

Nghiên cứu sử dụng enzyme phytaza từ *Bacillus subtilis* để chuyển hóa phytate trong sữa ngũ cốc thành dạng phốt phát và kim loại dễ hấp thu

Mai Thị Ngọc, Nguyễn Thị Thu Huyền, Trần Thị Thúy*

Khoa Sinh học, Trường Đại học Sư phạm Hà Nội, 136 Xuân Thủy, Cầu Giấy, Hà Nội, Việt Nam

Nhận ngày 16 tháng 8 năm 2017

Chỉnh sửa ngày 20 tháng 9 năm 2017; Chấp nhận đăng ngày 10 tháng 10 năm 2017

Tóm tắt: Phytate là dạng dự trữ phốt pho chủ yếu của nhiều loại ngũ cốc, đồng thời cũng là một chất kháng dinh dưỡng trong thực phẩm và thức ăn chăn nuôi. Đặc tính kháng dinh dưỡng này thể hiện thông qua khả năng liên kết tạo phức của phytate với nhiều ion kim loại (Fe^{3+} , Zn^{2+} , Cu^{2+} , Mn^{2+} , Ca^{2+} , Mg^{2+}) trong điều kiện trung tính và kiềm, cũng như với các protein và tinh bột trong điều kiện axit. Trong báo cáo này enzyme phytaza kiềm BacP có nguồn gốc từ *Bacillus subtilis* được sử dụng để loại bỏ phytate trong sữa ngũ cốc (công thức: 60g đậu nành + 40g kê + 20g yến mạch/lít sữa). Bổ sung BacP với liều lượng 40 IU/l ở 65°C trong 30 phút đối với sữa thanh trùng và 60 phút đối với sữa khử trùng đã xúc tác giải phóng 20 - 30% lượng phốt phát vô cơ từ phytate vốn có trong sữa ngũ cốc. Xử lý phytate bằng enzyme phytaza BacP không chỉ làm tăng góc phốt phát trong dịch sữa mà còn cải thiện hàm lượng các khoáng chất thiết yếu (Ca, Fe, Zn) hòa tan trong sữa ngũ cốc. Kết quả nghiên cứu cho thấy enzyme phytaza BacP có tiềm năng ứng dụng cao trong việc loại bỏ tính kháng dinh dưỡng của phytate trong sữa ngũ cốc, chuyển hóa phytate thành dạng phốt phát và các khoáng chất dễ hấp thu.

Từ khóa: Phytate, enzyme phytaza BacP, sữa ngũ cốc.

1. Đặt vấn đề

Ngũ cốc là nguồn cung cấp năng lượng chính yếu trong mỗi bữa ăn của chúng ta. Chúng bao gồm: lúa gạo, lúa mì, ngô, kê, lúa mạch, cao lương và các loại đậu. Ngũ cốc chứa một lượng lớn chất xơ, hàm lượng chất béo thấp (2 – 5%), hàm lượng carbohydrate cao (65 – 75%), giàu vitamin nhóm B và chứa đầy đủ các

khoáng vi lượng quan trọng (Fe, Zn, Mg, Ca,...) với hàm lượng tương đối cao.

Axit phytic (*myo*-inositol 1,2,3,4,5,6 hexakis dihydrogen phosphate) là dạng dự trữ phốt pho chính và chiếm 75 – 85 % tổng số phốt pho dự trữ trong các loại hạt ngũ cốc và các loại đậu [1]. Dạng muối của axit phytic liên kết chặt chẽ với các nguyên tố khoáng như: Ca, Mg, Fe và Zn,... hoặc các axit amin, các protein gọi là phytate hay phytin [2]. Khả năng hình thành liên kết mạnh mẽ của axit phytic với các yếu tố dinh dưỡng là nguyên nhân gây ức chế quá trình tiêu hóa, làm giảm khả năng hấp thụ các chất khoáng và protein của cơ thể người và

*Tác giả liên hệ. ĐT.: 84-903286585.

Email: thuy_tt@hnue.edu.vn

<https://doi.org/10.25073/2588-1140/vnunst.4611>

động vật [3]. Loại bỏ axit phytic trong ngũ cốc và đặc biệt trong sữa ngũ cốc là việc làm cần thiết nhằm nâng cao giá trị dinh dưỡng của loại sản phẩm này.

