

초임계 이산화탄소를 이용한 maca (*Lepidium meyenii*)의 지질 추출물로부터 macamides 분리 및 동정

† 이승호 · 강정일 · 이상윤 · ¹하효철 · ²송영근 · ²변상요
(주)내추럴하우스 기술연구소, ¹풀무원 식문화연구원 기능성연구소, ²아주대학교 분자과학기술학과
(접수 : 2008. 3. 11., 게재승인 : 2008. 3. 25.)

Isolation and Identification of Macamides from the Lipidic Extract of Maca (*Lepidium meyenii*) using Supercritical Carbon Dioxide

Seung Ho Lee[†], Jung IL Kang, Sang Yun Lee, Hyo Cheol Ha¹, Young Keun Song², and Sang Yo Byun²
Natural House R&D Center, ¹R&D Center for Functional Food, Institute of Food & Culture, Pulmuone CO., Ltd.
²Department of Molecular Science and Technology, Ajou University, Suwon, Korea
(Received : 2008. 3. 11., Accepted : 2008. 3. 25.)

Maca (*Lepidium meyenii*) has been used as a food and medicine in Peru for thousands of years. More recently a wide array of commercial maca products have gained popularity as dietary supplements with claims of anabolic and aphrodisiac effects. Even though the biologically active principles of maca are not fully known, the lipidic extract of maca tubers containing macamides showed promising physiological activities. In this study, the lipidic extract were collected from maca tubers by using supercritical carbon dioxide (SCO₂). Substance estimated as macamide in the extract was isolated and purified by preparative HPLC with recycling system. Two of the purified substance was identified as *N*-benzyl-5-oxo-6*E*,8*E*-octadecadienamide and *N*-benzylhexadecanamide by LC/MS, ¹H-NMR and ¹³C-NMR analyses.

Key Words : *Lepidium meyenii*, supercritical carbon dioxide, macamides, *N*-benzylhexa decanamide, *N*-benzyl-5-oxo-6*E*,8*E*-octadecadienamide

서론

마카 (Maca, *Lepidium meyenii*)는 해발 4000 m 이상의 페루 안데스 고원지대에서만 자생하는 내한성 초본식물로서, 수천년간 페루 원주민들에게 중요한 영양식품 및 강장식물로 애용되어 왔다(1). 마카는 잉카제국 시대 이전부터 조금씩 재배되었으며, 잉카제국 시대에는 귀족이나 승려같은 상위계층에서만 복용을 할 수 있었고 전쟁에서 승리한 전사들에게 상으로 지급되기도 하였다. 오늘날 마카는 페루인들에게 대중적인 식품으로 스프로 끓여 먹기도 하며 잼이나 푸딩으로 만들어 먹기도 하고, 또한 이를 발효시켜 'maca chichi'라는 술로 담궈 먹기도 한다. 일반적으로 마카는 괴경 모양의 뿌리 부위를 식용으로 사용하며, 다른 곡류에

비해 높은 영양학적인 가치를 지니고 있다. 마카에는 필수 아미노산이 다량 함유되어 있고 철이나 칼슘 같은 미네랄 함유량이 토마토보다 높으며, 리놀렌산 (linolenic), 팔미트산 (palmitic), 올렌산 (oleic) 등과 같은 중요 지방산도 함유하고 있다(2). 이외에도 마카에는 스테롤, 알카로이드, 글루코시놀레이트 (glucosinolate)와 같은 다양한 생리활성 물질이 함유되어 있으며, 이들 성분에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다(3). 마카는 전통적으로 성기능 강화 및 불임개선에 대한 효능이 많이 알려져 왔으나(4), 최근에는 호르몬 분비 조절 작용(5), 면역 강화작용(6), 기억력 개선(7), 항우울증 및 항암 효과(8)에 대한 새로운 연구결과가 계속적으로 발표되고 있어 성기능에만 국한되었던 마카의 기능성이 향후 점차 확대되어질 것으로 예상된다. 이러한 다양한 효능 때문에 마카는 'Peruvian ginseng'으로 불리면서 최근 몇 년 사이 미국, 유럽 및 일본 건강식품 시장에서 자양강장 및 스테미나 식품으로 상품화되어 선풍적인 인기를 끌면서 새로운 기능성 신소재로써 주목받고 있다. 그러나 이러한 관심에도 불구하고 현재 까지 마카의 생리활성에 관한 기능성 물질에 대한 연구는

† Corresponding Author : Natural House R&D Center, Seodaemun P.O. Box. 146, Seodaemun-Gu, Seoul, 120-600, Korea
Tel : +82-2-3277-8440, Fax : +82-2-3277-8503
E-mail : shleej@pulmuone.co.kr

