

啤酒酵母海藻糖提取工艺研究

王宜磊, 朱陶, 孟国庆, 张海丽, 袁琴琴, 王传宝, 谌志伟 (菏泽学院生命科学系, 山东菏泽 274015)

摘要 [目的]研究优化啤酒酵母海藻糖提取工艺。[方法]以啤酒废酵母为原料,使用各种不同的方法(微波破壁法、高温处理破壁、煮沸提取法)提取海藻糖,以海藻糖得率以及工艺的效益性为指标考察料液比、浸提时间、浸提温度、辅助因素处理等单因素对海藻糖提取的影响,从而确定从废酵母中提取海藻糖的较佳工艺。[结果]试验得出,微波破碎法耗时少,但不易工业化且提取率不高,比较发现煮沸提取的工艺方法相对最佳。以水作提取剂从废酵母中提取海藻糖的最佳条件是:煮沸 80 min,海藻糖提取率为 8.147 mg/g 干酵母。[结论]研究可为海藻糖的提取及进一步开发利用提供参考。

关键词 啤酒废酵母;海藻糖;萘酮-浓硫酸比色法;3,5-二硝基水杨酸比色法

中图分类号 S609.9 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2014)33-11884-04

Study on Beer Yeast Trehalose Extraction Technology

WANG Yi-lei, ZHU Tao, MENG Guo-qing et al (Department of Life Science, Heze University, Heze, Shandong 274015)

Abstract [Objective] To optimize the technique for extracting trehalose from beer yeast. [Method] Using beer waste yeast as material, various methods(microwave, high temperature, boiling)were adopted to extract trehalose. With trehalose yield and the benefits of technology as indicators, effects of solid-liquid ratio, soaking time, temperature, auxiliary factors on trehalose extraction were investigated, the optimal technique was obtained. [Result] Comparison found that boiling extraction technology is the best relatively. The extraction rate of trehalose was 8.147 mg/g dry yeast cells under the optimum technical conditions with boiling 80 min. [Conclusion] The study can provide reference for trehalose extraction and further utilization.

Key words Waste beer yeast; Trehalose; Anthracene copper-sulfuric acid colorimetry; 3,5-two nitro salicylic acid colorimetry

海藻糖(Trehalose)是一种由2个葡萄糖分子通过半缩醛基以 α -1,1糖苷键结合的非还原性双糖^[1]。有“21世纪生命之糖”称号的海藻糖具有非特异性的保护功能,引起了全球科研人员的研究热潮^[2-3]。它不仅可作为生物体内的能量储备,也具有在干燥条件下保护核酸、蛋白质等大分子物质不受侵害的功能,更值得关注的是,外源性的海藻糖同样也可以保护细胞和生命大分子^[4],对蛋白质变性具有保水作用和保护作用^[5]。海藻糖的这些特性决定了它在疫苗、菌苗、食品、医药卫生、化妆品等领域的生产中有着广阔的应用前景。

海藻糖最初是Wiggers从黑麦的麦角中首次分离出来的,后来发现在其他真菌、细菌、昆虫血、地衣、酵母以及无脊椎动物中亦有广泛存在^[6]。特别是在酵母中含量丰富^[7],且由于酵母容易培养、生长快速,目前世界各国产海藻糖的主要方法是从酵母菌中提取。目前海藻糖的生产主要存在的问题是海藻糖资源不够和生产费用太高。随着生产技术与工艺的改进与提高,它将更加广泛地用于食品、医药等多个领域内。从酵母细胞内提取海藻糖,大都采用乙醇回流提取工艺。但是该传统方法大多表现为提取时间太长、海藻糖收率很低、杂质溶出过多等诸多问题。随着人们对其破壁提取技术的进一步研究与探索和我国科技的快速发展,通过不同方法如:反复冻融法破壁、高压脉冲电场破壁、微珠涡流发破壁、双螺杆挤压膨化法破壁、酶法等大大改善了传统的方法,提高了破壁率、海藻糖提取率。

在查阅大量文献的基础上,笔者以啤酒废酵母为原料,

使用各种不同的方法(微波破壁法、高温处理破壁、煮沸提取法)提取海藻糖,然后以海藻糖得率以及工艺的效益性来确定从废酵母中提取海藻糖的较佳工艺。分别用微波破壁啤酒酵母提取海藻糖、对啤酒酵母高温处理破壁提取海藻糖,煮沸啤酒酵母提取海藻糖,然后比较这3种方法中的各因素对海藻糖提取率的影响。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 原料。啤酒废酵母:由青岛啤酒厂提供。该试验经预处理获得的废酵母每100g湿酵母可获得25.4g干酵母。

