

文章编号:1002-0551(2018)04-0001-06

食用红甜菜多糖的提取及纯化

孙小童²,代翠红^{1*},崔杰¹,罗成飞¹,李新玲¹,张延明¹,程大友^{1*}

(1. 哈尔滨工业大学化工与化学学院,黑龙江 哈尔滨 150086;

2. 哈尔滨师范大学生命科学与技术学院,黑龙江 哈尔滨 150020)

摘要:本实验利用热水浸提法和酶解法对红甜菜多糖进行提取,并对这两种方法进行比较,得出酶解法得率更高,但相比之下热水浸提法成本较低且操作简便,可根据实际条件及自身需求选择两种方法;确定了红甜菜多糖提取实验中最佳分离醇沉条件为:乙醇终浓度为80%,4℃冰箱醇沉24小时;我们采用了Sevage法和TCA法纯化多糖,确定Sevage法最佳脱蛋白次数为4次,TCA法中TCA浓度为8%时效果最好,综合考虑脱蛋白率和多糖损失率,两种脱蛋白法中TCA法更适用于食用红甜菜多糖的纯化,其脱蛋白率可达到78%,而多糖损失率仅为8.55%。

关键词:红甜菜;多糖;提取分离;纯化

中图分类号:S566.3

文献标识码:A

doi:10.3969/j.issn.1002-0551.2018.04.001

0 前言

多糖是一种广泛存在于生物体内的天然高分子聚合物,在维持生命活动的正常运作中起着重要的作用^[1-2]。多糖不仅可以作为生物体的能量来源,在生物合成反应以及激素激活、细胞增殖、肿瘤细胞转移等生命过程中也能够发挥重要的作用^[3-4],它几乎参与了细胞中的所有活动而对细胞没有消极影响,它作用于机体能够降低血糖、延缓衰老、保护肝脏、抗肿瘤抗癌等,其安全性高效果好,是一类非常理想的营养素。市面上已经有许多用于强身健体的多糖制剂,有些多糖制作的药物也已应用于临床,效果甚佳。此外,由于多糖的来源广泛,且有着良好的吸附性,保水性和粘结性,一些研究人员尝试使用植物多糖进行环境管理,这也是多糖领域新的研究方向^[5]。

甜菜是温带气候地区用于制糖的主要田间农

作物。现在,世界上有大约30%的糖是以甜菜为原料制取的。甜菜浑身是宝,甜菜的茎叶可作为理想的饲料,甜菜根中还含有丰富的矿物质和维生素,但并没有被大规模的开发利用^[6]。食用红甜菜是栽培甜菜中的变种之一,于生产生活方面都有着巨大的用途,一方面,它可作为原材料生产食品、添加剂、保健品以及天然染色剂等,另一方面,食用红甜菜的颜色鲜红美观,可用来作为观赏植物。目前,红甜菜的主要生产地区是英国、北美洲和中美洲^[7],国内培育的红甜菜品种数目较少,推广力度也不大,利用效率有待提高,而且,目前对红甜菜的大部分研究都是围绕着甜菜红色素来开展的^[8-10]。研究表明,食用红甜菜块根中的多糖含量也很丰富^[11],且具有很强的活性功能和较高的医疗保健价值,但尚需开发^[12-13],因此对红甜菜多糖的提取及纯化方法进行初步研究,以期为进一步利用和开发红甜菜多糖奠定基础。

1 材料和方法

1.1 实验材料

1.1.1 生物材料

一品红红甜菜,由黑龙江省哈尔滨市糖业研究所提供。

1.1.2 试剂

蒸馏水、无水乙醇、丙酮、纤维素酶、柠檬酸、氢

收稿日期:2018-09-20

基金项目:国家自然科学基金(31501360);国家自然科学基金(31371685)。

作者简介:孙小童,女,本科生。主要从事甜菜活性成分提取及功能研究。E-mail:sxt9267@163.com。

通讯作者:代翠红,女,讲师,主要从事分子生物学研究。E-mail:dch@hit.edu.cn;程大友,男,研究员,主要从事甜菜分子生物学研究。E-mail:dycheng@hit.edu.cn。