빈약한 수준이며, 그 메커니즘 역시 완전하게 밝혀져 있지 않은 상태이다. 하지만 마카의 지질 추출물 및 알코올이나 헥산 분획에서 주목할 만한 생리활성에 대한 연구가 계속 보고되고 있으며(9-11), 이러한 마카 지질 추출물에는 지방산과 함께 다른 식물에는 존재하지 않는 마카의 특징적인 물질인 macamide라는 성분이 함유되어 있는 것으로 알려져 최근에 그 구조가 규명되었다(11-14). 현재까지 보고된 macamide는 7종으로 벤질기와 탄화수소 사슬이 amide 결합된 구조로 되어 있는 것이 특징이다(13). 이에 저자들은 선행연구 결과를 바탕으로 유기용매를 통한 복잡한 분획 및 정제가 필요하지 않은 초임계 이산화탄소 추출방법으로 제조한 마카의 지질 추출물에서 2종의 macamide인 *N*-benzylhexadecanamide와 *N*-benzyl-5-oxo-6*E*,8*E*-octadecadienamide를 분리하는데 성공하여 비교·동정하였기에 그 결과를 보고하는 바이다.

재료 및 방법

재료 및 시약

본 연구에 사용한 마카는 2006년도에 페루의 Junin 지방에서 재배되어 건조된 마카분말 (CHS Bioscience & Techology, USA)을 수입하여 추출원료로 사용하였으며, 초임계 유체 추출에 사용한 추출 용매로는 99.9%의 순도를 갖는 식품용 이산화탄소를 사용하였다. HPLC 및 지방산 분석에 사용된 용매는 99.8% 이상의 순도를 갖는 1급 시약을 사용하였다.

조지방 및 일반성분 분석

페루산 건조 마카분말 및 초임계 유체 추출법으로 제조한 마카 지질 추출물의 조지방 및 일반성분 분석은 식품공전(15)의 방법에 따라 분석하였다. 조지방은 식품공전에 기재된 에테르추출법을 이용하여 무수에테르를 용매로 하여 Soxhlet 추출기로 추출하여 정량하였으며, 수분 함량은 상압가열 건조법, 회분은 회화법, 조단백질은 마이크로 켈달법으로 각각 분석하였으며, 당류는 RI 검출기를 이용한 HPLC 분석법으로 정량하였고 탄수화물은 전체에서 수분, 조단백질, 조지방, 회분 및 당류 함량을 제한 값으로 계산하여 표시하였다.

초임계 이산화탄소 추출

건조 마카분말로부터 순도가 높은 지질 성분을 제조하기 위해 압력을 300, 400, 500 bar, 온도를 40, 50, 60°C 조건별로 변화시키면서 추출을 실시하였다. 실험에 사용된 초임계 추출장치는 아주대학교 생명공학과 연구실에서 설계 및 제작한 'JASCO 초임계 유체 시스템'을 이용하였으며 Fig. 1에 나타내었다. 이때 이용한 고체 시료용 추출기는 95 cc (22 mm ID × 250 mm, Alltech, USA)의 용량을 가진 column을 이용하였고, BPR (Max 10000 psi, TESCOM, USA)이 막히거나 감압시 온도 저하로 인한 내부 seal의 파손 현상을 방지하기 위해 30°C 이상을 유지하여 주었다. 보조 용매는 HPLC 펌프 (PU-980, JASCO Co., Japan)를 이용하여 공급되지만 본 실험에서는 보조용매를 사용하지 않았으며, 이산화탄소는 밸브에 의해 공급을 조절하였다. 추출용매인 이산화탄소는 5 mL/min의 유량으로 일정하게 주입하였고

추출기의 충전 밀도는 0.3으로 고정하여 120분간 추출하였다. 각 조건별로 제조된 추출물은 추출된 무게를 측정하고 5 mL vial에 넣어 4°C 냉장보관 하였다.

