Korean J. Environ. Agric.
Vol. 15. No. 3. September 1996

무의 재배기간중 질산태질소의 함량변화에 따른 질산환원효소의 활성

조성민* · 한강완* · 조재영*

Nitrate Reductase Activity by Change of Nitrate Form Nitrogen Content on Growth Stage of Radish

Sung-Min Cho*, Kang-Wan Han* and Jae-Young Cho

Abstract

This experiment was conducted to investigate the influence of nitrogen fertilizer forms, fertilizer and herbicide application rates on growth of radish. The nitrate content and nitrate reductase activity of radish were analyzed along with the growing stage.

Nitrate nitrogen was more efficient than ammonium nitrogen for radish. With increasing the fertilizer application rate, accumulated of nitrate content was increased. The amount of nitrate nitrogen was highest at 25days after seeding in petioles, and 32~39days after seeding in root. Nitrate content was decreased as sampling date was delayed, whereas the content increased in the root at early growing stage and then decreased. The nitrate cotent increased in the order of petioles, roots, and leaf blades and nitrate reductase activity increased petioles, leaf blades, and roots. The higher nitrogen fertilizer and herbicide application increased nitrate nitrogen accumulation in radish as compaired with control treatment and nitrate reductase activity showed similar trend.

*전북대학교 농화학과(Department of Agricultural Chemistry, Chonbuk National University, Chonju 561-756. Korea).

서 론

식품중의 질산염은 체내에 흡수되어 아질산염으로 전환된 다음 위의 산도가 약한 신생아나 유아의 경우에 혈중 hemoglobin과 결합하여 methemoglobinemia을 일으킨다.[1,2,3,4] 가축이 질산염 함량이 높은 식물을 일시에 다량 섭취할 경우 methemoglbinemia를 일으키기도 하며 인축 모두 methemoglobin형성으로 인한 산소 운반능력 감소로 질식하게 된다. 또한 아질산염과 이급 amine류가 결합하여 발암성물질인 nitrosamines을 형성하기도 한다.

대부분의 질산염에 의한 발병이나 패사에 대한 원인은 음료수와 채소중의 질산염에 기인한 것으로 보고되고 있다.[3,4] 일반적으로 식물체내 질산염의 함량은 재배환경, 즉 햇빛이 부족할때나, 저온 또는 질소비료를 많이 시용할때 증가하는 경향을 나타낸다고 한다.[5,6,7,8]

Wright[9]와 Pimpini[10] 등은 식물의 부위에 따라 질산염의 분포가 다르게 나타나며, 식물종에 따라서도 그 함량이 차이가 있다고 하였다.

따라서 본 연구는 우리나라 2대 채소중 하나인 무를 이용하여 질소비료의 종류, 시비량에 따른 무 부위별 질산태질소 함량변화와, 단백질합성 저해 제초제인 alachlor를 처리하였을 때 식물체내에서 질산염, 질산환원효소 활성 및 생육상황의 변화를 조사 비교하였다.

재료 및 방법

1. 실 험 재 료

토 양

전주시 덕진구 덕진동 소재 밭토양의 표토를 채취하여 풍건후 0.5cm체로 통과시킨 다음 재배시험에 사용하였으며, 실험에 사용한 토양의 이화학적 성질은 Table 1과 같다.

Table 1. Chemical and physical properties of the experimental soil.

Soil texture	Sandy Clay Loam
pH(1:5)	5.80
Organic matter(%)	1.45
Available P_2O_5(ppm)	91.60
Cation exchange capacity(c mol/kg)	9.04
Exchangeable cations(c mol/kg)	
Ca	8.95
Mg	6.03
K	0.35

비 료

질산태질소원은 KNO_3, 암모니아태질소원은$(NH_4)_2SO_4$를, 인산 및 칼륨은 NaH_2PO_4, KH_2PO_4를 각각 사용하였으며 미량원소로는 H_3BO_3를 시비하였다.