Phytaza (*myo*-inositol hexakisphosphate phosphohydrolase) là enzyme xúc tác phản ứng thủy phân *myo*-inositol hexakisphosphate (axit phytic) thành những gốc phosphate vô cơ và các dẫn xuất đơn giản hơn của *myo*-inositol phosphate [4]. Hiện nay, enzyme này được sử dụng chủ yếu trong thức ăn chăn nuôi, có rất ít các công trình nghiên cứu về ứng dụng của phytaza vào thực phẩm [5], do vậy, chúng tôi tiến hành nghiên cứu đề tài: “Nghiên cứu sử dụng enzyme phytaza từ *Bacillus subtilis* để chuyển hóa phytate trong sữa ngũ cốc thành dạng phot phát và kim loại dễ hấp thu”.

2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Vật liệu

Enzyme phytaza BacP (250 IU/ml) từ *Bacillus subtilis* MD2 do Bộ môn CNSH - Vi sinh, Khoa Sinh học, Trường ĐH Sư phạm Hà Nội cung cấp [1].

Các hóa chất, dung môi, dung dịch chuẩn: Natri-phytate (Sigma, P3168), ammonium molybdate (Merck), trichloroacetic acid (TCA – Trung Quốc); dung dịch chuẩn 1000 ppm Fe^{3+} , Zn^{2+} và Ca^{2+} (Scharlau, Tây Ban Nha) và các hóa chất phân tích thông dụng khác: $FeSO_4 \cdot 7H_2O$, NaOH, HCl, H_2SO_4 , C_2H_5OH , NaH_2PO_4 , NH_4OH ,... đều tinh sạch ở mức phân tích.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Xác định hàm lượng phytate trong các loại hạt ngũ cốc và sữa ngũ cốc [6]

Dựa trên đặc tính kết tủa mạnh với ion Fe^{3+} của phytate, chúng tôi dùng một lượng dư Fe^{3+} để kết tủa toàn bộ phytate trong các mẫu sữa. Từ hàm lượng sắt có trong kết tủa với phytate (đã được rửa sạch Fe^{3+} dư) để tính hàm lượng của phytate trong sữa theo công thức: m_{phytate} trong sữa = $2,98 \times m_{Fe}$ trong kết tủa với phytate.

2.2.2. Quy trình sản xuất sữa ngũ cốc.

Cân 60g đậu nành, 40g hạt kê, 20g yến mạch, đem ngâm trong nước ấm khoảng $50^\circ C$ trong 2 – 3 giờ. Các loại hạt được vớt ra, rửa sạch, sau đó được nghiền bằng máy nghiền đồng thể và bổ sung nước khử ion để thu được 1 lít dịch đồng thể. Dịch này được lọc qua vải bông để thu sữa ngũ cốc thô. Đun thanh trùng sữa ngũ cốc thô ở $95^\circ C$ trong 5 phút để thu sữa ngũ cốc thành phẩm. Sữa ngũ cốc này được bảo quản ở $4^\circ C$ để sử dụng cho các thí nghiệm.

2.2.3. Xác định hàm lượng và thời gian xử lý phytate trong sữa ngũ cốc bằng enzyme BacP trong quy trình sản xuất sữa thanh trùng hoặc khử trùng

Các bình tam giác sữa ngũ cốc được bổ sung enzyme BacP ở các nồng độ khác nhau: 15, 20, 25, 30, 40, 50 IU/l. Ở các bình thí nghiệm ở các nhiệt độ $50^\circ C$ và $65^\circ C$ và lấy mẫu liên tục trong một giờ với khoảng cách giữa hai lần lấy mẫu kế tiếp là 10 phút. Bổ sung 15% TCA vào mẫu theo tỉ lệ thể tích là 1:1 để dừng phản ứng, li tâm 10000 vòng/phút trong 10 phút và thu dịch nổi. Tiến hành phản ứng màu với Molibdate ammon để xác định lượng phot phát cô cơ (P_{vc}) giải phóng trong dịch nổi.