1.1.2 主要仪器。电子分析天平(型号FA1604),上海天平仪器厂;微波炉(型号EM-183SM1),合肥容事达三洋电器股份有限公司;台式低速离心机(型号TDL-5-A),上海安亭仪器厂;分光光度计(型号7230G),北京普析通用仪器有限责任公司;三用电热恒温水箱(型号S·HH·WZ1-Cr),北京长安科学仪器厂。

1.1.3 主要试剂与配制方法。氯仿:正丁醇试剂:氯仿:正丁醇=5:1配制。萘酮-浓硫酸试剂:200mg萘酮,100ml浓硫酸配制而成的,一定边加边搅拌,得到黄色透明溶液体,将其置于棕色瓶中,要求现配现用。

1.2 方法

1.2.1 检测方法。海藻糖得率以提取液中海藻糖的含量作为指标。配制海藻糖标准液,按照萘酮-浓硫酸比色法测定其吸光度,得标准曲线方程。

1.2.2 海藻糖提取率的计算公式。公式如下:

$$\text{海藻糖的提取率}(\%) = \left[\frac{\text{海藻糖浓度}(\text{g/L}) \times \text{总体积}(\text{L}) \times \text{稀释倍数}}{\text{干酵母质量}(\text{g})} \right] \times 100$$

1.2.3 废酵母的预处理。因为啤酒生产末期排放出来的废

基金项目 山东省科技计划资助项目(2011GSF2114);菏泽市科技计划项目(2010S002)。

作者简介 王宜磊(1964-),男,山东巨野人,教授,从事微生物生理学方面研究。

收稿日期 2014-10-15

液中除了酵母,还有大量的麦壳、碎米渣、酒花沉淀物等杂质,这些都不利于提取,所以要先洗涤除杂、得到纯净的啤酒废酵母。其工艺流程如下:啤酒废酵母→加蒸馏水稀释→100 分样筛筛分一次→3 000 r/min 离心分离→纯净的啤酒废酵母。

1.2.4 海藻糖标准曲线的绘制。配制 100 mg/L 的海藻糖标准液,取 6 支试管,按表 1 分别加入 100 mg/L 的海藻糖标准液、蒸馏水、萘酮-浓硫酸试剂。

表 1 海藻糖标准曲线的制作

编号	100 mg/L 海藻糖标准液// μl	蒸馏水 ml	萘酮-浓硫酸//ml	海藻糖浓度//mg/L	OD 值 ($OD_{590\text{nm}}$)
1	0	2.000	8.00	0	0
2	25	1.975	8.00	12.5	0.145
3	50	1.950	8.00	25.0	0.335
4	100	1.900	8.00	50.0	0.641
5	120	1.880	8.00	60.0	0.768
6	150	1.850	8.00	75.0	0.943

加入萘酮-浓硫酸试剂之后,一起浸沸水浴中加热 5 min。煮完取出,用自来水冲冷,然后在分光光度计上进行比色。调整波长为 590 nm,用 1 号管调零点,测出 1~6 号管的 OD 值。以 OD 值为纵坐标,海藻糖浓度为横坐标,做出标准曲线。

1.2.5 微波处理。不同处理时间:定量称取废湿酵母 5 份,每份 0.1 g 置于 50 ml 烧杯中,并均匀地铺在烧杯底部,然后置微波炉内能量分布均匀的位置,800 W 功率分别处理 90、120、180、240、300 s。然后分别加入 10 ml 的蒸馏水,让酵母充分溶解后静置 10 min,用移液枪分别取上清液 3.3 ml 于 5 支试管内,再向试管里分别加入 0.66 ml 的 Seville 试剂(氯仿:正丁醇=5:1),充分振荡后,以 3 000 r/min 离心 10 min,然后分别取离心管内的上清液 2.00 ml 于 5 支试管内,再取 1 支试管加入 2.00 ml 蒸馏水(空白对照),再往 6 支试管内分别加入 8.00 ml 的萘酮-浓硫酸试剂,放置沸水中加热 5 min,然后用自来水冲冷,然后在分光光度计上进行比色,调整波长为 590 nm,用空白对照试管调零,测出 1~5 号管的 OD 值。通过海藻糖标准曲线计算出各自的海藻糖浓度。