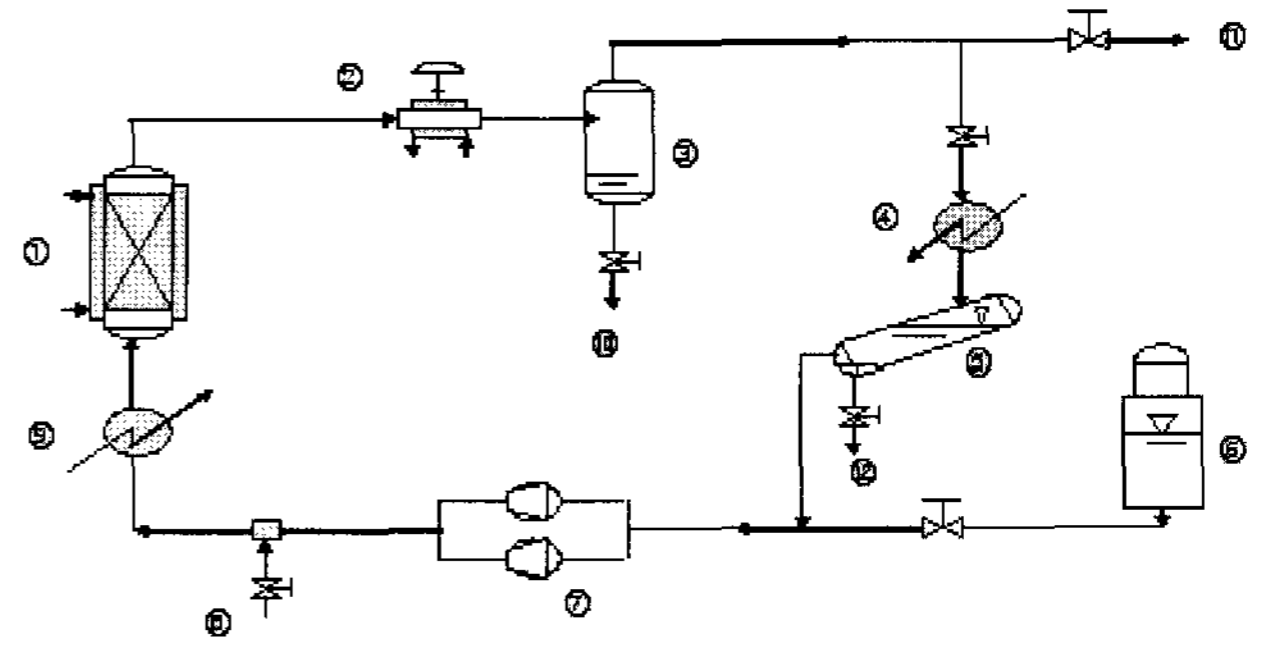


Figure 1. Flow diagram of supercritical fluid extraction system (① CO₂ make-up tank, ② Working tank, ③ CO₂ Pump, ④ Heat exchanger, ⑤ Extractor, ⑥ Electronic back pressure regulator, ⑦ Separator, ⑧ Absorbent column, ⑨ Pressure gage, ⑩ Chiller, ⑪ Product, ⑫ CO₂ vent).

재순환 분취용 HPLC를 이용한 분리 및 정제

이번 연구에서는 초임계 이산화탄소 추출을 통해 얻은 마카 지질 추출물에서 macamides를 분리·정제하기 위해 재순환 분취용 HPLC (LC-9104, JAI, Japan) 장비를 사용하였다. 이 분취용 HPLC의 장점은 기존 분취용 HPLC와는 달리 이동상을 컬럼으로 반복적으로 재순환시켜 줌으로써 용매의 소모량을 절감시키고 컬럼의 분리능을 극대화시켜 많은 양의 목적물질도 고순도로 분리를 가능하게 한다(16). 실험에 사용된 재순환 분취용 HPLC의 컬럼은 JAIGEL-ODS-A P (20 × 500 mm, JAI, Japan)를 이용하였으며 이동상은 CH₃CN으로 일정구배 조성으로 분리하였다. 검출기는 UV 검출기를 사용하였고 UV 파장은 210 nm, 이동상 유속은 5 mL/min로 설정하였고 마카 지질 추출물은 메탄올에 50배 희석을 하여 0.45 μm 필터로 여과 후 50 mL씩 주입하여 실험하였다. Peak별로 분취한 분획은 분석용 HPLC를 사용하여 Ganzera 등이 발표한 macamides 분석법(14)을 활용하여 문헌에 보고된 peak의 체류시간을 참조하여 macamide로 추정되는 분획을 위주로 하여 분리·정제를 실시하였다. 따라서 건조 마카분말로부터 macamides 분석을 실시하여 문헌에 보고된 *N*-benzylhexadecanamide와 *N*-benzyl-5-oxo-6*E*,8*E*-octadecadienamide의 peak 체류시간이 본 실험에서도 동일한 시간대에 검출됨을 확인하였으며, 그 결과는 Fig. 2와 같이 나타내었다. Macamides 분석에 사용한 분석용 HPLC 장치는 Waters Breeze system (Waters, USA)으로 Waters 1525 HPLC 펌프와 Waters 2487 UV 검출기를 연결하여 사용했으며, Waters 717 plus 자동주입기를 이용하여 재순환 분취용 HPLC에서 분취한 시료를 농축 후 0.45 μm 필터로 여과 후 주입하였다. HPLC 컬럼은 Synergi MAX-RP C12 (4.6 × 150 mm, 4 μm, Phenomenex, USA)을 사용하였다. 이동상은 H₂O (A)과 CH₃CN (B)에 각각 0.025% TFA (Trifluoroacetic acid) 첨가하여 사용하였으며, 용매 A와 B의 비율을 45/55에서 5/95(%)로 40분간 선형적으로 변화시켜 분석을 실시하였다. 컬럼온도는 40°C, 유속은 분당 1.0 mL, UV 파장은 210 nm와 280 nm에서 각각 동시검출을 하였다. 분석에 사용한 건조 마카분말은 30 mL 메탄올에 1 g

을 취하여 15분간 초음파추출을 실시하고 상등액만 따로 분리한 뒤 같은 조작을 2회 반복 실시하여 메탄올로 100 mL로 정량하고 0.45 μm 필터로 여과 후 분석시료로 사용하였다.