氧化钠、葡萄糖、苯酚、浓硫酸、考马斯亮蓝 G-250、牛血清白蛋白、磷酸、氯仿、正丁醇、三氯乙酸、活性炭。

1.1.3 仪器

电热鼓风干燥箱:101-2A型,天津市泰斯特仪器有限公司;电子分析天平:ELB300,日本 SHIMADZU 岛津;电热恒温水槽:DK-8D型,上海一恒科技有限公司;低速大容量离心机:TLXJ-II C型,上海安亭科学仪器厂;紫外分光光度计:UV-200型,尤尼柯(上海)仪器有限公司;气浴恒温振荡器:THZ-82型,江苏省金坛市医疗仪器厂。

1.2 实验方法

1.2.1 样品的预处理

将一品红甜菜去叶去茎,保留块根,将块根洗净、去皮,切成细丝,平铺于铁制托盘内,在电热鼓风干燥箱中烘干,直到红甜菜丝呈酥脆易碎状(脱水率:84.15%),粉碎机粉碎,过60目筛,得红甜菜干燥粉末。

1.2.2 红甜菜粗多糖的提取

1.2.2.1 热水浸提法工艺流程

红甜菜干粉→加入蒸馏水使红甜菜干粉质量:蒸馏水体积=1:25→90℃水浴浸提2.5 h→离心(3 000 r/min,10 min)→收集沉淀重复上述步骤→合并两次提取的上清液→60℃水浴浓缩→醇沉→离心(3 000 r/min,10 min)→弃上清,沉淀经无水乙醇,丙酮反复洗涤→干燥→红甜菜粗多糖

1.2.2.2 酶提取法工艺流程

红甜菜干粉→95%乙醇热处理(40℃,1 h)→离心(3 000 r/min,10 min)→取沉淀干燥→加入蒸馏水和纤维素酶(酶用量5 000 U/g)并调节pH值到4.8,使预处理后的红甜菜干粉质量:酶解液体积=1:30,在50℃的温度下酶解1 h→灭酶(90℃,1 h)→离心(3 000 r/min,10 min)→醇沉→离心(3 000 r/min,10 min)→弃上清,沉淀经无水乙醇,丙酮反复洗涤→干燥→红甜菜粗多糖

1.2.3 乙醇沉淀条件的确定

取红甜菜粉末,加入蒸馏水使红甜菜干粉质量:蒸馏水体积=1:25,90℃水浴浸提2.5 h,在3 000 r/min的条件下离心10 min,保留上清液,重新对沉淀物进行提取,合并两次提取的上清液,将其置于60℃的水浴锅中浓缩,可得红甜菜粗多糖浓缩液^[14]。

1.2.3.1 醇沉温度的确定

取4个锥形瓶,分为两组,每组两瓶,每组加入

预先制备的红甜菜粗多糖浓缩液10 mL,再分别加入乙醇至各瓶内乙醇终浓度为80%,密封,第一组置于4℃冰箱,第二组置于25℃室温条件下,醇沉12 h后离心,用无水乙醇和丙酮反复洗涤沉淀物,干燥后测多糖含量。比较不同温度对红甜菜多糖沉淀的影响。

1.2.3.2 醇沉时间的确定

取5个锥形瓶,标号1,2,3,4,5。分别加入预先制备的红甜菜粗多糖浓缩液10 mL,再分别加入乙醇至各瓶内乙醇终浓度为80%,密封,放入4℃冰箱内进行醇沉,5组的醇沉时间分别为12 h、18 h、24 h、30 h、36 h,5组样品经过醇沉后离心,用无水乙醇和丙酮反复洗涤沉淀物,干燥后测多糖含量。比较不同的醇沉时间对红甜菜多糖沉淀的影响。

1.2.3.3 醇沉乙醇终浓度的确定

取5个锥形瓶,标号1,2,3,4,5。分别加入预先制备的红甜菜粗多糖浓缩液10 mL,然后加入乙醇至每瓶中乙醇的最终浓度分别为70%、75%、80%、85%、90%,密封,放入4℃冰箱内进行醇沉,醇沉12 h后离心,用无水乙醇和丙酮反复洗涤沉淀物,干燥后测多糖含量。比较不同的乙醇终浓度对红甜菜多糖沉淀的影响。