不同料液比处理:定量称取废湿酵母 5 份,每份 0.1 g 置于 50 ml 烧杯中,并均匀地铺在烧杯底部,然后置微波炉内能量分布均匀的位置,800 W 功率处理 180 s,然后分别加入 8、10、12、14 ml 的蒸馏水,让酵母充分溶解后静置 10 min,用移液枪分别取上清液 3.3 ml 于 5 支试管内,再向试管里分别加入 0.66 ml 的 Seville 试剂(氯仿:正丁醇=5:1),充分振荡后,以 3 000 r/min 离心 10 min,然后分别取离心管内的上清液 2.00 ml 于 5 支试管内,再取 1 支试管加入 2.00 ml 蒸馏水(空白对照),再往 6 支试管内分别加入 8.00 ml 的萘酮-浓硫酸试剂,放置沸水中加热 5 min,然后用自来水冲冷,然后在分光光度计上进行比色,调整波长为 590 nm,用空白对照试管调零,测出 1~5 号管的 OD 值。通过海藻糖标准曲线计算出各自的海藻糖浓度。

1.2.6 高温处理。不同处理时间:量取废湿酵母 5 份,每份 0.1 g 置于 50 ml 烧杯中,并均匀地铺在烧杯底部,然后放在 80 ℃ 的恒温水浴中分别处理 20、30、40、50、60 min。然后分别加入 10 ml 的蒸馏水,让酵母充分溶解后静置 10 min,用移液枪分别取上清液 3.3 ml 于 5 支试管内,再向试管里分别加入 0.66 ml 的 Seville 试剂(氯仿:正丁醇=5:1),充分振荡后,以 3 000 r/min 离心 10 min,然后分别取离心管内的上清液 2.00 ml 于 5 支试管内,再取 1 支试管加入 2.00 ml 蒸馏水(空白对照),再往 6 支试管内分别加入 8.00 ml 的萘酮-浓硫酸试剂,放置沸水中加热 5 min,然后用自来水冲冷,然后在分光光度计上进行比色,调整波长为 590 nm,用空白对照试管调零,测出 1~5 号管的 OD 值。通过海藻糖标准曲线计算出各自的海藻糖浓度。

不同处理温度:量取废湿酵母 5 份,每份 0.1 g 置于 50 ml 烧杯中,并均匀地铺在烧杯底部,然后分别放进先前调好的 5 个恒温水浴锅中,恒温水浴锅温度分别为 60、70、80、90、100 ℃。处理 40 min 后,分别向 5 个烧杯中加入 10 ml 的蒸馏水,让酵母充分溶解后静置 10 min,用移液枪分别取上清液 3.3 ml 于 5 支试管内,再向试管里分别加入 0.66 ml 的 Seville 试剂(氯仿:正丁醇=5:1),充分振荡后,以 3 000 r/min 离心 10 min,然后分别取离心管内的上清液 2.00 ml 于 5 支试管内,再取 1 支试管加入 2.00 ml 蒸馏水(空白对照),再往 6 支试管内分别加入 8.00 ml 的萘酮-浓硫酸试剂,放置沸水中加热 5 min,然后用自来水冲冷,然后在分光光度计上进行比色,调整波长为 590 nm,用空白对照试管调零,测出 1~5 号管的 OD 值。通过海藻糖标准曲线计算出各自的海藻糖浓度。

不同料液比处理:量取废湿酵母 5 份,每份 0.1 g 置于 50 ml 烧杯中,并均匀地铺在烧杯底部,然后在 80 ℃ 的恒温水浴锅中处理 40 min,处理后分别向 5 个烧杯中加入 8、9、10、11、12 ml 的蒸馏水,让酵母充分溶解后静置 10 min,用移液枪分别取上清液 3.3 ml 于 5 支试管内,再向试管里分别加入 0.66 ml 的 Seville 试剂(氯仿:正丁醇=5:1),充分振荡后,以 3 000 r/min 离心 10 min,然后分别取离心管内的上清液 2.00 ml 于 5 支试管内,再取 1 支试管加入 2.00 ml 蒸馏水(空白对照),再往 6 支试管内分别加入 8.00 ml 的萘酮-浓硫酸试剂,放置沸水中加热 5 min,然后用自来水冲冷,然后在分光光度计上进行比色,调整波长为 590 nm,用空白对照试管调零,测出 1~5 号管的 OD 值。通过海藻糖标准曲线计算出各自的海藻糖浓度。