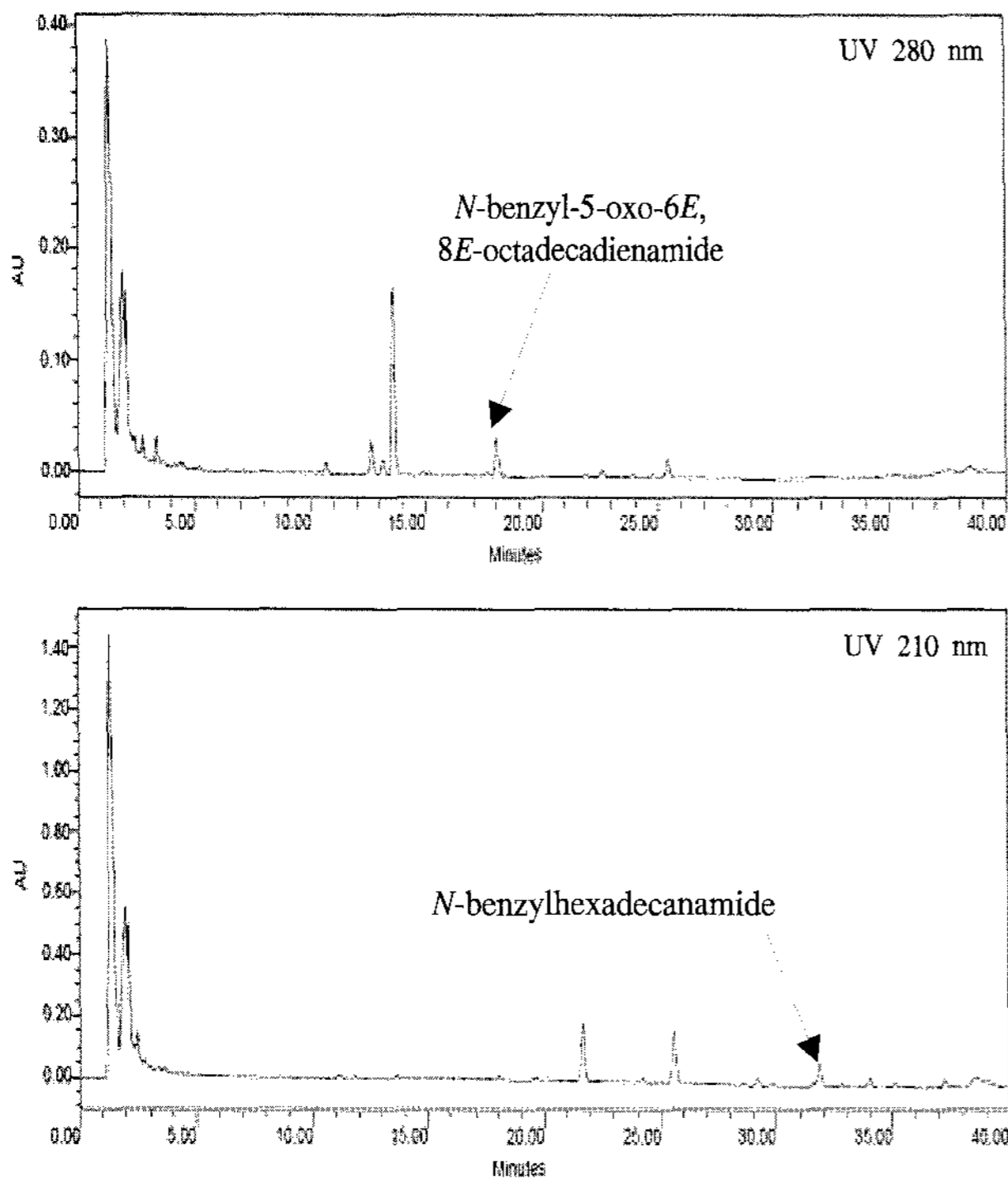


Figure 2. Chromatogram of macamides from dried maca powder by analytical HPLC (UV wavelengths of 210 and 280 nm).

물질 동정

재순환 분취용 HPLC에 의해 분리 정제된 2종의 macamide 동정은 LC/MS (Agilent 1100 LC/MS, Agilent, USA)와 NMR (Varian Mercury plus 400, Varian, USA)을 사용하여 Muhammad(12) 등이 보고한 N-benzylhexadecanamide와 N-benzyl-5-oxo-6E,8E-octadecadienamide와 비교 분석하였다. NMR 분석은 각각의 정제된 시료를 800 μL CDCl₃에 녹여 ¹H-NMR (400 MHz)과 ¹³C-NMR (100 MHz)의 스펙트럼을 얻었다.

결과 및 고찰

초임계 이산화탄소 추출을 이용한 고순도 마카 지질 추출물 제조

일반적으로 초임계 유체 추출에 있어 그 추출물의 함량 및 조성은 초임계 이산화탄소의 추출 온도 및 압력에 영향을 받는 것으로 알려져 있다. 따라서 본 실험에서는 초임계 이산화탄소 추출을 이용하여 마카로부터 지질 순도가 높은 추출물을 얻기 위해서 우선적으로 초임계 이산화탄소의 추출 온도 및 압력을 단계별로 조절하여 추출을 실시하였다. 이번 연구에서는 순도가 높은 지질 추출물을 회수하는 것이 목적이기 때문에 추출수율을 고려하지 않았다. 초임계 추출 조건에 따른 추출물의 조지방 함량은 Table 1에 나타내었다.