1.2.4 多糖含量的测定

(1) 标准曲线的绘制

准确称取10 mg干燥恒重的葡萄糖,100 mL容量瓶中稀释定容,即得100 ug/mL的葡萄糖标准液^[15]。

表1 葡萄糖标准曲线的制作

管号	葡萄糖标准 (mL)	蒸馏水 (mL)	5%苯酚 (mL)	浓硫酸 (mL)
0	0.0	1.0	1.0	5.0
1	0.2	0.8	1.0	5.0
2	0.3	0.7	1.0	5.0
3	0.4	0.6	1.0	5.0
4	0.5	0.5	1.0	5.0
5	0.6	0.4	1.0	5.0
6	0.7	0.3	1.0	5.0

取8只试管,按照表1准确吸取质量浓度100 ug/mL的葡萄糖标准溶液及蒸馏水,然后加入5%苯酚1 mL,充分摇匀后,缓慢的滴入5.0 mL浓硫酸,保持恒温放置20 min。将0号用作空白调零,在490 nm处测定其吸光度。将吸光度作为纵坐标(Y),葡萄糖对照品溶液的浓度(mg/mL)作为横坐

标(X)进行线性回归数据处理,求得回归方程为 $Y = 8.276 2X + 0.004 6$, $R^2 = 0.990 7$ 。结果显示在所设定的质量浓度范围内具有良好的线性关系。

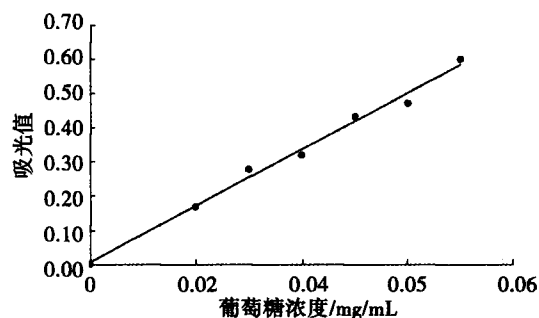


图1 葡萄糖标准曲线

(2) 红甜菜多糖含量测定

将提取得到的红甜菜多糖溶解在适量的蒸馏水中,根据标准曲线中的测量方法测量溶液的吸光度并将其带入回归方程以计算待测溶液的多糖浓度。

多糖提取率计算公式为:

$$\text{多糖提取率}(\%) = [(C \times V \times N) / M] \times 100\%$$

式中: C 为将待测溶液的带入回归方程后计算得到的红甜菜多糖质量浓度, mg/mL; V 为待测液定容体积, mL; N 为稀释倍数; M 为红甜菜干粉质量, mg。

1.2.5 红甜菜粗多糖的脱蛋白

经过提取后的红甜菜粗多糖依旧含有少量蛋白质杂质,利用 Sevage 法和 TCA 法对其进行进一步的纯化,以蛋白质的脱除率和多糖的损失率作为考察指标,比较两种方法的脱蛋白效果^[16]。

1.2.5.1 Sevage 法脱蛋白

取 20 mL 红甜菜粗多糖溶液,按照提取液体积 1/4 的量加入 Sevage 试剂(氯仿:正丁醇=4:1),摇床振荡 20 min,离心(3 500 r/min, 8 min),吸取上层水相,弃去氯仿层和沉淀,再将上清液重复上述步骤除蛋白质,测定每次脱蛋白后蛋白质和多糖的含量,计算每次脱蛋白后的蛋白质脱除率和多糖损失率。

1.2.5.2 TCA 法脱蛋白

取 20 mL 红甜菜粗多糖溶液均分为 5 份,加入三氯乙酸,使 5 份样品的质量分数分别为 2%、4%、6%、8%、10%,置于 4℃ 冰箱中 12 h,离心(3 500 r/min, 8 min),取上清液弃沉淀,测各份样品中蛋白质和多糖的含量,计算每份样品的蛋白质脱除率和多糖损失率。

1.2.5.3 蛋白质含量的测定

以牛血清白蛋白作为标准样品,并通过考马斯亮蓝法测定蛋白质的含量。

(1) 标准曲线的绘制

配制考马斯亮蓝 G-250:称取考马斯亮蓝 G-250 50 mg,将其溶解于 25 mL 50% 的乙醇中,再加入 50 mL 85% 的磷酸,蒸馏水定容到 500 mL 容量瓶中备用。