1.2.7 沸水处理。称取废湿酵母 5 份,每份 0.1 g 置于 50 ml 烧杯中,并均匀地铺在烧杯底部,加一定量的蒸馏水混合,用电锅煮沸,此过程会有大量的水蒸出,要不断加水,每 10 min 补加相同的水分,提取过程要注意不断搅拌。从沸腾开始计时,每经过 20 min 停止对一只烧杯煮沸。这样对 5 支烧杯分别处理了 20、40、60、80、100 min。然后静置 10 min,用移液枪分别取上清液 3.3 ml 于 5 支试管内,再向试管里分别加入 0.66 ml 的 Seville 试剂(氯仿:正丁醇=5:1),充分振荡

后,以 3 000 r/min 离心 10 min,然后分别取离心管内的上清液 2.00 ml 于 5 支试管内,再取 1 支试管加入 2.00 ml 蒸馏水(空白对照),再往 6 支试管内分别加入 8.00 ml 的萘酚-浓硫酸试剂,放置沸水中加热 5 min,然后用自来水冲冷,然后在分光光度计上进行比色,调整波长为 590 nm,用空白对照试管调零,测出 1~5 号管的 OD 值。通过海藻糖标准曲线计算出各自的海藻糖浓度。

2 结果与分析

2.1 海藻糖的标准曲线与方程 如图 1 得到的直线方程为 $y = 0.0127x + 0.0012$, 相关系数为 0.9991, 表明海藻糖浓度在 0~75 mg/ml 的范围内与吸光度呈正相关, 方程中的 y 为吸光度, x 为海藻糖的质量浓度。

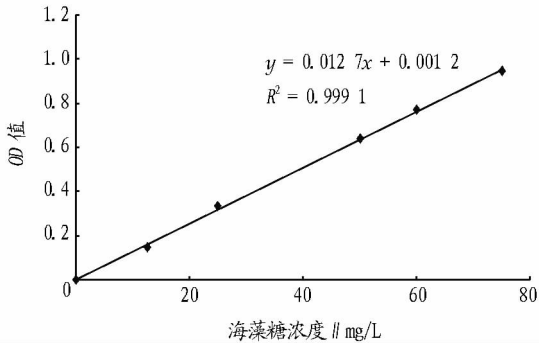


图 1 海藻糖标准曲线

2.2 微波处理啤酒酵母的情况下海藻糖的提取率 微波破碎啤酒酵母细胞是由于胞内物质局部受热、内压快速升高而使细胞发生破碎的。微波具有穿透力强、升温快的特点, 通过微波处理后, 酵母细胞不仅实现了细胞破碎, 胞内海藻糖酶活性也会快速丧失活性^[8]。该试验通过考虑微波处理的时间不同、料液比不同得到的海藻糖提取率的变化情况如图 2、3 所示。

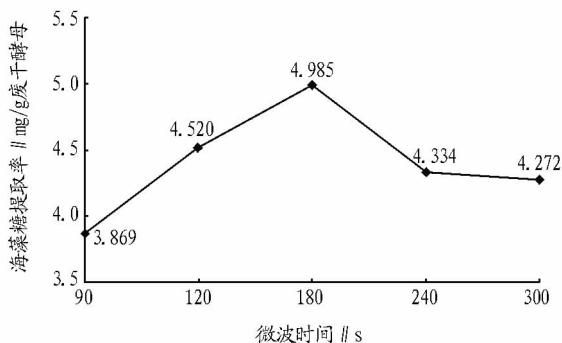


图 2 微波时间对海藻糖提取率的影响

由图 2、3 可知, 微波处理可在比较短的时间里灭活海藻糖酶和对细胞的破壁, 大大方便了细胞内海藻糖的提取。在微波处理时间和料液比这两个影响因素中, 微波处理不但灭活了海藻糖酶, 还破坏了酵母细胞壁和细胞膜, 大大减小了提取阻力。因此, 综合考虑各种因素的影响, 确定采用微波预处理方法提取海藻糖的最佳条件是: 微波作用 180 s, 料液比 1:100 g/ml 下用水为提取液提取, 海藻糖提取率为 4.985 mg/g 干酵母。