제 초 제

Alachlor(상품명 : 라쏘, 품목명 : 알라유제)의 유효성분이 43.7%인 단백질 합성저해 제초제를 사용하였다.

실험식물 및 재배환경

본 실험에 사용된 식물은 농우종묘의 알타리 무(*Raphanus sativus* L.)였으며 최저 8.7℃, 최고 30℃, 평균 22oC의 온실조건에서 46동안 재배하였다. 직경 24cm, 높이 17cm인 플라스틱 폿트에 실험토양 4.5kg을 충진한 후 무 종자를 폿트당 15립씩 1cm 깊이로 파종하여 무누수 조건으로 재배하였다. 비료는 기비로 10a당 인산 12kg, 칼륨 10kg, 붕산 0.3g을 시용하였으며, 질소원은 질산태질소 및 암모니아태질소를 각각 20, 40, 60kg의 수준으로 시용하였으며, 추비는 파종후 18일에 기비수준으로 처리하였다. 제초제 Alachlor는 52.4g a.i/10a 기준으로 각 26.2, 52.4, 104.8g a.i/10a 처리하였다.

실험방법

무종자 파종 25일이 지난후부터 1주 간격으로 무를 4회 수확하여 생육조사를 한 다음 뿌리, 엽병, 엽으로 분리하여 시료채취일에 질산염함량과 질산환원효소 활성을 조사하였다.

Nitrate reductase activity의 측정

Hageman[11] 등의 방법에 따라 1mM-Na_2EDTA가 함유된 0.2M-phosphate buffer(pH 7.6)를 시료에 가하여 유발로 마쇄한 후, 2겹의 거즈로 거른 후에 0~2℃에서 10분간 15,000g으로 원심분리하여 조효소액으로 사용하였다. Assay Method는 Nitrate substrate solution [1M-phosphate buffer(pH 7.5) 12 m*l*+0.1M-KNO_3 60m*l*+10mM-Na_2EDTA 12m*l*+1 M-tris HCl(pH 7.5) 48m*l*] 10m*l*에 시료 1m*l*를 가한 후 2mM-NADH 0.2m*l*를 첨가하여 반응을 시작하였다. 30℃ water bath에서 15분 반응시킨 다음 2N-HCl이 함유된 0.2%-Sulfanilamide용액 1m*l*를 가하여 반응을 종결시켰다. 0.1% α-naphthylenediamine 용액 1m*l*를 가하여 30℃에서 15분간 발색시킨 다음 Spectrophotometer(MILTON ROY SPECTRONIC 601)를 사용, 540nm에서 β-NAH를 넣지 않은 처리를 표준으로 Nitrite의 농도를 비색정량하여 효소활성도를 측정하였다. 질산환원효소의 활성단위는 15분당 생체 g당 생성된 NO_2-N μmole 단위로 표시하였다.

Nitrate 함량측정

Kamm 등[12]의 방법에 따라 시료 1m*l*에 2N-HCl 1m*l*를 넣어 반응을 정지시킨 다음 1N-NaOH용액으로 중화시켰다. 여기에 카드% 0.5g을 넣어 환원시킨 후 0.2%-Sulfanilamide 용액 1m*l*와 0.1% α-naphthylethylendiamine용액 1m*l*를 가하여 30℃에서 15분 동안 발색시킨 후 540nm에서 흡광도를 측정하였다.

결과 및 고찰

1. 질소비료형태와 시비량에 따른 무의 생육

질소비료 형태를 암모니아태 질소와 질산태 질소로 10a당 20kg, 40kg, 60kg처리 후 무의 생체중 변화를 조사한 결과(Table 2) 질산태 질소비료가 암모니아태 질소비료 보다 생육에 더 효과적이었으며, 시비량의 증가에 따라 파종후 32일부터 근부가 지상부에 비해 급격한 증가를 나타내었다.