配制牛血清白蛋白标准溶液:精确称取 10 mg 牛血清白蛋白,将其溶于蒸馏水中,并稀释到 100 mL 容量瓶中,即得 100 ug/mL 的牛血清白蛋白标准溶液^[17]。

表2 牛血清白蛋白标准曲线的制作步骤

管号	牛血清白蛋白标准液 (mL)	蒸馏水 (mL)	考马斯亮蓝 (mL)
0	0.0	1.0	5.0
1	0.2	0.8	5.0
2	0.4	0.6	5.0
3	0.6	0.4	5.0
4	0.8	0.2	5.0
5	1.0	0.0	5.0

取 6 只试管,按照表 2 准确吸取质量浓度为 100 ug/mL 的牛血清白蛋白标准液及蒸馏水,向各管中加入配制好的考马斯亮蓝 G-250 溶液 5.0 mL,充分摇匀后静置 5 min。将 0 号用作空白调零,于 595 nm 处测量吸光度。将吸光度作为纵坐标(Y),蛋白质对照品溶液浓度(mg/mL)作为横坐标(X)进行线性回归数据处理,求得回归方程为 $Y = 8.498 6X + 0.038 6$, $R^2 = 0.974 1$ 。结果显示在所设定的质量浓度范围内具有良好的线性关系。

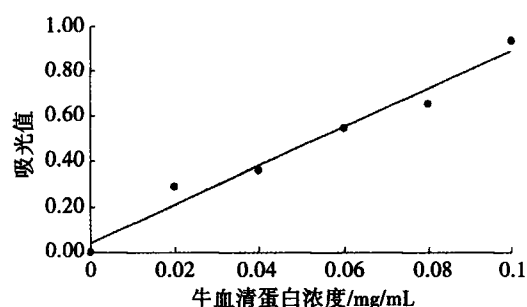


图2 牛血清白蛋白标准曲线

(3) 样品中蛋白质含量的测定

将样品溶解,根据标准曲线中的测量方法测量样品溶液的吸光度,采用回归方程计算待测溶液的蛋白质浓度。

蛋白质脱除率的计算方法:

$$\text{蛋白质脱除率}(\%) = [(C_0 - C_1)/C_0] \times 100\%$$

式中: C_0 为样品脱蛋白前的浓度; C_1 为样品脱蛋白后的浓度。

多糖损失率的计算方法:

$$\text{多糖损失率}(\%) = [(M_0 - M_1)/M_0] \times 100\%$$

式中: M_0 为脱蛋白前溶液中红甜菜多糖的含量; M_1 为脱蛋白后溶液中红甜菜多糖的含量。

2 结果与分析

2.1 不同方法提取红甜菜多糖的结果

利用热水浸提法提取红甜菜粗多糖得率为 2.9%, 而酶法提取红甜菜粗多糖得率可达 4.7%, 但将提取干燥后的红甜菜粗多糖称重, 发现热水浸提法提取的红甜菜粗多糖质量要比酶法提取的红甜菜粗多糖质量更大。这说明酶法提取红甜菜粗多糖纯度更高杂质更少, 其效果优于热水浸提法, 但酶法的成本要高于热水浸提法, 且实际操作比热水浸提法更复杂, 故提取红甜菜多糖可根据实际需求和实验条件选择两种方法。

2.2 不同醇沉条件对红甜菜多糖得率的影响

醇沉在热水浸提法是至关重要的一步, 热水提取后的红甜菜粗多糖溶液中有大量可以溶解在乙醇中的淀粉、鞣质、无机盐、水溶性色素等杂质。多糖不溶于乙醇, 故可让红甜菜多糖在乙醇中沉淀并被分离。

2.2.1 不同醇沉温度对红甜菜多糖得率的影响

温度对红甜菜多糖的沉淀有着一定的影响, 且根据多糖的一般性质来看, 应是温度越低, 沉淀效果越好。本实验根据实验室现有条件, 设置了 2 个沉淀温度, 4℃ 和 25℃。