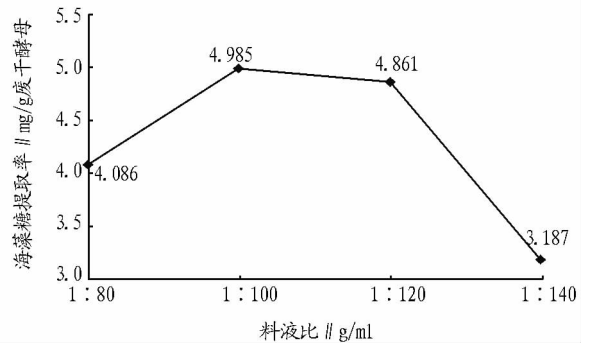


图 3 微波处理下料液比对海藻糖提取率的影响

2.3 高温处理啤酒酵母的情况下海藻糖的提取率 高温可使海藻糖酶变性失活, 高温干燥还可使酵母细胞壁受到严重损坏, 使其表面形成许多的裂缝, 从而使酵母细胞内物质容易流出来^[9]。因此可以采用高温破碎灭活酵母细胞达到提取海藻糖的目的。该试验通过考虑高温处理的时间不同、温度不同、料液比不同得到的海藻糖提取率变化情况如图 4~6 所示。

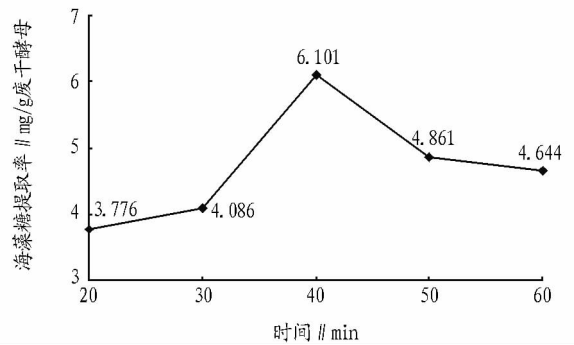


图 4 高温处理不同时间对海藻糖提取率的影响

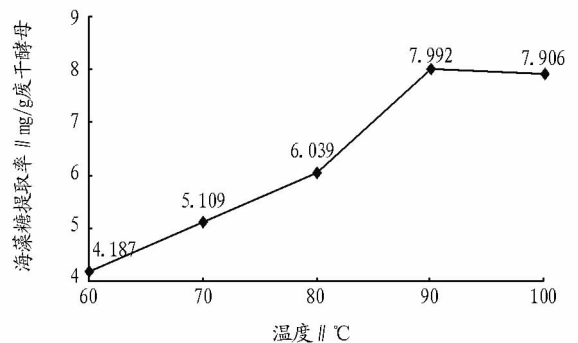


图 5 高温处理不同温度对海藻糖提取率的影响

由图 4、5、6 可知, 高温处理温度和处理时间对海藻糖提取率影响较大。综合考虑各影响因素以及考虑到经济因素得到的高温预处理方法的最佳条件为: 90 °C 烘箱中处理 40 min, 料液比为 1:100 g/ml, 此时的海藻糖最大得率为 7.992 mg/g 干酵母。

2.4 沸水处理啤酒酵母的情况下海藻糖的提取率 煮沸提取可做到灭活海藻糖酶、破碎细胞以及提取同时进行^[10]。经过煮沸处理时间不同后得到的海藻糖提取率变化情况如图 7 所示。