2. 질소비료 형태에 따른 무의 부위별 질산태질소 함량

질산태 질소비료 보다 암모니아태 질소비료를 시비했을때 무체내에 축적되는 질산태질소함량이 높았으며, 시료채취시기에 따라 식물체부위별 질산염함량이 다르게 나타났는데 엽병과 엽에서는 생육이 왕성한 시기에(25~32일) 질산염의 축적량이 높았으며, 생육후기에는 낮게 나타났다(Table 3). 본 실험에서 생육후기에 엽과 엽병에서 질산태질소 함량이 감소한 원인은 생육이 왕성한 시기에 작물이 질소성분을 다량 흡수함으로서 토양내의 전체 질소성분의 감소와 식물의 성숙으로 인한 희석효과에 의해 감소한 것으로 사료된다. Peck 등[17]은 질소질 비료를 전부 기비로 줄 경우에 식물체내의 질산태질소 함량이 생육이 왕성한 시기는 그 흡수력이 증가하여 높은 경향을 보이며, 생육 후기는 다시 낮아진다고 보고하였는데 본 실험결과도 이와 일치하였다. 무의 부위별 질산염함량은 엽병, 뿌리, 엽의 순서로 높게 나타났는데, 이것은 Miyazaki[3] 등의 실험결과와 일치하는 경향이었다.

3. 질산염에 의한 질산 환원효소활성 영향

본 실험에서 암모니아태 질소비료 시비가 질산태 질소비료를 시비했을때 보다 질산태질소의 함량이 높았으며, 질산환원효소 활성도 동일한 경향을 나타내었다(Table 4). 본 실험에서는 특히 생육이 왕성한 시기에 활성이 높게 나타났는데 엽병과 엽의 경우에는 파종후 25일에 가장 높았으며 뿌리는 파종후

Table 2. Weight changes of shoot and root in radish at different sampling date, on the application rates and forms of applied nitrogen fertilizer.

Nitrogen form	Application rate (kg/10a)	Fresh weight(g)							
		25		32		39		46(day)	
		Shoot	Root	Shoot	Root	Shoot	Root	Shoot	Root
Nitrate-N	20	16	4	23	7	25	13	27	35
	40	21	4	25	8	33	22	41	53
	60	25	6	28	11	38	34	44	55
Ammonia-N	20	14	2	18	4	22	11	23	32
	40	17	2	20	5	23	19	28	41
	60	18	3	23	12	26	21	36	42

Table 3. Change of nitrate content of petioles, leaf blades and root in radish at different sampling date, applicated fertilizer amount and fertilizer form.

Fertilizer form	Application rate (kg/10a)	Nitrate content(μg/g fresh weight)											
		Petioles				Leaf blades				Root			
		25	32	39	46	25	32	39	46	25	32	39	46(day)
Ammonia-N	20	52	29	24	16	8.7	5.3	3.0	0.5	3.0	9.2	9.7	8.1
	40	125	82	36	31	16.2	9.2	5.0	0.9	4.3	14.3	18.2	11.3
	60	234	169	75	45	18.8	13.4	7.5	1.0	8.2	31.6	41.2	20.0
Nitrate-N	20	27	22	19	12	6.5	4.1	2.2	0.3	2.1	7.3	6.9	7.5
	40	75	57	28	25	13.3	6.1	4.1	0.5	3.2	13.0	15.3	10.0
	60	176	143	57	36	17.1	11.7	5.4	0.9	7.0	30.4	25.5	15.5

Table 4. Change of nitrate reductase activity of petioles, leaf blades and root in radish at different sampling date, applicated fertilizer amount and fertilizer form.