2.2.4. Xác định hàm lượng kim loại tự do được giải phóng trong quá trình xử lý sữa bằng phương pháp đo phổ hấp thụ nguyên tử.

Để xác định hàm lượng kim loại Fe^{3+} , Ca^{2+} bằng phương pháp đo phổ hấp thụ nguyên tử thì các mẫu sữa không và có xử lý enzyme sẽ được xử lý bằng dung dịch 2% HNO_3 ; còn để xác định hàm lượng Zn^{2+} , các mẫu sữa được xử lý bằng dung dịch 1% HCl theo tỷ lệ thể tích 1:1. Li tâm 10.000 vòng/phút trong 10 phút để thu dịch nổi. Dịch nổi được lọc qua màng lọc kích thước lỗ $0,45 \mu m$ trước khi xác định hàm lượng các kim loại có trong dung dịch bằng máy đo quang phổ hấp thụ nguyên tử (AAS) ở bước sóng tương ứng với từng kim loại. Dung dịch mẫu được trộn với hỗn hợp khí C_2H_2 và không khí, sau đó được phun sương tạo thành đám hơi nguyên tử trong buồng phản ứng. Dựa vào mối quan hệ giữa cường độ của vạch hấp thụ và nồng độ của từng nguyên tố trong đám hơi để

xác định nồng độ của nguyên tố cần phân tích [7] dựa trên đồ thị chuẩn tương ứng.

3. Kết quả nghiên cứu và thảo luận

3.1. Xây dựng công thức và xác định hàm lượng phytate trong sữa ngũ cốc

Sự kết hợp các loại ngũ cốc khác nhau làm cho thành phần dinh dưỡng của sữa ngũ cốc phong phú và đa dạng hơn do các loại ngũ cốc đã bổ sung cho nhau đảm bảo cung cấp đầy đủ các chất dinh dưỡng cho cơ thể con người. Đậu nành là loại ngũ cốc giàu đạm và canxi, được sử dụng phổ biến để chế biến sữa đậu nành; thêm vào đó, đậu nành còn chứa axit béo omega-3, lecithin và isoflavone, loại phytohoocmon giúp cân bằng hàm lượng estrogen trong cơ thể, hỗ trợ điều trị bệnh tim mạch và thoái hóa khớp [8]. Yến mạch tuy có hàm lượng protein thấp nhưng rất giàu chất xơ hòa tan, đặc biệt có chứa β - glucan, avenanthramides, các hợp chất phenolics, gluten và lignin là những hợp chất được chứng minh là có giá trị trong điều trị bệnh tim mạch, ung thư vú, giảm cholesterol và tăng cường miễn dịch tự nhiên [9]. Hạt kê là loại ngũ cốc cung cấp đầy đủ các vitamin cần thiết cho cơ thể con người, nhiều nhất là vitamin PP, B2, B5, B6, K, E... Kê còn chứa lecithine và choline tự do, giúp bồi bổ não cho những người làm việc trí óc nhiều, tăng cường trí nhớ và làm giảm quá trình lão hóa [10]. Dựa trên giá trị dinh dưỡng của từng loại ngũ cốc [1], chúng tôi đã lựa chọn đậu nành, hạt kê và yến mạch làm nguyên liệu để sản xuất sữa ngũ cốc với tỉ lệ phối trộn đậu nành: kê: yến mạch theo khối lượng là: 60:40:20 g/l; nhằm đảm bảo cho hàm lượng protein trong sữa ngũ cốc không dưới 15%.

Hàm lượng phytate của từng loại ngũ cốc và của sữa ngũ cốc được xác định trong bảng 1.

Theo bảng 1 thì hàm lượng phytate trong đậu nành là 1,535 g/l, yến mạch là 0,999 g/l. Các kết quả này phù hợp với những nghiên cứu trước đó của Hídvegi và cs năm 2002 [12]. Theo đó, hàm lượng phytate trong đậu nành từ

1,2 – 1,75 g/100g và trong yến mạch khoảng 0,90 – 1,42 g/100g [12]. Chúng tôi đã xác định được hàm lượng phytate có trong hạt kê là 0,906 g/l tương ứng với 0,906 g/100g. Chưa có nghiên cứu nào về hàm lượng phytate trong hạt kê được báo cáo.