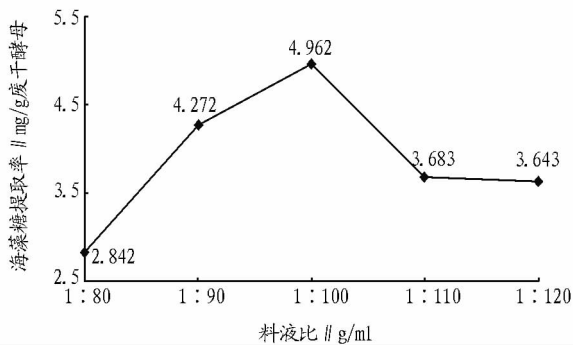


图6 高温处理不同的料液比对海藻糖的提取率的影响

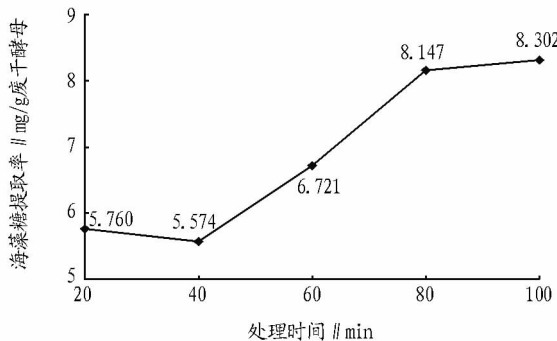


图7 沸水浴处理不同时间对海藻糖提取率的影响

图7可以看出,在80 min内,随着时间的增加,海藻糖的提取率大幅增加,但继续增加处理时间,海藻糖的提取率增幅趋于平稳,考虑综合因素,确定以水作提取剂从废酵母中提取海藻糖的最佳条件是:煮沸80 min,海藻糖提取率为8.147 mg/g。

2.5 废酵母不同处理方法提取海藻糖的比较^[11-12] 由表2可见,微波破碎法虽然用时较少,但不容易工业化使用且提取率不高。高温处理废酵母,如高温干燥和煮沸提取,得到的海藻糖提取率较高,分别为7.992 mg/g干酵母和8.147 mg/g干酵母。而且这2种方法使酵母细胞内的海藻糖酶容易失活同时也使啤酒酵母细胞内的海藻糖变得容易提取。其原因可能是以下2点:一是高温(热)处理时,酵母从室温升到高温使其死亡的温度之前,由于受到高温的伤害,细胞内海藻糖的含量增加;二是高温作用使酵母细胞内的海藻糖酶完全失活,使海藻糖不被降解,使其容易提取。高温干燥和沸水处理虽然都能有效提高海藻糖的提取率,但是在试验过程中可以发现高温干燥处理的一些缺点。一是高温干燥要除去酵母中的水分,能耗大,不经济环保;二是酵母干燥后往往使酵母硬结成块,提取前需要将其粉碎,造成了提取工艺的不必要的复杂与不便。而煮沸提取可做到灭活海藻糖酶、破碎细胞以及提取同时进行,简化了提取工艺,提高了海藻糖提取率。所以该试验确定水为提取剂、采用煮沸提取的方法作为最佳提取工艺。

3 结论与讨论

3.1 结论 该试验以水作提取剂从废酵母中提取海藻糖,考察了用微波破碎细胞后提取、高温处理后提取、煮沸后提取3种方法,结果得出,微波破碎法耗时少,但不易工业化且

提取率不高,比较发现煮沸提取的工艺方法相对最佳。以水作提取剂从废酵母中提取海藻糖的最佳条件是:煮沸80 min,海藻糖提取率为8.147 mg/g干酵母。

表2 不同处理方法的比较

处理方法	提取剂	高温处理	处理时间	海藻糖提取率 mg/g 干酵母
		温度//℃	min	
微波破壁后提取	水	/	3	4.985
高温处理后提取	水	90	40	7.992
煮沸提取	水	100	80	8.147

3.2 讨论 通过查阅文献获知,用水作提取剂和用乙醇作提取剂的提取率相差不大,而且水提取的温度高于乙醇水溶液提取,但提取时间比乙醇水溶液短,考虑到乙醇的成本比水的成本高,回收比较麻烦。所以,对工业化大规模生产,选择水提取方法来制备海藻糖比较适宜。

酵母细胞内海藻糖的提取必须抑制海藻糖酶的活性,该试验设计的3种方法都能有效抑制海藻糖酶的活性,例如微波具有穿透力强、升温快的特点,通过微波处理可迅速使海藻糖酶丧失活性。海藻糖酶在微波场中失活很快,经短时间微波处理后,酵母细胞不仅破碎了,而且胞内海藻糖酶活性也已完全丧失。微波破细胞与高压匀浆、珠磨等细胞破碎方法最大的区别在于,微波破碎细胞是基于胞内物质局部受热、内压升高而使细胞发生破碎的,微波破壁只使细胞表面出现孔洞和裂纹,小分子物质可以自由进出细胞,但并未将细胞内容物完全释放到胞外,细胞仍保持其形态,杂质溶出少,为后面的提取工作提供方便。高温处理和沸水处理都利用了酶的性质,高温使海藻糖酶活性丧失,而且同时由于酵母细胞受高温影响使其细胞壁破裂,从而使海藻糖容易流出,易于提取。再者,该试验采用的是物理方法,相比于其他化学或者生物方法处理酵母,从根本上减少了对化学试剂的使用,减少了环境的污染,更加经济、高效、环保。另外,物理法破壁还有很多种,如反复冻融法、超声波破壁法等,该试验没有用反复冻融法,是因为该方法工艺相对复杂,耗时长,难以工业化生产。