Fertilizer form	Application rate (kg/10a)	Nitrate reductase activity(μmole NO_2^-/g fresh/15min)											
		Petioles				Leaf blades				Root			
		25	32	39	46	25	32	39	46	25	32	39	46(day)
Ammonia-N	20	32.2	20.5	9.9	2.2	25.0	14.3	6.2	2.0	0.6	7.0	10.2	4.8
	40	90.4	42.5	15.0	3.5	41.2	20.5	8.3	5.0	1.0	10.3	16.3	6.0
	60	195.5	111.3	32.0	18.5	124.5	72.0	12.5	10.0	1.7	23.0	25.0	7.2
Nitrate-N	20	14.8	13.0	9.3	1.8	20.3	10.2	5.6	1.5	0.5	1.5	2.8	1.0
	40	50.0	33.0	10.5	2.7	35.3	18.4	7.0	2.0	0.8	9.2	12.5	4.7
	60	148.8	100.5	25.5	10.1	108.3	57.5	10.0	7.5	1.3	21.5	19.5	5.1

Table 5. Change of nitrate content on sampling date, applicated Alachlor rate, amount of applied NH_4^+- N, NO_3^--N form fertilizer in radish.

Sampling date (DAS*)	Applicated rate of alachlor (a.i/10a)	Nitrate content(μg/g fresh weight)																	
		Leaf blades						Petioles						Root					
		Ammonia-N			Nitrate-N			Ammonia-N			Nitrate-N			Ammonia-N			Nitrate-N		
		20	40	60	20	40	60	20	40	60	20	40	60	20	40	60	20	40	60
25	26.2	18.7	20.4	28.6	20.0	31.8	43.0	120.0	242.0	290.0	155.5	178.0	17.4	17.4	17.4	100.3	17.4	33.2	103.0
	52.4**	20.0	26.7	30.3	26.9	39.1	53.5	188.0	333.0	433.0	206.8	432.0	20.0	20.7	20.7	119.6	20.2	41.9	119.9
	104.8	23.1	28.2	32.0	34.4	51.9	59.3	280.0	408.0	447.0	362.0	425.0	24.0	24.0	24.0	216.4	24.0	69.1	216.4
	control	15.0	16.5	18.6	4.8	8.0	16.0	52.2	117.7	237.5	74.4	160.6	2.3	3.7	3.9	6.4	2.3	3.4	5.8
32	26.2	20.3	25.0	30.8	23.4	35.1	40.8	38.0	57.0	183.0	57.0	146.0	12.9	13.2	13.2	33.6	12.9	16.4	32.0
	52.4	24.0	28.0	49.0	30.8	38.2	59.4	69.0	153.0	195.0	133.0	159.0	18.8	13.4	13.4	53.5	18.8	29.5	87.8
	104.8	34.0	37.0	51.5	44.0	47.3	71.8	84.0	175.0	403.0	143.0	380.0	39.5	26.6	26.6	85.0	39.5	52.5	110.7
	control	4.2	9.3	11.4	3.1	4.9	13.2	26.0	52.2	164.0	52.5	136.0	6.7	11.4	11.4	32.6	6.7	14.5	32.2
39	26.2	2.3	2.4	3.0	2.2	2.7	2.9	14.4	25.0	35.7	48.2	58.7	6.5	15.6	15.6	46.2	6.5	9.4	24.0
	52.4	2.6	2.9	3.6	2.2	2.8	3.1	15.2	25.4	35.6	52.3	69.5	15.9	16.3	16.3	49.8	15.9	16.9	32.4
	104.8	2.4	2.5	3.9	2.6	2.9	4.5	15.5	26.6	38.1	52.9	77.6	22.9	21.1	21.2	59.8	22.9	27.4	94.0
	control	3.8	6.3	6.9	2.1	2.2	3.0	9.2	22.3	29.1	48.0	57.1	6.3	17.9	17.9	43.0	6.3	8.2	23.0
46	26.2	0.5	0.6	1.0	0.4	0.6	1.2	13.4	14.3	25.6	15.2	20.3	12.4	13.3	13.3	24.5	12.4	12.7	15.6
	52.4	0.5	0.7	1.0	0.4	0.7	1.0	13.9	14.3	25.2	18.1	23.3	14.2	12.5	12.5	24.1	14.2	14.2	19.6
	104.8	0.3	0.4	0.9	0.4	0.6	1.3	14.1	16.7	28.8	19.0	29.7	17.3	21.7	18.9	32.4	17.3	17.3	59.7
	control	0.4	0.8	1.2	0.5	0.6	0.8	8.0	13.5	27.0	14.8	18.6	6.9	9.2	9.2	20.0	6.9	10.9	14.5

