUR SABHARWAL

CENTRE FOR BIOMEDICAL ENGINEERING

INDIAN INSTITUTE OF TECHNOLOGY DELHI

APRIL 2022

@Indian Institute of Technology (IITD), New Delhi, 2022

DEVELOPMENT OF POLYMERIC SYSTEMS FOR EARLY DETECTION AND MITIGATION OF FOOD AND WATER BORNE PATHOGENIC BACTERIA

by

PRABHJOT KAUR SABHARWAL

CENTRE FOR BIOMEDICAL ENGINEERING

Submitted

in fulfilment of the requirements of the degree of Doctor of Philosophy

to the

INDIAN INSTITUTE OF TECHNOLOGY DELHI

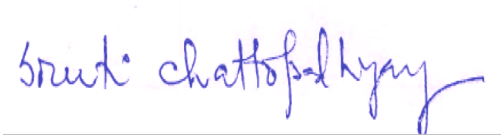
April 2022

Dedicated to

My Parents

CERTIFICATE

This is to certify that the thesis entitled, "**Development of Polymeric Systems for Early Detection and Mitigation of Food and Water Borne Pathogenic Bacteria**" being submitted by **Mrs. Prabhjot Kaur Sabharwal** to the **Indian Institute of Technology Delhi** for the award of the degree of **Doctor of Philosophy** to Centre for Biomedical Engineering, is a record of bonafide research work carried out by her under my guidance and supervision. She has fulfilled the requirements for the submission of this thesis, which to my knowledge has reached the requisite standard.



Dr. Sruti Chattopadhyay

Women Scientist

Centre for Biomedical Engineering

Indian Institute of Technology, Delhi

Prof. Harpal Singh

Professor

Centre for Biomedical Engineering

Indian Institute of Technology, Delhi

ACKNOWLEDGEMENTS

I take this opportunity to acknowledge people who were instrumental in the completion of my Ph.D. journey. Primarily, I wish to express my sincere gratitude and reverence to my supervisor ***Prof. Harpal Singh*** for his unconditional support, guidance and motivation. He introduced me to the scientific community and instilled problem-solving aptitude. His strong support was pivotal for successful completion of my research work. He has been always available for discussion and doubt solving sessions. I thank him for always motivating me to achieve more in life. He has been my mentor and has funnelled me on how to handle failures in research and life.

I would also like to express my sincere thanks to co-supervisor, ***Dr. Sruti Chattopadhyay*** for her endless support, guidance and encouragement. She was instrumental in designing the experiments. This work would not have met the end board without her help. She facilitated me with various instrumental analysis. I gained lot of technical skills from her.

I am very grateful to my SRC committee members, *Prof. Veena Koul, Dr. Anushree Malik, Dr. Neetu Singh* for their valuable suggestions and advice throughout the research work. I would like to express thanks to all the faculty members and office staff of the centre specially *Mr.Sitaram* and *Mr. Rajesh Prasher*. I am thankful to all my labmates *Dr. Mannu Dalela, Dr. Raj Kumar, Dr. Dikshi Gupta, Dr. Sumit, Dr. Vasundhara, Dr Avneet Kaur, Dr. Dinesh, Dr. Meenakshi, Ms. Neha*, for their support and cooperation. Special thanks to my jovial lab juniors *Mr. Sachchidanand,* and *Mr. Mohd. Anees* for helping me out.

Its my great pleasure to express thanks to all my friends at IIT Delhi. *Dr. Senkha* for always motivating me professionally and personally, *Ms. Tripti* for being there in all my lows and highs and lastly *Dr. Samim* for his enormous backing and guidance.

I would also like to acknowledge MHRD for providing me fellowship during my Ph.D. tenure.

I wish to thank my husband ***Mr. Harsimranjit Singh*** for his patience and support. He stood by me, believed in me and motivated me to work no matter what the situation was. He has been a good friend, a mentor and guide. Inspite of not being from the subject, he still tried to have discussions with me and assisted in problem-solving. Special thanks to my in-laws, sister-in-law (*Mrs. Urvashi* and *Mrs. Rupiender*) for their support. I would like to thank my niece (baby *Nadar Kaur Sabharwal, Simar preet and Kanwalpreet*) for her presence in my life.