추출 압력의 경우 온도 변화와 관계없이 500 bar의 높은 압력에 비해 300 bar의 낮은 압력에서 추출물의 조지방 함량이 높게 나타났다. 일반적으로 일정 온도에서 초임계 유체의 압력을 증가시키면 초임계의 밀도와 용매력 (solvent strength, δ)이 증가하게 되는데, 이론적으로 초임계 유체의 밀도와 추출물의 밀도가 같을 때 최대 용해도를 갖게 된다고 한다(17). 따라서 추출 압력의 증가에 따른 조지방 함량의 감소는 지질성분이 아닌 다른 성분에 대한 용해도가 증가되면서 지질성분의 용해도에 대한 상대적 농도가 감소된 것이라 여겨진다. 또한 일정한 압력에서의 온도변화에 따른 조지방 함량의 경우 40℃의 낮은 온도에서 함량이 가장 높게 나타났는데 일반적으로 초임계 이산화탄소를 이용한 추출과정에서 온도의 증가는 밀도의 감소를 가져와 용해도의 감소를 유발한다는 보고와 일치한다(18). 따라서 본 실험을 통해서 300 bar, 40℃ 추출조건에서 956.4 mg으로 가장 높은 조지방 함량을 추출할 수 있는 것으로 확인하였으며, 유기용매를 사용하지 않고서도 95%이상의 고순도의 마카 지질 추출물을 초임계 이산화탄소 추출을 통해 손쉽게 제조할 수 있게 되었다.

Table 1. Recovery efficiency of crude fat at different extract conditions from dried maca powder

Temp (°C)	Contents of crude fat (mg / extract 1 g)		
	40	50	60
300	956.4	914.2	902.7
400	746.3	723.8	732.1
500	784.5	763.1	755.3

건조 마카분말 및 마카 지질 추출물의 일반성분 비교
 건조 마카분말과 앞서 실시한 초임계 이산화탄소 추출 (300 bar, 40℃)을 이용한 마카 지질 추출물 그리고 마카 초임계 추출물에 대하여 수분 함량, 조단백질 함량, 조지방 함량, 총당 함량, 회분 함량 등을 측정하여 그 결과를 Table 2에 나타내었다. 건조된 마카분말과 마카 초임계 추출물의 일반성분을 비교해 보면 조지방을 제외한 나머지 성분들의 함량은 거의 그대로 유지되어 있는 것으로 확인되었으며, 반면 초임계를 이용한 마카 지질 추출물의 경우에는 조지방 함량이 95.6%이고 나머지 조단백, 당류, 회분 함량은 아주 미미한 수준으로 추출물 대부분이 지질로만 구성되어 있음을 확인할 수 있다.

Table 2. Composition of dried maca powder, lipidic extract of maca using SCO₂ and Marc of SCO₂ extraction

Chemicalparameter	Material	Composition (%)	
	Dried maca powder	Lipidic extract of maca using SCO ₂	Marc of SCO ₂ extraction
Moisture	7.8	3.2	7.3
Crude protein	16.6	0.4	16.8
Crude lipid	0.3	95.6	0
Carbohydrate	69.7	0	70.2
Sugar	0.2	0.7	0.2
Ash	5.4	0.1	5.5

마카 지질 추출물로부터 **macamides** 분리 및 정제

본 연구에서는 재순환 분취용 HPLC를 이용함으로써 일반적으로 open column을 이용한 분리·정제법보다 신속하게 고순도의 **macamides**를 분리·정제하였다. 우선적으로 CH₃CN을 이동상으로 하여 100%의 일정구배 조성에서 마카 지질 추출물을 메탄올에 50배 희석하여 50 mL씩 재순환 분취용 HPLC에 주입한 결과 Fig. 3의 크로마토그램을 얻었으며 각각의 peak를 분취하여 분석용 HPLC에서 분석한 결과, peak #1과 #2에서 목적인 **macamides**가 검출되었다. Fig. 4와 5에서는 재순환 분취용 HPLC에 의해 분리된 peak #1과 #2의 분획을 각각 농축시킨 후에 분석용 HPLC를 이용하여 얻은 결과를 보여주고 있다. Fig. 2에서처럼 peak #1의 분획은 280 nm 파장에서 19분대에 *N*-benzyl-5-oxo-6*E*,8*E*-octadecadienamide의 peak가 확인되었고 peak #2의 분획은 210 nm 파장에서 33분대에 *N*-benzyl hexadecanamide peak의 존재를 확인하였다. Fig. 4와 5에서 확인할 수 있듯이 peak #1과 #2의 분획에서 일차적인 컬럼 분취만으로도 여러 불순물이 많이 제거되었으며 분취한 분획에서 고순도의 **macamides**를 얻기 위하여 분취용 HPLC의 재순환 기능을 적용하였다. Fig. 3에서처럼 peak #1과 #2를 분취하는 과정을 5회 반복하여 각각에 대해 분획을 얻어 고농축하여 재순환 분취용 HPLC에 5 mL씩을 주입하여 재순환 과정을 반복 수행하였다. Fig. 6에서는 peak #2의 분획에 대한 재순환 과정의 크로마토그램을 보여주고 있다. 재순환 과정은 목적물질인 **macamide**의 peak가 나타나기 시작하는 순간 재순환을 시작하였고 이 peak가 기준선까지 내려왔을 때 종료하였다. 이러한 재순환 과정을 반복하여 가장 순도가 높은 마지막 peak를 분취하고 농축하여 분석용 HPLC로 분석하였다. 이를 통해 peak #1과 #2의 분획에서 95%이상 고순도의 2종 **macamides**를 분리해 낼 수 있었다.