Bảng 1. Hàm lượng phytate trong một số loại ngũ cốc và sữa ngũ cốc

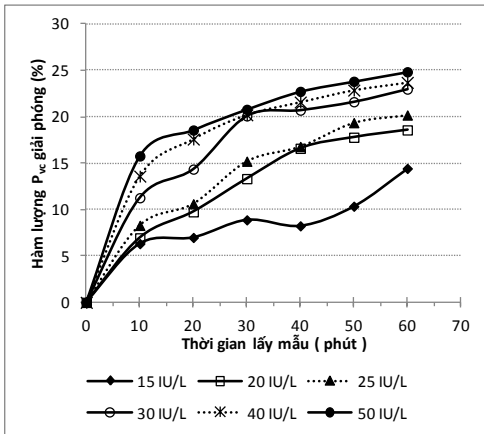
Loại ngũ cốc	Fe-phytate ($\mu\text{g/ml}$)	Phytate (g/100g)
Đậu nành	1030,241	1,5350
Kê	608,333	0,9064
Yến mạch	671,048	0,9998
Sữa ngũ cốc	937,049	1,3962

Hàm lượng phytate có trong sữa ngũ cốc là 1,3962 mg/ml. Theo kết quả này thì khi uống 1 lít sữa ngũ cốc, cơ thể sẽ phải hấp thu khoảng 1,4 g phytate, một lượng không nhỏ chất kháng dinh dưỡng. Do đó, việc làm giảm hàm lượng muối phytate trong quá trình chế biến sữa ngũ cốc là rất cần thiết.

3.2. Lựa chọn nồng độ enzyme BacP và thời gian để xử lý phytate trong sữa ngũ cốc thô trong quy trình sản xuất sữa thanh trùng và khử trùng

Phytate trong sữa ngũ cốc thô cũng có thể được xử lý trước khi thanh trùng/khử trùng sữa hoặc ngay trong quá trình thanh trùng sữa để tận dụng nhiệt độ của giai đoạn thanh trùng. Ở thí nghiệm này, chúng tôi tiến hành thử nghiệm xử lý phytate trong sữa ngũ cốc thô với các nồng độ enzyme BacP khác nhau, ở nhiệt độ 65°C và theo dõi hàm lượng P_{vc} giải phóng trong 60 phút.

Kết quả thí nghiệm ở 65°C (Hình 1) cho thấy: có thể lựa chọn được các nồng độ enzyme phytaza BacP từ 25 - 50 IU/l để bổ sung vào sữa ngũ cốc nhằm thủy phân phytate và giải phóng từ 20 đến 30% lượng P_{vc} vốn có trong phytate của sữa ngũ cốc. Để giải phóng được ~ 30% lượng phốt phat trong phytate của sữa ngũ cốc, tức là các dẫn xuất có ích của IP_6 như IP_2 , IP_3 và IP_4 tạo ra nhiều nhất, thì nên sử dụng nồng độ 30 - 40 IU/l.



Hình 1. Động thái giải phóng P_{vc} trong sữa ngũ cốc được xử lý với phytaza BacP ở nhiệt độ 65°C.

Khi xem xét về mức chi phí cho việc gia nhiệt và hàm lượng enzyme BacP cần bổ sung, chúng tôi đã lựa chọn hàm lượng enzyme BacP bổ sung là 40 IU/l ở nhiệt độ 65°C trong 30 phút đối với sữa thanh trùng và 60 phút đối với sữa khử trùng để đảm bảo lượng P_{vc} giải phóng nằm trong khoảng 20 – 30%, và tiết kiệm chi phí nhất.