I wish to express profuse thanks to my dearest parents (***Mrs. Ravinder Kaur Sabharwal*** and ***Mr. Swarnjit Singh Sabharwal***) and my beautiful daughter (baby ***Rehet Kaur***) for their unconditional love and support. Without them, this would have still been a dream. My mother who stood by me constantly motivating me to achieve and strive. My father for being my pillar of strength. I would also thank my lovely daughter Rehet for her silent patience and support. My parents who took my place and raised Rehet so beautifully. My father looked after her single-headedly for 10 hrs at stretch. My mother gave night duties to make her asleep when I was busy preparing for synopsis and writing thesis. The struggle we all faced together made this work possible. I would like to thank my brother (***Pavneet Singh Sabharwal***) for always saying the truth aloud and pushing me out of my comfort zone.

Last but not the least, I thank ***Babaji*** for providing me enough patience and strength in completing my Ph.D.

Prabhjot Kaur Sabharwal

ABSTRACT

Pathogenic bacteria pose significant concerns to human and animal welfare. They are principal cause of health and fiscal difficulties across the globe causing severe threats in fields of food processing & packaging, water supply & purification, healthcare and biomedical devices. Food and water borne bacterial infections are responsible for 4.2 million deaths annually. Timely detection and monitoring of food and water samples followed by mitigation of microorganisms is a mandatory step in order to prevent outbreak of food & water borne diseases and food recall. The current work is devoted towards the development of polymeric systems for early detection and mitigation of food and water borne pathogenic bacteria.

The principle of immunomagnetic separation and antigen-antibody reaction have been employed for the synthesis of magnetic polymeric nanoconstructs (MPNC) to achieve swift and sensitive detection of *S.typhimurium*. The nanoconstructs were synthesized in three stages. At stage 1, magnetic nanoparticles (MNP) were synthesized by coprecipitation method. The next stage involved capping of MNP with sodium oleate (NaOA) and PEGylation to impart aqueous stability. In final stage, MNP were embedded in core of polymeric nanoparticles to generate core-shell nanoconstructs. Shell of MPNC was synthesized by *in-situ* emulsion polymerization of styrene (STY), methyl methacrylate (MMA) and methacrylic acid (MAA). Three variants of MPNC (7, 10 and 13% w/w of PEGylated) were synthesized. The core-shell morphology of nanoconstructs was confirmed by SEM and TEM. Carboxyl modified nanoconstructs were used for covalent immobilization of antibodies against *Salmonella* common structural antigen (CSA-α-Ab) and for selective capture of target bacteria. Quantification of competent pathogen was carried out by sandwich immunocomplex assay (ELISA) at 450 nm. Limit of detection (LOD) was found to be 8 CFU mL^{-1}. Analytical performance in terms of specificity and selectivity was evaluated in spiked solid and liquid

food samples. The developed novel nanoconstructs showed good recovery (70-109%), thus exhibiting potential for highly selective detection of real samples without any pre-enrichment.

In another approach, SERS based immunosensor was developed for detection of *S.typhimurium* using functionalized polymeric magnetic nanoparticles (FPMNPs). FPMNPs were synthesized by *in-situ* emulsion polymerization of styrene (STY), methyl methacrylate (MMA) and acetoacetoxyethyl methacrylate (AAEM) and used as effective capture probe and immunomagnetic separator for detection of *S. typhimurium*. The synthesized probe contained surface diketonic functionalities which was covalently linked with amino groups of antibodies against *Salmonella* common structural antigen (CSA-α-Ab) to specifically capture the target bacteria. Magnetic core of nanoparticles facilitated easy separation of target bacteria from the milieu of non-specific molecules. Gold nanoparticles (GNPs) modified with CSA-α-Ab and external Raman reporter molecules (RRM) were used as signal probes. The signaling attributes of 4-mercapto benzoic acid (MBA) and 5,5′-dithiobis(succinimidyl-2-nitrobenzoate) (DSNB) as RRMs were compared. Capture and signal probes sandwich the target bacteria upon its addition, generating Raman signal. Under optimal conditions, the SERS intensities of MBA and DSNB at 1588 and 1336 cm^{-1} respectively were used to measure the concentration of the pathogen in the range of 10^1-10^7 cells mL^{-1}. Limit of detection (LOD) of MBA and DSNB based immunosensor was found as 100 cells mL^{-1} and 10 cells mL^{-1} respectively. Moreover, appreciable recovery (82–114%) was recorded for sensing method for different spiked food products. Thus, the developed magnetically assisted SERS immunosensor was sensitive, specific and have strong potential to be used for detecting contamination in food samples in field conditions.