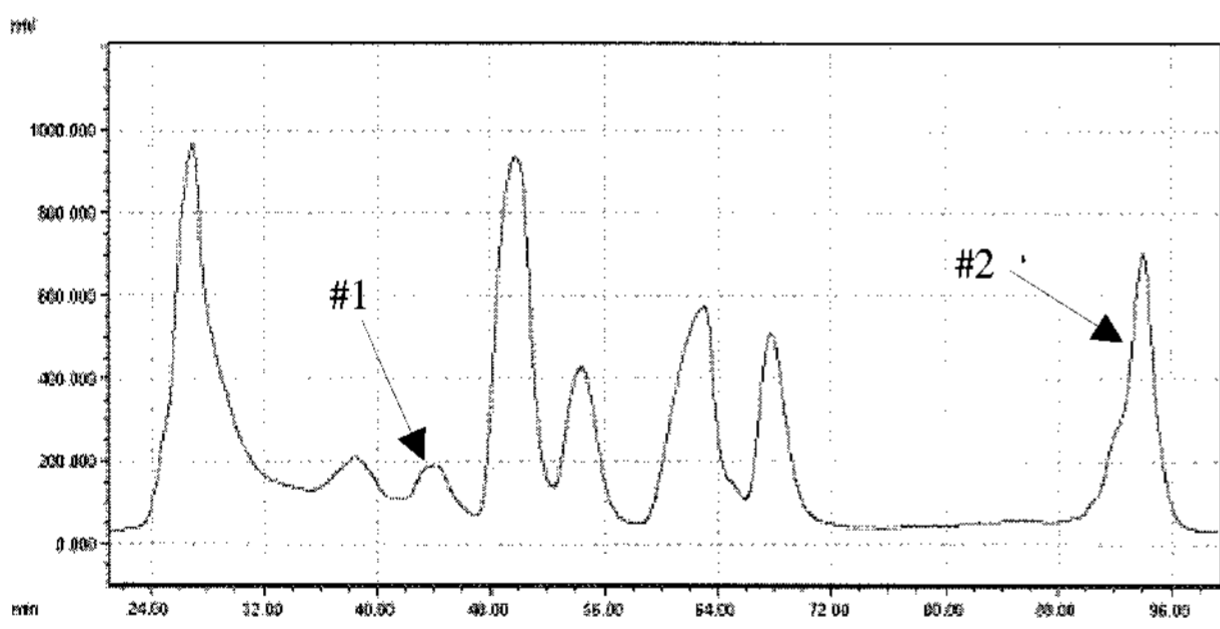


Figure 3. Separation of **macamides** from lipidic extract of dried maca powder using SCO₂ by preparative HPLC column.