从试验结果可以看出,海藻糖的提取率不是很高,可能的原因:一是该试验所用的啤酒废酵母放置时间过长,其体内的海藻糖酶分解了一部分海藻糖;二是在试验过程中经过微波处理或高温处理后,酵母过于干燥凝结成块,对其溶解时不完全,造成少部分的海藻糖丢失。以后如果再次研究该方面的课题以考虑在破壁处理时添加一些辅助工作,如在物理场辅助下进行或者添加一些生物酶。在辅助条件下用这3种方法(微波处理、高温处理、沸水处理)处理酵母,应该破壁效果更佳,海藻糖提取率更高,更加利于工业化大生产。

参考文献

- [1] MULLER J, WIEMKEN A, AESCHBACHER R. Trehalose metabolism in sugar sensing and plant development[J]. *Plant Science*, 1999, 147: 37 - 47.
- [2] NWAKA S, HOLZER H. Molecular biology of trehalose and trehalases in the yeast, *Saccharomyces cerevisiae*, Prog[J]. *Nucleic Acid Res Mol Biol*, 1998, 58: 197 - 237.

强烈。农村合作医疗在资金筹集方面多采取三方共同出资的方式,即个人缴费、集体扶持、政府资助。从理性人的视角看,在政府财政收入逐年增加的情况下,个人对政府出资额的预期会较高,如果政府的补助标准低于个人的出资比例,就会影响居民的参合意愿,如果农村合作医疗基金中个人缴费比例较大,农民就会认为还是其个人的自我保障。政府的高补助标准能起到强化农民参加合作医疗的作用。“社会契约”模型理论认为:个人希望从联合中获益而情愿放弃部分自由,政府机制才得以形成^[6]。新型农村合作医疗制度要维持下去,必须取得农村居民的认同并保证一定的参合率,在有得必有失的情况下,参合农民按规定数额每年缴纳参合费用,患病时能得到相应的补偿,农民在这种得失之间进行权衡,只有得到大于失去这种制度才能得以延续。在受益面较低的情况下,大部分农民投入的参合基金,并没有带来相应的回报,这不得不促使部分农民思考:要不要继续放弃对那部分参合资金的支配权。

3.2 信息的不对称、报销政策的不透明,降低了居民对农村合作医疗制度的信任感 由于县、市、乡三级医疗机构在医疗费用的报销比例上存在差异,各个环节在执行过程中都有可能产生偏差。但这种偏差应该是细节方面的偏差,否则农民是不会认可并接受的。新型农村合作医疗制度从试点到全面覆盖已经历十年时间,仍有很多农村居民对这一制度一知半解,尤其是对报销程序不清楚。这种局面可以归咎于政府对该政策的宣传不足,导致参保农民与医疗机构之间信息不对称,为定点医疗机构的作弊行为提供了条件。个别乡镇卫生院实行的是一套不同于政策要求的报销方法:农村居民在卫生院看病一律采用现金支付的方式,即自己先支付看病期间的一切费用,出院后,所有票据交给卫生院相关人员,由卫生院代为办理报销手续,一个月以后,由患者本人或家人再来卫生院领取报销款。据村民反映,卫生院既不说明具体的报销比例,也不说明哪些属于能报销的范围,哪些又不可以报销,只是拿出一定数额的现金交给前来领取报销款的人。

3.3 农村居民看病医院的选择,对合作医疗的相关政策提出了挑战 调查结果显示相当一部分的农村居民选择在个体诊所就医,原因在于农村居民看小病的次数要比看大病的次数多,选择在个体诊所就诊主要因为一般常见病对医生医