The detection of pathogenic bacteria is incomplete without incorporating mitigation methodologies to prevent morbidity and mortality caused by consumption of contaminated

food and water. Water insoluble linear and cross-linked acrylic copolymers were synthesized for water disinfection. The copolymers were doped with iodine to impart antimicrobial properties. STY, MMA and N-vinyl-2-pyrrolidone (NVP) based linear copolymers were synthesized by free radical bulk polymerization. Two copolymers with NVP content 9 and 18% were synthesized. Systematic characterization of iodinated and non-iodinated terpolymer was done using series of advanced techniques including FTIR, NMR, SEM and EDX. Thermal stability of the synthesized copolymers was studied using DSC. A decrease in T_g of the copolymers was observed after iodination. Sustained release of ionic iodine was observed between 1.7-1.97 ppm and 3.06-3.29 ppm for copolymer with NVP content of 9 and 18% respectively upto 30 days. The iodinated copolymers showed decrease swelling in comparison to non-iodinated copolymers. The copolymer with 9% NVP showed 12 mm zone of inhibition (ZOI) for both *E.coli* and *S.aureus*, while copolymer with 18 % NVP showed 17 mm ZOI against *E.coli* and 21 mm against *S.aureus*, respectively. Minimum Inhibitory Concentration (MIC) of the copolymers were conducted for a concentration of 5 mg mL^{-1}, 10 mg mL^{-1} and 20 mg mL^{-1}. Complete killing of pathogens was observed after an exposure time of 5 mins for all polymeric concentrations of both the copolymers.

In another approach, cross-liked iodine doped copolymers poly(ethylene glycol diacrylate-N-vinyl-2-pyrrolidone) and poly(tripropylene glycol diacrylate-N-vinyl-2-pyrrolidone) were synthesized by free radical bulk polymerization. Synthesized copolymers possessed good ability to form complex with elemental iodine as observed from SEM and EDX. The effect of iodine on thermal stability of polymeric complex was studied by DSC and TGA. A reduction in T_g was witnessed for both the iodinated copolymers. Also, drastic reduction in initial degradation temperature (IDT) and final degradation temperature (FDT) of the iodinated copolymers was seen. The amount of elemental iodine released in water was measured using ion selective electrode for 30 days. Poly(PEGDA-NVP)-I_2 and poly(TPGDA-NVP)-I_2 showed

sustained release at 1.9-2.3 ppm and 0.82-1.09 ppm respectively upto 30 days. Poly(PEGDA-NVP)-I_2 showed ZOI of 24 mm against *E.coli* and 24 mm against *S.aureus*, while poly(TPGDA-NVP)-I_2 showed ZOI of 15 mm against *E.coli* and 24 mm against *S.aureus*. Complete killing of bacteria was observed after an exposure time of 5 mins for all polymeric concentrations (5 mg mL^{-1}, 10 mg mL^{-1} and 20 mg mL^{-1}) for both the iodinated copolymers.

Biodegradable antimicrobial films were prepared from polyhydroxybutyrate-co-valerate (PHB-VA) using solvent evaporation method. Triclosan (TCS) has been blended in PHB-VA to impart antimicrobial activity. The successful inclusion of TCS in blend films was confirmed by FTIR, XRD, NMR, SEM and EDX. Significant decrease in T_g of all the blend films upon incorporation of TCS was observed. An improvement in flexibility and stretchability was observed in PHB-VA/TCS blend films. Sustained drug release (0.1-1.4 mg mL^{-1}) was observed in all the polymeric blend films for a period of 50 days. The polymeric blend films showed prominent ZOI against gram-positive and gram-negative bacteria (*E.coli*= 20-26 mm, *S.aureus*= 33-41 mm, *B. cereus*= 12-23 mm and *P. aeruginosa*= 11-18 mm) and also retained antimicrobial properties even after one year of storage. In another approach, TCS was blended with polylactic acid (PLA) to obtain transparent biodegradable antimicrobial films. The blend films were characterized by FTIR, XRD, NMR, SEM and EDX. Tg, crystallisation and melting temperature of PLA decreased with the increase in concentration of TCS. The mechanical properties of blend films were evaluated and it was concluded that incorporation of TCS cause decrease in tensile strength and increase in elasticity. PLA/TCS blend films showed sustained drug release in the range 0.1-0.8 mg mL^{-1} upto 50 days. The blend films showed prominent ZOI (*E.coli*=15-22 mm, *S.aureus*=19-25 mm, *B. cereus*=10-16 mm and *P. aeruginosa*=10-12 mm) and also retained antimicrobial properties after one year of storage.