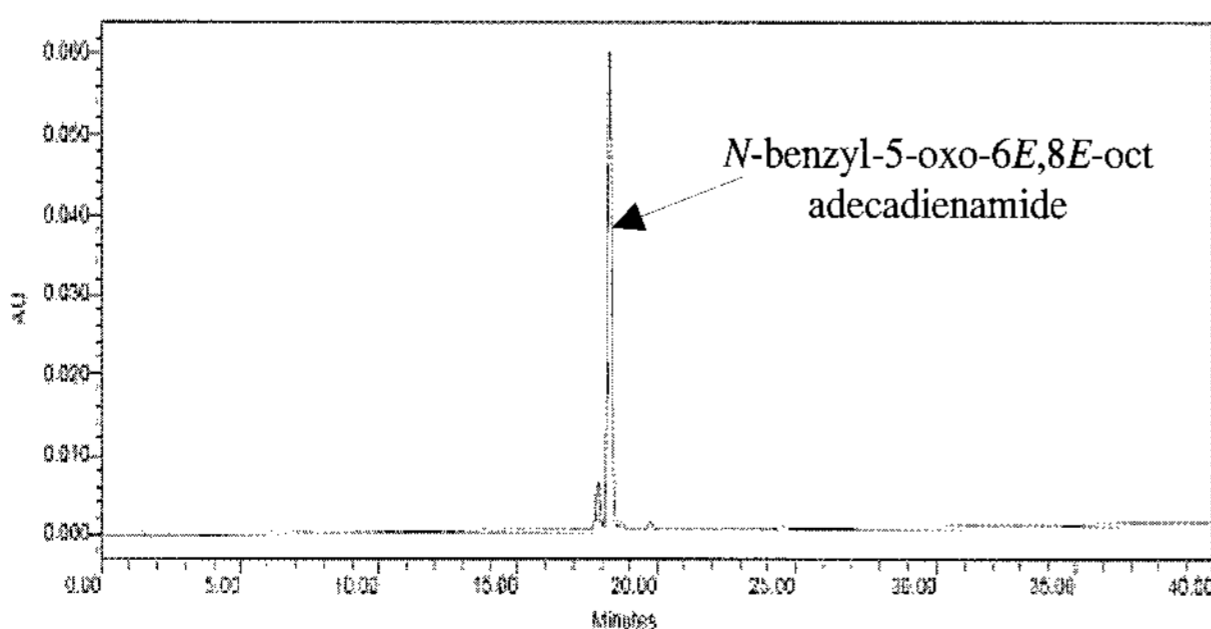


Figure 4. Analysis of **macamides** from fraction #1 in Fig. 3 (UV wavelengths of 280 nm).

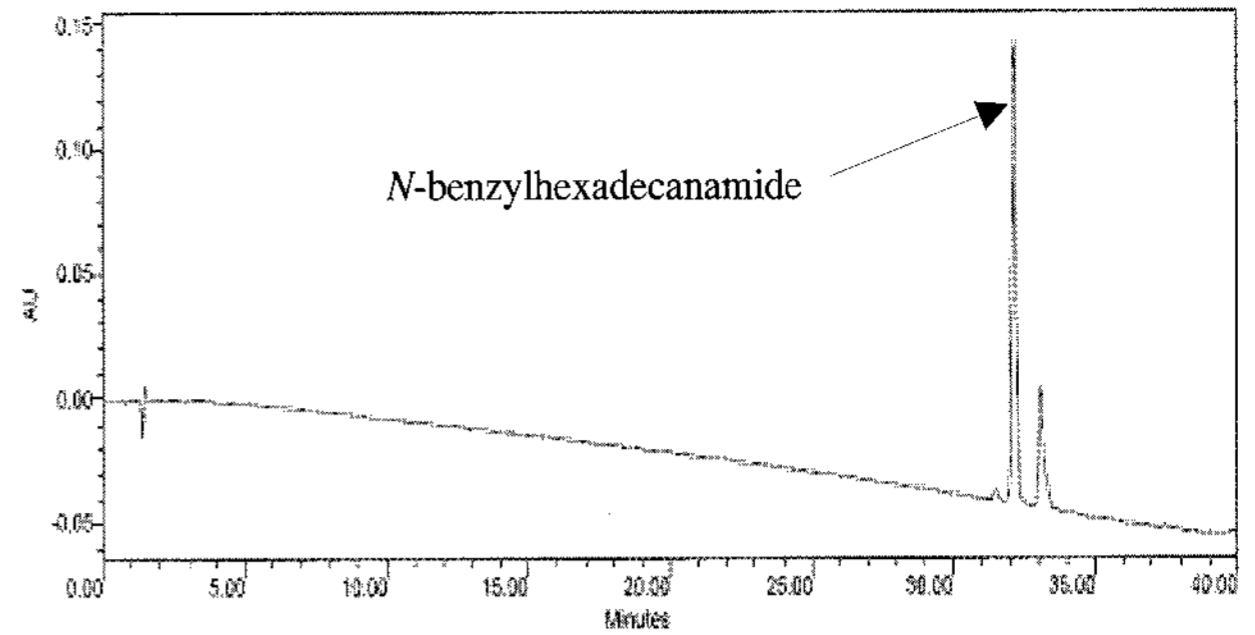


Figure 5. Analysis of **macamides** from fraction #2 in Fig. 3 (UV wavelengths of 210 nm)