疗技术要求不高,个体诊所完全具备看此类小病所需的医疗服务水平。此外,一般小病没有被纳入合作医疗的补偿范围,到定点医疗机构就诊不能享受报销政策,而医疗成本会比一般诊所高。所以才会出现大部分居民在看小病时选择到私人诊所就诊。这种选择无形中增加了居民与周围距离较近的个体医生打交道的机会,双方在频繁的接触中,相互了解的机会增多,最后就会相互熟悉,成为熟人,去熟人那看常见病的行为就会被强化。看大病的情况则不同,大病对医生医疗技术方面的要求很高,一般的诊所既缺少相应的医疗设备又不具有高水平的医疗技术。看大病时,农村居民会自然会选择到省内医疗条件相对较好的县、市级医疗机构就诊,碰上疑难杂症时,农村居民更是会首选到省外医院就医。

4 结语

调查结果显示,农村居民的就医行为会影响到农村合作医疗制度的发展。笔者建议政府适当的加大对农村合作医疗的补助力度,吸引更多的居民参加合作医疗,强化农村居民的参合行为。此外,政府要借助各种宣传媒介,如利用网络、电视、广播、墙体广告、张贴海报等形式,对新型农村合作医疗制度的内容,筹资方式、补偿情况、尤其是医疗费用报销政策进行广泛宣传,增加政策的透明度,让居民享有知情权,才能有更多的农村居民真正了解该制度。政府要适当的提高医疗费用补偿比例,扩展新型农村合作医疗的受益面,让更多的农村居民能从该制度中受益,发挥合作医疗制度保障农村居民医疗行为的正功能,政府实施新型农村合作医疗制度的最终目的才可能实现。

参考文献

- [1] 孙宏亮. 新型农村合作医疗制度的公正问题研究——以大连市金州区为例[D]. 大连:大连医科大学,2007.
- [2] 1993 年世界发展报告. 投资与健康[M]. 北京:中国财经经济出版社,1994.
- [3] 宋青锋. 新型农村合作医疗制度的需求与绩效研究——基于重庆市的经验数据[D]. 成都:西南财经大学,2008.
- [4] 中华人民共和国卫生部网:关于建立新型农村合作医疗制度的意见[EB/OL]. <http://www.moh.gov.cn/>.
- [5] 郭晓艳. 农村居民医疗状况变迁研究——以安徽省来安县 ZS 乡为例[J]. 安徽农业科学,2013(9):4165-4167.
- [6] 李聪敏,赵邦宏. 农民参与新型农村合作医疗的意愿及影响因素分析——基于河北省唐山、保定、沧州三地的调查[J]. 乡镇经济,2008(11):58-61.

(上接第 11887 页)

- [3] 聂凌涛,宁正祥. 海藻糖的生物保护作用[J]. 生命的化学,2001,21(3):206-208.
- [4] KAUSHIK J K, BHAT R. Why is trehalose an exceptional protein stabilizer[J]. The Journal of Biological Chemistry, 2003, 278(29):26458-26465.
- [5] 蒙健宗,秦小明,赵文报,等. 海藻糖对冷冻罗非鱼片蛋白质变性作用的影响[J]. 食品工业科技,2007,28(2):214-216.
- [6] ELBEIN J K, PAN Y T, PASTUSZAK I, et al. New insights on trehalose: a multifunctional molecule[J]. Glycobiology, 2003, 13(4):17-27.
- [7] DAMORE T, CRUMPLEN R, STEWART G G. The involvement of trehalose in yeast stress tolerance[J]. Journal of Industrial Microbiology, 1991,

- 7:191-196.
- [8] 刘传斌. 酵母胞内海藻糖的积累规律和微波破细胞提取技术[D]. 大连:大连理工大学,1999.
- [9] 刘传斌,李宁,白凤武,等. 酵母胞内海藻糖微波破细胞提取与传统提取比较[J]. 大连理工大学学报,2001,41(2):169-172.
- [10] 谭海刚,李书巧,关凤梅,等. 从啤酒废酵母中提取海藻糖工艺的研究[J]. 酿酒科技,2005(4):78-80.
- [11] 杨渝军,刘静波,林松毅,等. 超声波辅助水浸提啤酒废酵母细胞中海藻糖工艺研究[J]. 食品科学,2008,29(12):296-299.
- [12] 林松毅,王晓丽,刘静波,等. 啤酒废酵母泥中提取海藻糖的工程化回归模型[J]. 吉林大学学报:工学版,2009,39(S2):353-357.