सार

रोगजनक बैक्टीरिया मानव और पशु कल्याण के लिए महत्वपूर्ण चिंताएं पैदा करते हैं। वे दुनिया भर में स्वास्थ्य और वित्तीय कठिनाइयों का प्रमुख कारण हैं, जिससे खाद्य प्रसंस्करण और पैकेजिंग, जल आपूर्ति और शुद्धिकरण, स्वास्थ्य देखभाल और जैव चिकित्सा उपकरणों के क्षेत्र में गंभीर खतरे पैदा हो रहे हैं। खाद्य और जल जनित जीवाणु संक्रमण सालाना 4.2 मिलियन मौतों के लिए जिम्मेदार हैं। भोजन और पानी के नमूनों की समय पर जांच और निगरानी के बाद सूक्ष्मजीवों का शमन भोजन और पानी से होने वाली बीमारियों के प्रकोप को रोकने और फ़ूड रिकॉल को कम करने के लिए एक अनिवार्य कदम है। वर्तमान कार्य खाद्य और जल जनित रोगजनक जीवाणुओं का शीघ्र पता लगाने और शमन करने के लिए बहुलक प्रणालियों के विकास की दिशा में समर्पित है।

एस.टाइफिमूरियम का तेजी से और संवेदनशीलता से पता लगाने के लिए चुंबकीय बहुलक नैनोकंस्ट्रक्ट्स (ऍमऍनपीसी) के संश्लेषण के लिए इम्यूनोमैग्नेटिक पृथक्करण और एंटीजन-एंटीबॉडी प्रतिक्रिया के सिद्धांत को नियोजित किया गया है। नैनोकंस्ट्रक्ट्स को तीन चरणों में संश्लेषित किया गया था। चरण 1 में, चुंबकीय नैनोकणों (एमएनपी) को सह-अवक्षेपण विधि द्वारा संश्लेषित किया गया था। अगले चरण में जलीय स्थिरता प्रदान करने के लिए सोडियम ओलेट (NaOA) और पेगैलेशन के साथ एमएनपी की कैपिंग शामिल है। अंतिम चरण में, कोर-शेल नैनोकंस्ट्रक्ट्स उत्पन्न करने के लिए एमएनपी को पॉलीमेरिक नैनोकणों के मूल में एम्बेड किया गया था। ऍमऍनपीसी के शेल को स्टाइरीन (एसटीवाई), मिथाइल मेथैक्रिलेट (एमएमए) और मेथैक्रेलिक एसिड (एमएमए) के इन-सीटू इमल्शन पोलीमराइज़ेशन द्वारा संश्लेषित किया गया था। ऍमऍनपीसी के तीन प्रकारों (पेगैलेटेड के 7, 10 और 13% w/w) को संश्लेषित किया गया। नैनोकंस्ट्रक्ट्स के कोर-शेल आकारिकी की पुष्टि एसइएम् और टीइएम् द्वारा की गई थी। साल्मोनेला कॉमन स्ट्रक्चरल एंटीजन (CSA-α-Ab) के खिलाफ एंटीबॉडी के सहसंयोजक स्थिरीकरण और लक्ष्य बैक्टीरिया के चयनात्मक कब्ज़े के लिए कार्बोक्सिल संशोधित नैनोकंस्ट्रक्ट्स का उपयोग किया गया था। सैंडविच इम्युनोकॉम्पलेक्स परख (एलिसा) द्वारा 450 nm पर सक्षम रोगज़नक़ की मात्रा का ठहराव किया गया था। लिमिट ऑफ़ डिटेक्शन (ऐलओडी) 8 CFU mL^{-1} पाई गई। दूषित ठोस और तरल खाद्य नमूनों में विशिष्टता और चयनात्मकता के संदर्भ में विश्लेषणात्मक प्रदर्शन का मूल्यांकन किया गया था। विकसित नवीन नैनोकंस्ट्रक्ट्स ने अच्छी रिकवरी (70-109%) दिखाई, इस प्रकार बिना किसी पूर्व-संवर्धन के वास्तविक नमूनों की अत्यधिक चयनात्मक पहचान की क्षमता प्रदर्शित की। एक अन्य दृष्टिकोण में, कार्यात्मक बहुलक चुंबकीय नैनोकणों (एफपीएमएनपी) का उपयोग करके एस टाइफिम्यूरियम का पता लगाने के लिए एस इ आर एस आधारित इम्यूनोसेंसर विकसित किया गया था। एफपीएमएनपी को स्टाइरीन (एसटीवाई), मिथाइल मेथैक्रिलेट (एमएमए) और एसिटोएसेटोक्सीथाइल मेथैक्रिलेट (एएईएम) के इन-सीटू इमल्शन पोलीमराइजेशन द्वारा संश्लेषित किया गया था और एस टाइफिम्यूरियम का पता लगाने के लिए प्रभावी कैप्चर जांच और इम्यूनोमैग्नेटिक सेपरेटर के रूप में इस्तेमाल किया गया था। संश्लेषित जांच में सतह डाइकेटोनिक कार्यात्मकताएं

