

การปรับปรุงสายพันธุ์ของเชื้อ *Streptococcus zooepidemicus* ATCC 35247 ให้มีประสิทธิภาพการผลิตกรดไฮยาลูโรนิกสูงและไม่มีการผลิตสเตรปโตไลซิน โดยการกลายพันธุ์ด้วยแสงอัลตราไวโอเล็ตในขั้นตอนแรกและตามด้วย NTG ในขั้นตอนต่อมา การคัดเลือกสายพันธุ์กลายในขั้นปฐมภูมิอาศัยลักษณะของโคโลนีในการคัดเลือกโดยคัดเลือกโคโลนีที่มีขนาดใหญ่ มีเมือกมาก และเมื่อเพาะเลี้ยงบนผิวหนังอาหารแข็งที่มีเลือดผสมอยู่ไม่มีการย่อยสลายเม็ดเลือดแดง ส่วนการคัดเลือกในขั้นทุติยภูมิใช้ค่าปริมาณกรดไฮยาลูโรนิกในน้ำหมักซึ่งวิเคราะห์ได้โดยการหาปริมาณกรดไฮยาลูโรนิกด้วยปฏิกิริยาคาร์บาโซล พบว่า สายพันธุ์ ATCC 35247 ซึ่งเป็นสายพันธุ์ตั้งต้นในการกลายพันธุ์ตามงานวิจัยนี้ผลิตกรดไฮยาลูโรนิกได้ ประมาณ 600 มิลลิกรัมต่อลิตรในช่วง 36 ชั่วโมงของการหมัก หลังจากการกลายพันธุ์สามารถคัดเลือกได้สายพันธุ์ UN-7 ซึ่งผลิตกรดไฮยาลูโรนิกได้ประมาณ 800 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่ระยะเวลาการหมัก 36 ชั่วโมง โดยสายพันธุ์ UN-7 สามารถผลิตกรดไฮยาลูโรนิกสูงกว่าสายพันธุ์ตั้งต้นร้อยละ 33.33 เมื่อทำการหมักในระดับถังหมักขนาด 5 ลิตร สายพันธุ์ UN-7 สามารถผลิตกรดไฮยาลูโรนิกได้เพิ่มขึ้นจากการหมักในระดับขวดเขย่า โดยให้ปริมาณกรดไฮยาลูโรนิกสูงถึง 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่ระยะเวลาการหมัก 36 ชั่วโมง ความสามารถในการผลิตกรดไฮยาลูโรนิกของสายพันธุ์ UN-7 นี้จะไม่คงที่ในช่วง 1 ถึง 10 ครั้งของการถ่ายเชื้อแต่จะเริ่มคงที่ในช่วง 10 ถึง 30 ครั้งของการถ่ายเชื้อโดยให้ปริมาณกรดไฮยาลูโรนิกประมาณ 800 มิลลิกรัมต่อลิตรเมื่อทดสอบในการหมักระดับขวดเขย่าที่ระยะเวลาการหมัก 36 ชั่วโมง เชื้อสายพันธุ์ UN-7 ไม่สร้างสเตรปโตไลซินเมื่อเจริญบนอาหารแข็งที่มีเลือดผสมอยู่ ดังนั้นกรดไฮยาลูโรนิกที่ผลิตได้จึงไม่มีการปนเปื้อนของสเตรปโตไลซิน

Strain improvement of *Streptococcus zooepidemicus* ATCC 35247 to have high ability to produce hyaluronic acid and free from streptolysin was performed by mutating with ultraviolet in the first step and NTG for the sub-sequence step. Primary screening for the mutants was by selectiny for large mucoïd colonies which were unable to hydrolyze red blood cells when cultivated on blood agar plate. Secondary screening was by determining hyaluronic acid concentration in the culture broth by carbazole reaction. *S. zooepidemicus* ATCC 35247 capable to produce hyaluronic acid about 600 milligrams per liter of culture broth at 36 hours of fermentation was used as a parental strain for this investigation. After mutation, strain UN-7 capable to produce hyaluronic acid of about 800 mg/l at the same cultivation time as that of the parental strain was selected. The level of hyaluronic acid produced by this mutant was 33.33 percent higher than that of the parental strain. Cultivation of UN-7 in a 5 l-fermentor yielded hyaluronic acid of about 1000 mg/l at 36 hours which was higher than that of the shaken flask, However, the ability for hyaluronic acid production by this mutant was unstable when subculturing between 1-10 times, but it seemed to be stable during 10-30 times of subculturing with production ability of about 800 mg/l. Furthermore, there was no streptolysin activity detected from blood agar plate culture of UN-7. This confirmed that the hyaluronic acid produced by this mutant was free from streptolysin.