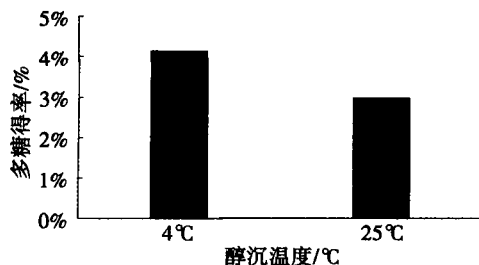


图3 不同醇沉温度对红甜菜多糖得率的影响

由图3可见, 相对于 25℃ 常温而言, 4℃ 醇沉的效果更好, 红甜菜多糖的得率更高。醇沉温度低有利于多糖的沉降。多糖析出的速度在低温时更快, 短时间内析出的多糖能够集合沉降, 也更有利

于多糖的分离。

2.2.2 不同醇沉时间对红甜菜多糖得率的影响

本实验设置了 5 个醇沉时间, 以 12 h 为起点, 6 小时为间隔, 目的是探究最佳醇沉时间, 使红甜菜多糖能够完全沉淀, 且避免时间的浪费。

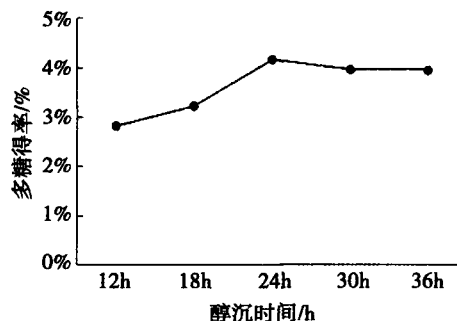


图4 不同醇沉时间对红甜菜多糖得率的影响

由图4可见, 不同醇沉时间对粗多糖得率的影响较小, 当醇沉时间达到 24 h 时, 可使多糖的析出量达到最大化, 醇沉时间超过 24 h 后, 多糖的得率不再随醇沉时间的延长而增长, 可见过长的醇沉时间对多糖提取并没有作用, 故热水浸提法中的最佳醇沉时间为 24 h。

2.2.3 不同乙醇终浓度对红甜菜多糖得率的影响

乙醇沉淀终浓度对多糖的沉淀有着一定的影响, 且根据多糖的一般性质来看, 应该是乙醇沉淀终浓度越高, 沉淀效果越好。较低的乙醇终浓度醇沉效果较差, 故本实验以 70% 的乙醇终浓度为起点进行实验, 设置了 5 个乙醇终浓度。

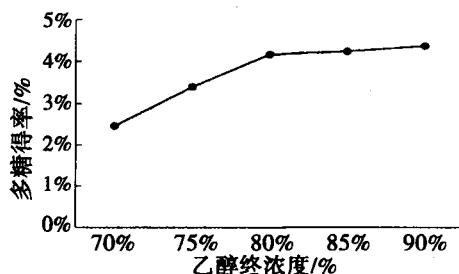


图5 不同乙醇终浓度对红甜菜多糖得率的影响

从图5中可以看出, 多糖的得率随着醇沉淀中乙醇终浓度的增加而增加, 并且在 70% - 80% 的范围内增幅较大。乙醇沉淀终浓度超过 80% 时, 多糖得率的变化非常小, 且高浓度乙醇的配制比较困难, 从经济角度来考虑, 高浓度醇沉也会提高实验的成本, 故可选择 80% 作为最佳的乙醇沉淀终浓度。

2.3 红甜菜多糖脱蛋白结果及分析

2.3.1 Seavage 法中脱蛋白次数对红甜菜多糖的影响

按照 1.2.5.1 的方法共进行了 6 次脱蛋白实

验,结果如图6所示。

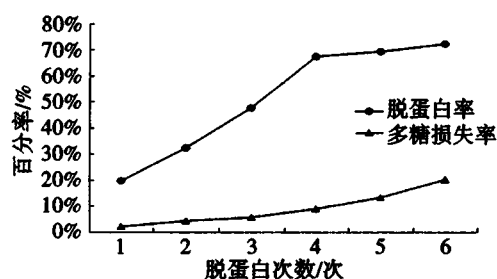


图6 Sewage法不同脱蛋白次数对红甜菜多糖的影响

从图6可以看出,蛋白质的去除率随脱蛋白的次数而增加,且1-4次时脱蛋白率随次数增长比较明显4次后脱蛋白的速率不再显著增加,可能是因为红甜菜粗多糖中的大部分蛋白质已被除去。每一次脱蛋白都会使样品中的红甜菜多糖损失,脱蛋白次数越多,红甜菜多糖损失的也越多。综合蛋白质的脱除率和红甜菜多糖的损失率,Sewage法脱蛋白的最佳次数应为4次,这一条件下,脱蛋白的效果较好,脱蛋白率可达67.4%,多糖损失率为8.84%。