थीं जो विशेष रूप से लक्षित बैक्टीरिया को पकड़ने के लिए साल्मोनेला सामान्य संरचनात्मक एंटीजन (CSA-α-Ab) के खिलाफ एंटीबॉडी के एमिनो समूहों के साथ सहसंयोजक रूप से जुड़ी हुई थीं। नैनोकणों के चुंबकीय कोर ने लक्ष्य बैक्टीरिया को गैर-विशिष्ट अणुओं के वातावरण से आसानी से अलग करने में मदद की। CSA-α-Ab और बाहरी रमन रिपोर्टर अणुओं (आरआरएम) के साथ संशोधित सोने के नैनोकणों (जीएनपी) को सिग्नल जांच के रूप में इस्तेमाल किया गया था। आरआरएम के रूप में 4-मर्कैप्टो बेंजोइक एसिड (एमबीए) और 5,5′-डाइथियोबिस (सक्सीनिमिडिल-2-नाइट्रोबेंजोएट) (डीएसएनबी) की सिग्नलिंग विशेषताओं की तुलना की गई। कैप्चर और सिग्नल प्रोब लक्ष्य बैक्टीरिया को सैंडविच करते हुए, इसके जुड़ने पर सिग्नल प्रोब द्वारा बनाए गए 'हॉट-स्पॉट' से रमन सिग्नल उत्पन्न हुए। इष्टतम स्थितियों के तहत, एमबीए और डीएसएनबी की एसईआरएस तीव्रता क्रमशः 1588 और 1336 cm^{-1} का उपयोग 10^1-10^7 CFU mL^{-1} की सीमा में रोगज़नक़ की सांद्रता को मापने के लिए किया गया था। एमबीए और डीएसएनबी आधारित इम्यूनोसेंसर का लिमिट ऑफ़ डिटेक्शन (ऐलओडी) क्रमशः 100 CFU mL^{-1} और 10 CFU mL^{-1} के रूप में पाई गई। इसके अलावा, विभिन्न दूषित खाद्य उत्पादों के लिए संवेदन विधि के लिए प्रशंसनीय वसूली (82-114%) दर्ज की गई थी। इस प्रकार, विकसित चुंबकीय रूप से सहायता प्राप्त एस इ आर एस इम्यूनोसेंसर संवेदनशील, विशिष्ट था और क्षेत्र की स्थितियों में खाद्य नमूनों में संदूषण का पता लगाने के लिए उपयोग किए जाने की प्रबल क्षमता थी।