* DAS : Days After Seeding. ** Recommanded application level(a.i. 52.4g/10a).

Table 6. Change of nitrate reductase activity on sampling date, applicated Alachlor rate, amount of applied NH_4^+-N, NO_3 -N form fertilizer in radish.

Sampling date (DAS*)	Applicated rate of alachlor (a.i/10a)	Nitrate reductase activity(μmole NO_2^-/g fresh/15min)																	
		Leaf blades						Petioles						Root					
		Ammonia-N			Nitrate-N			Ammonia-N			Nitrate-N			Ammonia-N			Nitrate-N		
		20	40	60	20	40	60	20	40	60	20	40	60	20	40	60	20	40	60
25	26.2	26.3	88.5	124.0	16.3	54.3	202.0	34.8	38.9	52.6	12.4	86.9	157.2	ND	ND	189.1	ND	ND	41.5
	52.4	30.2	94.8	149.0	30.0	65.9	167.4	48.3	66.3	323.0	8.3	15.4	64.1	18.6	40.4	152.8	28.0	35.9	48.0
	104.8	11.3	51.1	207.0	7.0	7.2	ND	8.4	27.9	36.0	34.5	70.0	104.5	23.5	26.7	56.5	ND	ND	30.0
	control	21.3	38.7	123.9	13.0	35.9	108.0	25.1	62.4	198.5	5.6	48.9	147.2	ND	ND	ND	ND	ND	ND
32	26.2	18.7	21.1	66.1	11.3	25.4	187.4	41.7	61.3	77.4	32.6	77.2	96.9	12.4	24.1	155.0	13.0	21.3	28.3
	52.4**	9.3	33.0	57.4	107.7	160.4	213.9	64.8	75.7	277.8	28.9	67.2	122.0	10.2	10.2	18.9	11.3	24.5	65.7
	104.8	7.0	20.9	73.9	25.7	33.9	59.6	26.3	59.8	312.0	34.8	106.1	140.0	ND	ND	95.9	ND	ND	114.3
	control	9.2	15.0	56.1	8.9	9.1	70.6	8.5	21.5	118.5	13.3	60.4	95.0	7.2	10.2	22.2	ND	9.8	23.0
39	26.2	6.8	11.1	12.2	4.6	5.2	7.0	18.9	21.9	37.0	37.0	43.0	57.0	92.0	5.7	10.7	11.3	13.5	19.6
	52.4	7.7	13.0	15.2	4.9	5.6	11.5	5.4	18.5	20.7	44.1	72.0	203.0	135.2	11.3	28.9	17.4	19.3	37.4
	104.8	9.1	22.0	27.0	5.8	7.0	17.2	37.8	56.1	109.8	153.0	156.3	221.3	20.4	31.5	42.7	19.0	20.7	73.1
	control	4.1	7.2	7.3	3.0	3.5	5.4	1.9	13.5	5.2	15.0	11.1	43.3	87.8	10.7	16.3	3.4	87.4	18.9
46	26.2	ND	ND	ND	ND	ND	5.3	ND	ND	7.2	ND	13.3	22.8	ND	2.6	3.7	ND	3.7	5.7
	52.4	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	7.2	ND	18.9	43.3	ND	ND	3.7	3.7	5.2	15.4
	104.8	ND	15.0	15.0	ND	7.0	7.2	7.2	7.2	15.0	22.8	23.7	35.4	ND	ND	25.0	ND	6.5	12.2
	control	ND	ND	3.2	4.1	7.2	7.3	ND	4.4	14.0	4.4	7.2	15.4	3.7	5.7	ND	3.7	3.7	1.9