2.3.2 TCA法中TCA用量对红甜菜多糖的影响

按照1.2.5.2的方法得到的不同浓度TCA脱蛋白效果如图7所示。

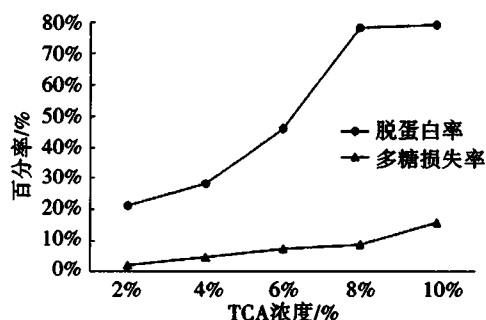


图7 TCA法中TCA用量对红甜菜多糖的影响

由图可知,脱蛋白率和红甜菜多糖损失率均随着TCA浓度的增加而增加。当TCA浓度为2%-8%时,脱蛋白率随TCA浓度增长较明显。当TCA的浓度为8%时,脱蛋白率为78%,而红甜菜多糖损失率只有8.55%;TCA的浓度为10%时,脱蛋白率可达到78.9%,这时,脱蛋白率不再明显增加且红甜菜多糖损失率大大提高,比TCA浓度8%时增加了7.09%,故综合考虑TCA脱蛋白法中TCA浓度在8%较为合适。

3 结论

热水浸提法与酶法相比,酶法的多糖得率更

高,但其成本也更高,在热水浸提法中可通过适当增加提取次数提高多糖得率。热水浸提法操作简单,成本低,适合实际生产中大量提取红甜菜多糖。

乙醇沉淀法是多糖提取分离中一个非常重要的步骤,本实验确定了红甜菜多糖提取最佳醇沉工艺为:醇沉温度为4℃,乙醇沉淀的最终浓度为80%,醇沉时间为24h,这种条件下,红甜菜多糖得率可达到4.15%,当醇沉时间超过12h后,醇沉时间对红甜菜多糖得率的影响甚微,可根据实际情况适当缩减。

Sewage法脱蛋白实验中最优脱蛋白次数为4次,TCA法脱蛋白实验中TCA的最佳浓度为8%。两种脱蛋白方法相比,TCA方法操作简便,脱蛋白效果好,更适合作为纯化红甜菜多糖的脱蛋白方法。

4 展望

目前,与红甜菜多糖的生物活性相关的研究较少,进一步探索红甜菜多糖的生物活性和营养价值有利于提高红甜菜的利用价值。

红甜菜作为一种营养价值和医疗价值很高的植物,目前的应用还是不够广泛。一些人将红甜菜制成面包馒头等主食,这种食用方式既保证了每餐能够摄入足量的碳水化合物,还能同时摄入一定的矿物质和维生素,大大发挥了红甜菜的食用价值。在提取实验的预处理过程中,红甜菜干粉散发出的味道清新香甜,颜色也鲜红美观,适合加工为冲剂制成红甜菜饮品,或是制成片剂作为速食干嚼片等,其商业价值不容小觑。

参考文献:

- [1] 金迪,梁英,孙工兵,钱丽丽. 植物多糖提取技术的研究进展[J]. 黑龙江八一农垦大学学报,2011,23(05):76-79.
- [2] 邱博韬,张鸿宇,许志茹,刘长莉,王宏伟. 多糖分析方法研究进展[J]. 食品工业科技,2018,39(06):327-333.
- [3] 房红梅,田丽,徐月清. 多糖药理作用的研究进展[J]. 河北职工医学院学报,2001(02):63-65.
- [4] Franz G Polysaccharides in Pharmacy: Current Applications and Future concepts [J]. Plant Medica,1989,55:493-497.
- [5] 谭美亭. 植物多糖提取技术的研究与展望[J]. 城市建设理论研究(电子版),2014(36).
- [6] 吴则东,张文彬,吴玉梅. 红甜菜的特殊功效及应用[J]. 中国糖料,2015,37(02):68-70.
- [7] Sebasfien Levigne, Marie—Christine Ralet, Jean—Francois Thibault. Characterisation of pectins extracted from flesh sugar beet under