दूषित भोजन और पानी के सेवन से होने वाली रुग्णता और मृत्यु दर को रोकने के लिए शमन पद्धतियों को शामिल किए बिना रोगजनक बैक्टीरिया का पता लगाना अधूरा है। पानी के अघुलनशील रैखिक और क्रॉस-लिंक्ड ऐक्रेलिक कॉपोलिमर को पानी कीटाणुशोधन के लिए संश्लेषित किया गया था। रोगाणुरोधी गुण प्रदान करने के लिए कोपोलिमर को आयोडीन के साथ डोप किया गया था। एसटीवाई, एमएमए और एन-विनाइल-2-पाइरोलिडोन (एनवीपी) आधारित रैखिक कॉपोलिमर मुक्त मूलक थोक पोलीमराइजेशन द्वारा संश्लेषित किए गए थे। एनवीपी सामग्री 9 और 18% वाले दो कॉपोलिमर को संश्लेषित किया गया था। एफटीआईआर, एनएमआर, एसईएम और ईडीएक्स सहित उन्नत तकनीकों की श्रृंखला का उपयोग करके आयोडीन युक्त और गैर-आयोडीनयुक्त टेरपोलीमर का व्यवस्थित लक्षण वर्णन किया गया था। डीएससी का उपयोग करके संश्लेषित कॉपोलिमर की थर्मल स्थिरता का अध्ययन किया गया था। कोपोलिमर के T_g में आयोडीन के बाद कमी देखी गई। 30 दिनों तक क्रमशः 9 और 18% की एनवीपी सामग्री वाले कॉपोलीमर के लिए आयनिक आयोडीन की निरंतर रिहाई 1.7-1.97 ppm और 3.06-3.29 ppm के बीच देखी गई। आयोडीन युक्त कॉपोलिमर में गैर-आयोडीनयुक्त कॉपोलिमर की तुलना में सूजन में कमी देखी गई। 9% एनवीपी के साथ कोपोलिमर ने ई.कोली और एस.ऑरियस दोनों के लिए 12 mm निषेध क्षेत्र (जेडओआई) दिखाया, जबकि 18% एनवीपी के साथ कॉपोलीमर ने ई.कोली के खिलाफ क्रमशः 17 mm जेडओआई और एस.ऑरियस के खिलाफ 21 mm दिखाया। कोपोलिमर की न्यूनतम निरोधात्मक एकाग्रता (एमआईसी) 5 मिलीग्राम एमएल -1, 10 मिलीग्राम एमएल -1 और 20 मिलीग्राम एमएल -1 की एकाग्रता के लिए आयोजित की गई थी। दोनों कोपोलिमर के सभी पॉलीमेरिक सांद्रता के लिए 5 मिनट के एक्सपोजर समय के बाद रोगजनकों की पूर्ण हत्या देखी गई।

एक अन्य दृष्टिकोण में, क्रॉस-पसंद किए गए आयोडीन डोप्ड कॉपोलिमर पॉली (एथिलीन ग्लाइकॉल डायक्रिलेट-एन-विनाइल-2-पाइरोलिडोन) और पॉली (ट्रिप्रोपिलीन ग्लाइकोल डायक्रिलेट-एन-विनाइल-2-पाइरोलिडोन) को फ्री रेडिकल बल्क पोलीमराइजेशन द्वारा संश्लेषित किया गया था। सिंथेसाइज्ड कॉपोलिमर में मौलिक आयोडीन के साथ कॉम्प्लेक्स बनाने की अच्छी क्षमता होती है जैसा कि एसईएम् और इडीएक्स से देखा गया है। बहुलक परिसर की तापीय स्थिरता पर आयोडीन के प्रभाव का अध्ययन डीएससी और टीजीए द्वारा किया गया था। दोनों आयोडीन युक्त कॉपोलिमर के लिए टीजी में कमी देखी गई। इसके अलावा, आयोडीन युक्त कॉपोलिमर के प्रारंभिक गिरावट तापमान (आईडीटी) और अंतिम गिरावट तापमान (एफडीटी) में भारी कमी देखी गई। पानी में छोड़े गए मौलिक आयोडीन की मात्रा को 30 दिनों के लिए आयन चयनात्मक इलेक्ट्रोड का उपयोग करके मापा गया था। पॉली (पीईजीडीए-एनवीपी)-I2 और पॉली (टीपीजीडीए-एनवीपी)-I2 ने 30 दिनों तक क्रमशः 1.9-2.3 पीपीएम और 0.82-1.09 पीपीएम पर निरंतर रिलीज दिखाया। पॉली (पी इ जी डी ए - एन वी पी)-I2 ने जेड ओ आई को इ.कोलाई के विरुद्ध 24 mm और S.aureus के विरुद्ध 24 mm दिखाया, जबकि पाली (टी पी जी डी ए - एन वी पी)-I2 ने जेडओआई को इ.कोलाई के विरुद्ध 15 mm और एस .ऑरियस के विरुद्ध 24 mm दिखाया। . दोनों आयोडीन युक्त कॉपोलिमर के लिए सभी बहुलक सांद्रता (5 मिलीग्राम एमएल -1, 10 मिलीग्राम एमएल -1 और 20 मिलीग्राम एमएल -1) के लिए 5 मिनट के एक्सपोजर समय के बाद बैक्टीरिया की पूर्ण हत्या देखी गई।