3.3. Nghiên cứu khả năng giải phóng các kim loại tự do trong sữa ngũ cốc được xử lý bằng enzyme BacP

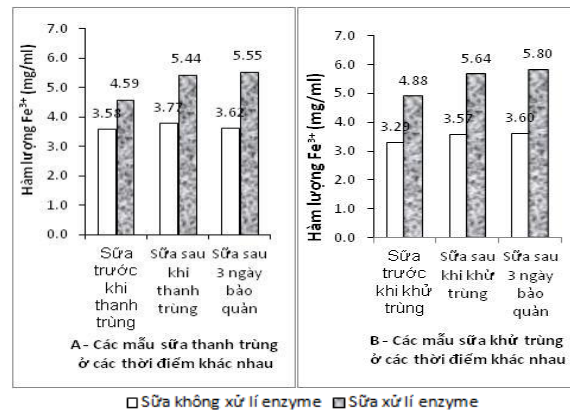
Axit phytic có khả năng tạo phức chặt chẽ với các ion kim loại và với các hợp chất khác như axit amin, protein, tạo nên các muối (phytate, phytin) gây ức chế các enzyme tiêu hóa, ngăn cản sự hấp thu các chất của các cơ thể sống [11]. Vì thế axit phytic được coi là một yếu tố kháng dinh dưỡng trong thức ăn và thực phẩm, làm giảm sự hấp thu sắt, kẽm, canxi,... của cơ thể [14]. Chúng tôi đã tiến hành nghiên cứu khả năng giải phóng các kim loại từ dạng liên kết với phytate sang dạng cation tự do trong sữa ngũ cốc sau khi được xử lý bằng enzyme BacP.

3.3.1. Sự giải phóng ion kim loại sắt trong sữa ngũ cốc

Kết quả trình bày trong hình 2 cho thấy, so với mẫu sữa thô không được xử lý enzyme thì các mẫu sữa được xử lý bằng enzyme BacP sau

khi thanh trùng/khử trùng có hàm lượng Fe³⁺ tăng từ 3,58 lên 4,59 mg/l đối với mẫu thanh trùng; từ 3,29 lên 4,88 mg/l đối với mẫu khử trùng. Điều này có nghĩa là lượng Fe³⁺ tự do trong dịch sữa tăng tỷ lệ nghịch với hàm lượng phytate dưới tác dụng của enzyme BacP.

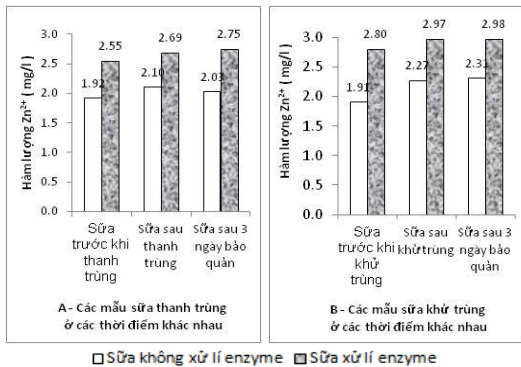
Trong quá trình thanh/khử trùng hàm lượng Fe³⁺ trong các mẫu sữa cũng tăng lên một lượng nhỏ, chứng tỏ nhiệt độ trong quá trình thanh/khử trùng đã làm phytate phân giải một phần. Sau 3 ngày ở điều kiện bảo quản thì hàm lượng Fe³⁺ trong các mẫu sữa để ở điều kiện bảo quản không đổi.



Hình 2. Hàm lượng Fe³⁺ giải phóng trong quá trình xử lý sữa bằng enzyme BacP

3.3.2. Sự giải phóng ion kim loại kẽm trong sữa ngũ cốc

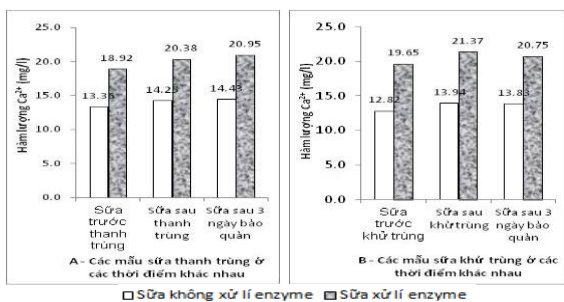
Theo kết quả trên hình 3 thì hàm lượng Zn²⁺ trong dịch sữa ngũ cốc không xử lý bằng enzyme trước khi thanh trùng/khử trùng khoảng 1,91 – 1,92 mg/l còn dịch sữa được xử lý bằng enzyme trước khi thanh/khử trùng có hàm lượng Zn²⁺ khoảng 2,55-2,80 mg/l. Sau quá trình thanh/khử trùng, dưới tác dụng cơ học của nhiệt độ làm cho hàm lượng Zn²⁺ tăng thêm một lượng nhỏ nữa. Ở điều kiện bảo quản, hoạt tính enzyme không còn nên hàm lượng Zn²⁺ không tăng lên so với mẫu sữa sau khi thanh/khử trùng. Như vậy, enzyme BacP giảm hàm lượng phytate trong dịch sữa ngũ cốc, làm tăng sự giải phóng Zn²⁺ trong dịch sữa, qua đó tăng hàm lượng kẽm dễ tiêu đến ruột non cho cơ thể hấp thụ [15].