*DAS : Days After Seeding. ** Recommanded application level(a.i. 52.4g/10a). *** ND: Not Detected

32~39일 사이에서 질산환원효소 활성이 가장 높게 나타났다. 생육후기로 갈수록 엽병, 엽, 뿌리에서 모두 질산환원효소의 활성이 감소하였는데, 식물의 성숙후기에는 질소동화보다는 탄소동화작용이 왕성히 일어나 질소의 수요가 감소하여 활성이 떨어지는 것으로 사료된다. 그리고 부위별 질산환원효소 활성은 엽병이 가장 높았으며 엽 그리고 뿌리의 순서였는데 이는 질산태질소의 축적순서와 일치하였다. 김[14] 등에 의하면 담배의 생육초기에 엽록소, 핵산 및 단백질 합성이 왕성하게 일어나 다량의 질소가 요구되며 이로 인하여 질산환원효소의 활성이 활발하지만 생육후기로 갈수록 점점 감소하여 거의 활성이 정지된다고 하였는데 본 실험결과와 일치하는 경향이었다.

4. 제초제 Alachlor가 질산태질소 함량에 미치는 영향

제초제 Alachlor를 처리했을 때 무처리구에 비하여 처리구에서 질산태질소 함량이 높게 나타났는데(Table 5), 이러한 현상은 단백질 합성과정에 제초제가 작용하여 단백질합성의 주공급원이 되는 질산태질소가 암모니아태질소로 환원될 때 저해제로 작용하여 더 많은 질산태질소가 축적되는 것으로 사료된다. 한편, 무처리구에서는 질산태 질소비료가 암모니아태 질소비료 보다 더 많은 질산태질소가 식물체내에 축적되었으나 Alachlor를 처리했을때는 질산태 질소비료 처리시 더 많은 질산태질소가 체내에 축적되었다. 또한 생육초기 시료에서는 무처리구에 비하여 제초제와 질소비료 시비량이 증가할수록 질산태질소 함량이 높게 나타났으며 엽의 경우 1.6~14.2배, 엽병 1.8~7.7배, 뿌리에서는 2.3~37.3배로 제초제의 영향을 뿌리가 가장 많이 받았음을 알 수 있었다. 그러나, 생육후기 시료에서는 엽 0.4~1.6배, 엽병 1.1~2.3배, 뿌리에서 1.6~4.1배순으로 무처리구에 비하여 높게 나타났지만 생육초기보다는 제초제의 영향이 크지 않음을 알 수 있었다.

5. Alachlor가 질산환원효소 활성에 미치는 영향

제초제 Alachlor 처리가 질산환원효소 활성에 미치는 결과를 보면(Table 6), 무처리구에 비하여 처리구에서 높게 나타났다. 이는 제초제 처리가 질산환원효소의 활성을 억제하는 것이 아니라 오히려 활성을 촉진했기 때문인 것으로 사료된다. 무에는 특유의 매운맛과 자극성냄새를 내는 Alkyl-NCS계 화합물($CH_2=CH-CH_2-NCS$)이 있어 수종의 효소에 대한 활성저해의 예가 보고되어져 있는데[18,19,20], 특히 Catalase, Cytochrome C, Nitrate reductase 등과 같은 금속함유 효소에서 강하게 나타난다고 하였다.

적 요

무의 재배시 사용되는 질소비료의 형태, 시비량, 제초제농도가 무의 부위별 질산태질소의 함량, 질산환원효소 활성 및 생육에 미치는 영향을 조사한 결과는 다음과 같다.