- different conditions using an experimental design [J]. Carbohydrate Polymers, 2002, 49: 145 - 153.
- [8] Gengatharan, A., Dykes, G. A., & Choo, W. S. Betalains: natural plant pigments with potential application in functional foods [J]. LWT - Food Science and Technology, 2015, 64 (2): 645 - 649.
- [9] 刘万里. 响应面优化超声辅助提取甜菜红色素及稳定性研究 [J]. 中国食品添加剂, 2016(10): 90 - 96.
- [10] 任文明, 李满红, 银赛, 王智永, 杨帆. 超声波辅助甜菜红色素提取工艺优化 [J]. 内蒙古农业大学学报(自然科学版), 2017, 38(03): 49 - 57.
- [11] 程大友, 刘巧红, 史淑芝, 鲁兆新, 高兴武, 江丽萍. 食用红甜菜的生物学特征特性 [J]. 中国甜菜糖业, 2006(02): 28 - 30.
- [12] 孟宪元, 邢连宗. 茜草多糖的提取与分析 [J]. 北京中医, 2005, 24(1): 35 - 36.
- [13] 崔亦华, 崔英德, 易国斌. 应用广泛的天然多糖及其提取方法 [J]. 广州化工, 2002, 30(3): 7 - 9.
- [14] 陈光, 刘洁心, 徐杨, 王香琪. 甜菜多糖提取条件研究 [J]. 食品工业, 2011, 32(04): 76 - 78.
- [15] 王晶, 王春国, 李冰, 于海川, 王秀丽, 柯秀慧, 廖艳. 苯酚 - 硫酸法测定慈姑中多糖的含量 [J]. 吉林中医药, 2017, 37(12): 1258 - 1260.
- [16] 王新嘉, 雷国风, 翟志军, 吴晓玉. 平菇多糖中蛋白质脱除方法的比较 [J]. 食品研究与开发, 2017, 38(05): 111 - 118.
- [17] 曲春香, 沈颂东, 王雪峰, 崔永华, 宋卫平. 用考马斯亮蓝测定植物粗提液中可溶性蛋白质含量方法的研究 [J]. 苏州大学学报(自然科学版), 2006(02): 82 - 85.

Extraction and Purification of Polysaccharide from Edible Red Beets

SUN Xiao - tong², DAI Cui - hong^{1*}, CUI Jie¹, LUO Cheng - fei¹,

LI Xin - ling¹, ZHANG Yan - ming¹, CHENG Da - you^{1*}

(1. School of Chemistry and Chemical Engineering, Harbin Institute of Technology, Heilongjiang, 150086;

2. School of Life Science and Technology, Harbin normal university, Harbin Heilongjiang 150020)

Abstract: In this experiment, red beet polysaccharides were extracted by hot water extraction and enzymatic hydrolysis extraction, respectively. Comparing the two methods, the results showed that the enzymatic hydrolysis extraction is better. However, the hot water extraction is less expensive and the operating steps is easier. According to the experimental conditions, anyone of the methods can be chosen to extract the polysaccharides from red beet. In addition, we determined the optimum conditions of separation and precipitation of the polysaccharides: adding the ethanol until the final concentration of ethanol is 80%, then place the red beet crude extract in a refrigerator at 4℃ for 24 hours. Sevage method and TCA method were used to purify polysaccharides. The result showed that deproteinization by using Sevage method for 4 times was the best. If TCA method was used, when the concentration of TCA is 8%, the result is best. Comprehensive consideration of deproteinization effect and polysaccharide loss rate, the TCA method is better, its protein deproteinization rate is 78% and polysaccharide loss rate is only 8.55%.

Key words: Red beets; Polysaccharide; Extraction and Separation; Purification