Hình 3. Hàm lượng Zn²⁺ giải phóng trong quá trình xử lý sữa bằng enzyme BacP.

3.3.3. Sự giải phóng ion kim loại canxi trong sữa ngũ cốc.

Hàm lượng Ca²⁺ trong sữa ngũ cốc thô không được xử lý bằng enzyme phytaza trước khi thanh/khử trùng là 13,36 và 12,82 mg/l và sau khi xử lý sữa bằng enzyme BacP đối với sữa thanh trùng là 18,92 mg/l và đối với sữa khử trùng là 19,65 mg/l (Hình 4). Sự tăng lượng Ca²⁺ tự do trong dịch sữa cho thấy enzyme BacP đã phân giải đặc hiệu cơ chất phytate trong sữa ngũ cốc giải phóng đồng thời P_{vc} và Ca²⁺ trong sữa.



Hình 4. Hàm lượng Ca²⁺ trong sữa ngũ cốc được xử lý bằng enzyme BacP.

Ngay sau khi thanh/khử trùng các mẫu sữa không xử lý và xử lý enzyme, hàm lượng Ca²⁺ có tăng lên chút ít do nhiệt độ cao trong quá trình thanh/khử trùng đã làm phytate trong sữa ngũ cốc bị phân giải một phần. Ngoài ra, nhiệt độ của quá trình thanh trùng (70°C) nằm trong ngưỡng nhiệt độ hoạt động của phytaza BacP

nên sau khi thanh trùng và trong thời gian bảo quản, lượng Ca²⁺ cũng tăng lên khoảng 10%.

Các sản phẩm sữa được xử lý bằng enzyme phytaza BacP cho hàm lượng các ion tự do như sắt, kẽm và canxi cao sẽ là cơ sở để tăng khả năng hấp thụ khoáng của cơ thể, góp phần ngăn ngừa một số bệnh lý về xương, răng và máu cho những người sử dụng các sản phẩm sữa này; đồng thời giảm chi phí cho việc bổ sung khoáng vào sữa ngũ cốc.

4. Kết luận và kiến nghị

4.1. Kết luận

1. Xây dựng được công thức sữa ngũ cốc: 60g đậu nành, 40g hạt kê, 20g yến mạch.
2. Hàm lượng BacP cần bổ sung trong quy trình sản xuất sữa ngũ cốc là 40 IU/l ở 65°C trong 30 phút đối với sữa thanh trùng và 60 phút đối với sữa khử trùng.
3. Đánh giá được ảnh hưởng tích cực của sự giảm hàm lượng phytate trong sữa ngũ cốc bởi enzyme BacP tới sự giải phóng các kim loại như Fe³⁺, Zn²⁺, Ca²⁺ trong sữa.

4.2. Kiến nghị

Công thức sữa ngũ cốc cũng như quy trình sản xuất và xử lý phytate sữa ngũ cốc cần được tiếp tục nghiên cứu để đạt điều kiện dinh dưỡng tối ưu nhất cho sản phẩm này.

Lời cảm ơn

Nhóm tác giả xin bày tỏ lời cảm ơn tới Đề án phát triển và ứng dụng công nghệ sinh học trong lĩnh vực công nghiệp chế biến đến năm 2020 của Bộ Công Thương, đề tài mã số ĐT.03.15/CNSHCB đã tài trợ kinh phí cho các nghiên cứu trong bài báo này.

Tài liệu tham khảo

- [1] Tran T.T., Mamo G., Mattiasson B., and Hatti-Kaul R., A thermostable phytase from *Bacillus* sp.