विलायक वाष्पीकरण विधि का उपयोग करके पॉलीहाइड्रॉक्सीब्यूटाइरेट-को-वेलरेट (पी एच बी - वी ए) से बायोडिग्रेडेबल रोगाणुरोधी फिल्में तैयार की गई। ट्राईक्लोसन (टी सी एस) को रोगाणुरोधी गतिविधि प्रदान करने के लिए पी एच बी - वी ए में मिश्रित किया गया है। मिश्रित फिल्मों में टीसीएस के सफल समावेश की पुष्टि एफटीआईआर, एक्सआरडी, एनएमआर, एसईएम और ईडीएक्स द्वारा की गई। टीसीएस के शामिल होने पर सभी मिश्रित फिल्मों के टीजी में उल्लेखनीय कमी देखी गई। पीएचबी-वीए/टीसीएस मिश्रण फिल्मों में लचीलेपन और खिंचाव में सुधार देखा गया। 50 दिनों की अवधि के लिए सभी बहुलक मिश्रण फिल्मों में निरंतर दवा रिलीज (0.1-1.4 मिलीग्राम एमएल -1) देखी गई। बहुलक मिश्रण फिल्मों ने ग्राम-पॉजिटिव और ग्राम-नेगेटिव बैक्टीरि1या (ई.कोली=20-26 mm, एस.ऑरियस=33-41 mm, बी. सीरियस =12-23 mm और पी.एरुगिनोसा=11- के खिलाफ प्रमुख जेड ओ आई दिखाया। 18 mm) और भंडारण के एक वर्ष के बाद भी रोगाणुरोधी गुणों को बनाए रखा। एक अन्य दृष्टिकोण में, पारदर्शी बायोडिग्रेडेबल रोगाणुरोधी फिल्मों को प्राप्त करने के लिए टीसीएस को पॉलीलैक्टिक एसिड (पीएलए) के साथ मिश्रित किया गया था। मिश्रित फिल्मों की विशेषता एफटीआईआर, एक्सआरडी, एनएमआर, एसईएम और ईडीएक्स थी। टीसीएस की सांद्रता में वृद्धि के साथ पीएलए का टीजी, क्रिस्टलीकरण और पिघलने का तापमान कम हो गया। ब्लेंड फिल्मों के यांत्रिक गुणों का मूल्यांकन किया गया और यह निष्कर्ष निकाला गया कि टीसीएस को शामिल करने से तन्य शक्ति में कमी और लोच में वृद्धि होती है। पीएलए/टीसीएस मिश्रण फिल्मों ने 50 दिनों तक 0.1-0.8 $mg\ mL^{-1}$ की सीमा में निरंतर दवा जारी की। ब्लेंड फिल्मों ने प्रमुख जेड ओ आई (इ.कोलाई =15-22mm, एस .ऑरियस =19-25mm, बी. सीरियस =10-16mm and पी. एरुजीनोसा =10-12mm) को दिखाया और एक के बाद एक रोगाणुरोधी गुणों को एक वर्ष। के भंडारण के बाद भी बरकरार रखा।

Table of Contents

List of Figures

CHAPTER I: Introduction and literature survey

CHAPTER II: Immuno-based method for rapid & sensitive detection of *Salmonella typhimurium* using functionalized polymeric magnetic nanoconstructs

CHAPTER III: Functionalized polymeric magnetic nanoparticle assisted SERS immunosensor for the sensitive detection of *Salmonella typhimurium* in food

CHAPTER IV: Development of acrylic copolymers for mitigation of food and water borne pathogens

CHAPTER V: Development of antimicrobial polymers for packaging applications

List of Tables

CHAPTER II: Immuno-based method for rapid & sensitive detection of *Salmonella typhimurium* using functionalized polymeric magnetic nanoconstructs

CHAPTER III: Functionalized polymeric magnetic nanoparticle assisted SERS immunosensor for the sensitive detection of *Salmonella typhimurium* in food