1. 질산태 질소비료가 암모니아태 질소비료 보다 무의 생육에 더 효과적이었으며, 질산태질소의 함량의 경우 무의 엽병과 엽에서는 파종후 25일경에, 뿌리에서는 32일~39일 사이에서 높게 나타났다.
2. 또한 무의 부위별 질산태질소 함량은 엽병, 뿌리, 그리고 엽의 순서로, 질산환원효소 활성은 엽병, 엽, 그리고 뿌리순서로 높게 나타났다. 제초제 Alachlor의 농도가 증가함에 따라 무에서의 질산태질소 함량이 증가하는 경향이었으며, 질산환원효소 활성도 같은 경향이었다.

참고문헌

1. Committee on Nitrate Accumulation. 1972. Divison of biology and Agriculture, nitrite and nitrosamines to man and livestock in Accumulation of Nitrate. P. 46~69. National Academy of Science. Washington, D. C.

2. Kenny, T. A and P. E. Walshe. 1975. Nitrate and nitrate contents of vegetables and fruit in Ireland. Ir. *J. Agric. Res.* **14** : :349−355.
3. Miyajaki, A. 1977. Nitrate problems in food. Studies on Food Hygiene **27**(7) : 45−58.
4. Wolff, I. A. and A. E. Wasserman. 1972. Nitrates, nitrite, and nitrosamines. *Science.* **177** : 15−19.
5. Barker, A. V. and Maynard, D. N. 1971. Nutritional factors affecting nitrate accumulation in spinach, *Comm. Soil Sci. Plant Anal.*, **2**, 471.
6. Barker, A. V., Pck, N. H. and MacDonalad, G. E. 1971. Nitrate accumulation in vegetables. Agron. J., 162.
7. Brown, J. R. and Smith, G. E. 1966. Soil fertilization and nitrate accumulation in vegetables, *Agron. J.* **58**, 209.
8. Maynard, D. N., Barker, A.V, Minotti, P.L and PECK, 1976. Nitrate accumulation in vegetables, *Advan.* **28**, 71.
9. Wright, M. J. and Davison, K. I. 1964. Nitrate accumulation in crops and nitrate poisoning in animals, *Advan. Agron.*, **16**, 194.
10. Pimipini, F., Venter, und Wunsch. 1970. Untersuchungen uber den Nitratgdhalt in Blumenkohl, Landw. FORSCH., **23**, 263.
11. Hageman, R. H. and D. P. Hucklesly. 1971. Nitrogen reductase from high plant. Methods of enzaymology **23** : 491−503.
12. Kamm, L., Mckeourn, G. G. and Smith, D. M J. 1965. A. O. A. C. 48, 89213. Tae-Young Kwon and Sung Ho Park. 1990. Inactivation of Nitrate Reductase Prepared form Spinach by Allylisothiocyanate. Journal of Natural Science, Jeanju Univ. Vol. 3 No. 1, P, 71−80, 1990.
14. Yong Kyoo Kim, Jeam Ho Rhu. 1988. Effects of Urea Rate and and Maturity on the Yield, Quaiity, Nitrogen Compound and Nitrate Reductase Activity of Burley Tobacco. Korean Journal of Crop Science Vol. 33, Nom. 3.
15. Ventwr, F. 1980. Der Nitratgehalt in Rettich, Kurzfassungd. Vortrage aut dem 92. VDLU-FAKonger. Braunschweig, P. 109.
16. Fritz, D. 1978. Einflu der Mineraldungung auf die qualitat von GemuSE, Der Stickstoff. H. 12,14.
17. Peck, N. H., Barker, A. V., MacDonald, G. E. and Shallenberger, R. S. 1971. Nitrate accumulation in vegetables. Table beets grown in upland soils, *Agron. J.*, **63**, 130.
18. Curson, G. Biochem. 1960. J. 77,66.
19. Massey,V. and Alberty, R. A. 1954. Biochim. Biophys. ACTA., **13**, 345.
20. Nicholas, D. J. D. and Nason, A. 1954. *J. Biol. Che.*, **207**, 352.