- MD2: cloning, expression and high-level production in *Escherichia coli*, J Ind Microbiol Biotechnol 37 (2010) 279.
- [2] Davies N.T., Effects of phytic acid on mineral availability. In Dietary Fiber in Health and Disease, Vahoung G.V. and Kritchevsky D., Eds, Plenum Press, New York, 2013.
- [3] Harland B.F., Morris E.R., Phytate: A good or a bad food component? Nutr Res 15-5 (1995) 733.
- [4] Billington D.C., The inositol phosphates: Chemical synthesis and biological significance, Verlagsgesellschaft mbH, Weinheim, Germany, 1993.
- [5] Anno T., Nakanishi K., Matsuno R., Kamikubo T., Enzymatic elimination of phytate in soybean milk, J Japan Soc Food Sci Technol 32 (1985) 174.
- [6] TCVN 2618- 1993: Amoniac lỏng tổng hợp - Phương pháp xác định hàm lượng sắt. tr. 67, 1993.
- [7] Phạm Luận, Phương pháp phân tích phổ nguyên tử, Nxb Đại học Quốc gia Hà Nội, 2009.
- [8] Hany A.E.S., Soybean - bio-active compounds, Intech, 2013.
- [9] Braaten T., Wood P.J., Scott F.W., Wolynetz M.S., Lowe M.K., Bradley-White P and Collins M.W., Oat beta-glucan reduces blood cholesterol concentration in hypercholesterolemic subjects, Eur J Clin Nutri 48-7 (1994) 465.
- [10] Zeisel S.H., Choline: needed for normal development of memory, J Am Coll Nutr 19 (2000) 528S.
- [11] Hà Thị Anh Đào, Nguyễn Công Khẩn, Thành phần thực phẩm Việt Nam, NXB Đại học Y, 2007.
- [12] Hídvégi M., andLásztity R., Phytic acid content of cereals and legumes interaction with proteins, Periodica Polytechnica Ser Chem Eng 46 (2002) 59.
- [13] Trương Thị Liên, Nghiên cứu sử dụng phytase vi sinh để nâng cao giá trị dinh dưỡng của sữa đậu nành, Luận văn thạc sĩ sinh học, Đại học sư phạm Hà Nội, Hà Nội, 2012.
- [14] Vohra P., Gray G.A., Kratzer F.H., Phytic acid-metal complexes, Proc Soci Exp Biol Med 120 (1965) 447.
- [15] Marine L., Rossander-Hulthen L., Sandstromand B., and Sandberg A.S., Improved zinc and iron absorption from breakfast meals containing malted oats with reduced phytate content, British Journal of Nutrition76 (1996) 677.

Transforming Phytate in Cereals Milk into Digestible Phosphates and Metal Ions by Phytase from *Bacillus subtilis*

Mai Thi Ngọc, Nguyen Thị Thu Huyen, Tran Thi Thuy

Faculty of Biology, Hanoi National University of Education, 136 Xuan Thuy, Hanoi, Vietnam

Abstract: Phytate phosphorus reserves are the main phosphate storage in variety of cereals. Phytate is also considered as an anti nutrient in food and feeds. This anti-nutrient effect is expressed through the ability of phytate to bind many metal ions (Fe^{3+} , Zn^{2+} , Cu^{2+} , Mn^{2+} , Ca^{2+} , Mg^{2+}) in neutral and alkaline conditions, as well as with the protein and starch in acidic conditions. In this study, alkaline phytase enzyme (BacP) originated from *Bacillus subtilis* was used to remove the anti-nutrient effect of phytate in cereal milk. Using 40 IU/l BacP at 65°C to treat pasteurized and sterilized cereals milk from 30 to 60 minutes induced the liberation of 20-30% inorganic phosphate from available phytate in cereals. Cereal milk was treated by enzyme BacP increases the level of digestible not only phosphate but also mineral ions (Ca, Fe, Zn). The results showed that the phytase BacP has a potential to apply in removing anti-nutrient effect of phytate in cereal milk, transforming it into digestible phosphate and metal ions.

Keywords: Phytate, phytase enzyme BacP, cereal milk.