CHAPTER IV: Development of acrylic copolymers for mitigation of food and water borne pathogens

CHAPTER V: Development of antimicrobial polymers for packaging applications

List of Schemes

CHAPTER I: Introduction and literature survey

CHAPTER II: Immuno-based method for rapid & sensitive detection of *Salmonella typhimurium* using functionalized polymeric magnetic nanoconstructs

CHAPTER III: Functionalized polymeric magnetic nanoparticle assisted SERS immunosensor for the sensitive detection of *Salmonella typhimurium* in food

CHAPTER IV: Development of acrylic copolymers for mitigation of food and water borne pathogens

List of Abbreviations

AAEM	Acetoacetoxyethyl methacrylate
Ab	Antibody
Ag	Antigen
AIBN	2,2'-azoisobisisobutyronitrile
B. cereus	*Bacillus cereus*
CSA-α-Ab	*S.typhimurium* bacteria specific affinity purified polyclonal antibody
CSA-α-Ab-HRP	Horse radish peroxidase labelled secondary antibody conjugates
DCCD	1,3-dicyclohexylcarbodiimide
DCM	Dichloromethane
DLS	Dynamic Light Scattering
DNBA	1,35,5'-dithiobis(2-nitrobenzoic acid)
E. coli	*Escherichia coli*
EDC	1-ethyl-3(-3-diethylaminoprpyl)-carbodiimide
EDX	Energy dispersive X-ray
ELISA	enzyme linked immunosorbent assay
FDT	final decomposition temperature
$FeCl_2.4H_2O$	Ferrous chloride
$FeCl_3.6H_2O$	Ferric chloride
FPMNPs	polyclonal *S. typhimurium* antibody
FTIR	Fourier Transform Infrared
GNPs	Gold nanoparticles
GPC	Gel Permeation Chromatography
H_2SO_4	Sulphuric acid

HCl	Hydrochloric acid
HRP	Horse radish peroxidase
IDT	initial decomposition temperature
IMS	immunomagnetic separation
ISI	Iodide Selective Ion
LFIA	Lateral flow immunoassays
LOD	Limit of detection
MAA	Methacrylic acid
MBA	4-mercapto benzoic acid
MIC	minimum inhibitory concentration
mL	millilitre
MMA	Methyl methacrylate
MNP	Magnetic nanoparticles
MPNC	Magnetic polymeric nanoconstructs
MPNC-10	10% MNP (w/w)
MPNC-13	13% MNP (w/w)
MPNC-7	7% MNP w/w
MPNC-CSA-α-Ab	magnetic immunomatrix
MPNCR	Multiplex polymerase chain reaction
M_s	Magnetic saturation
NaI	Sodium iodide
NaOA	Sodium oleate
NaOH	Sodium hydroxide
NAT	Nucleic acid-based tests

NC	negative control
Nc	nitrocellulose
NHS	*N*-hydroxysuccinimide
NSB	non-specific binding
NVP	N-vinyl-2-pyrrolidone
OD	optical density
P. aeruginosa	*Pseudomonas aeruginosa*
PBS	Phosphate buffer saline
PCR	polymerase chain reaction
PEGDA	Poly (ethylene glycol) diacrylate
PHB-VA	polyhydroxybutyrate-co-valerate
PLA	polylactic acid
PLL	poly-L-lysine
POC	point of care
poly(PEGDA-NVP)	polyethylene glycol diacrylate-N-vinyl-2-pyrrolidone
poly(TPGDA-NVP)	tripropylene glycol diacrylate-N-vinyl-2-pyrrolidone
QAC	Quaternary ammonium compounds
RB	round bottom
RIA	Radioimmunoassay
RRM	Raman reporter molecules
S. aureus	*Staphylococcus aureus*
S. enetritidis	*Salmonella enetritidis*
S. paratyphi	*Salmonella. paratyphi*
S.typhi	*Salmonella.typhi*

S.typhimurium	*Salmonella typhimurium*
SEM	Scanning Electron Microscopy
SPDS	Sodium peroxydisulphate
SQUID	Super Conducting Quantum Interference Device
STY	Styrene
TEM	Transmission Electron Microscopy
TGA	Thermogravimetric analysis
TMB	3,3',5,5' tetramethylbenzidine
TPGDA	tripropylene glycol diacrylate
XRD	X-Ray Diffraction
ZOI	Zone of inhibition