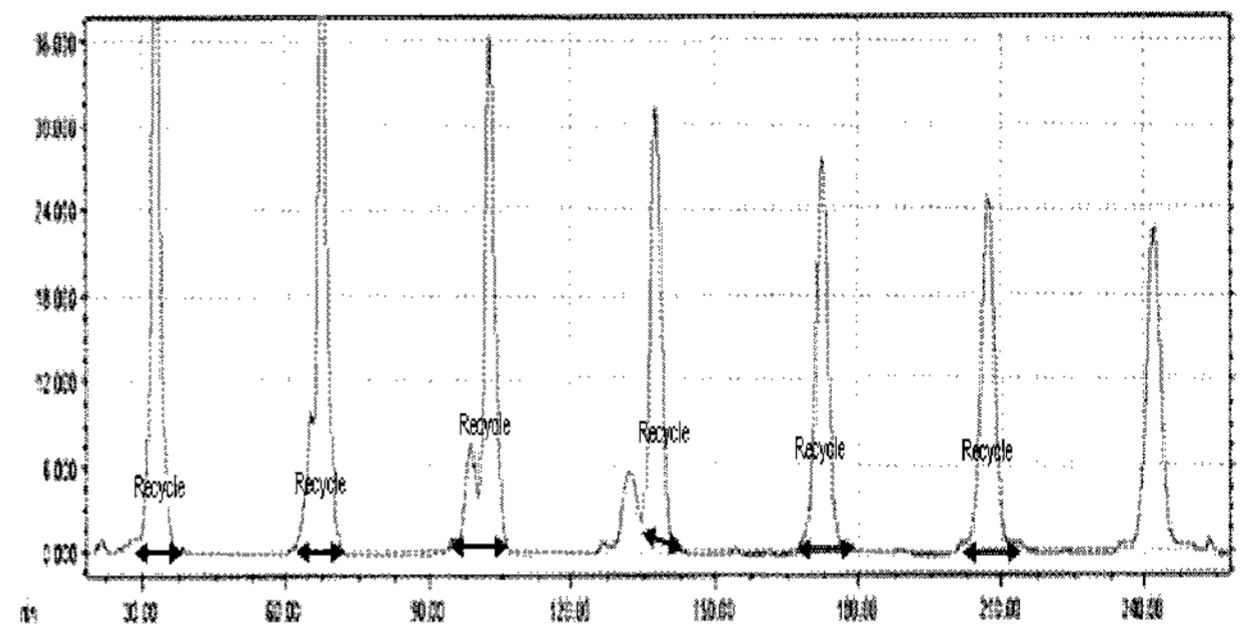


Figure 6. Separation of fraction #2 by recycle preparative HPLC column (CH₃CN 100%, 5 mL injection volume).

Macamides의 구조 동정

앞서 실험을 통해 분리 정제된 peak #1의 분획물을 LC/MS를 이용하여 분자량을 확인한 결과 384 m/z[M+H]⁺에서 분자이온 peak가 관찰됨으로써(Fig. 7) 문헌에 보고된 *N*-benzyl-5-oxo-6*E*,8*E*-octadecadienamide의 분자량과 일치함을 확인할 수 있었다. ¹H-NMR 스펙트럼 결과에서는 δ 7.26-7.34 (m, 5 H, phenyl-5 H), 7.08-7.16 (m, 1 H, COCHCH), 6.16-6.20 (m, 2 H, COCHCHCHCH), 6.06 (d, *J* = 15.4 Hz, 1 H, COCH), 5.77 (br, 1 H, NH), 4.44 (d, *J* = 6.0 Hz, 2 H, NHCH₂), 2.53 (t, *J* = 7.6 Hz, 2H, CH₂COCH), 2.40 (t, *J* = 7.6 Hz, 2 H, COCH₂CH₂), 1.62 (br, 2 H, COCH₂CH₂), 1.21-1.49 (br, 16 H, carbon chain) 0.90 (t, *J* = 7.6 Hz, 3 H, CH₃) 등의 특징적인 시그널을 확인하였다. ¹³C-NMR 스펙트럼에서는 201.15, 173.02, 145.99, 143.21, 138.78, 131.45, 128.99, 128.87, 128.00, 127.95, 43.95, 40.75, 37.10, 33.51, 31.76, 30.10, 29.46, 28.78, 26.04, 25.91, 24.69, 22.67, 14.46 등 총 23개의 탄소가 존재함을 확인하였다. peak #2 분획에서도 분자량을 확인한 결과 346 m/z[M+H]⁺에서 분자이온 peak가 확인되어(Fig. 8) 보고된 *N*-benzyl hexadecanamide의 분자량과 일치함을 확인하였다. ¹H-NMR 스펙트럼 결과에서는 δ 7.23-7.32 (m, 5 H, phenyl-5 H), 5.89 (br, 1 H, N-H), 4.41 (d, *J* = 6.0 Hz, 2 H, CH₂NH), 2.19 (t, *J* = 7.2 Hz, 2 H, COCH₂), 1.64 (m, 2 H, COCH₂CH₂), 1.34-1.20 (br, 24 H, carbon chain), 0.87 (t, *J* = 7.2 Hz, 3 H, CH₃) 등의 특징적인 시그널을 확인하였다. ¹³C-NMR 스펙트럼에서는 172.76, 138.24, 128.44, 127.56, 127.20, 116.26, 43.47, 36.77, 31.94, 29.72, 29.68, 29.64, 29.53, 29.39, 29.34, 27.24, 25.82, 22.74, 14.19, 1.98 등 총 21개의 탄소가 존재함을 확인하였다. 이

상의 분광학적 결과를 Muhammad(12) 등이 보고한 문헌과 비교한 결과 peak #1의 분획물은 분자량 384의 *N*-benzyl-5-oxo-6*E*,8*E*-octadecadienamamide로 동정되었으며, peak #2의 분획물은 분자량 346의 *N*-benzylhexadecanamamide로 동정되었다 (Fig. 9).

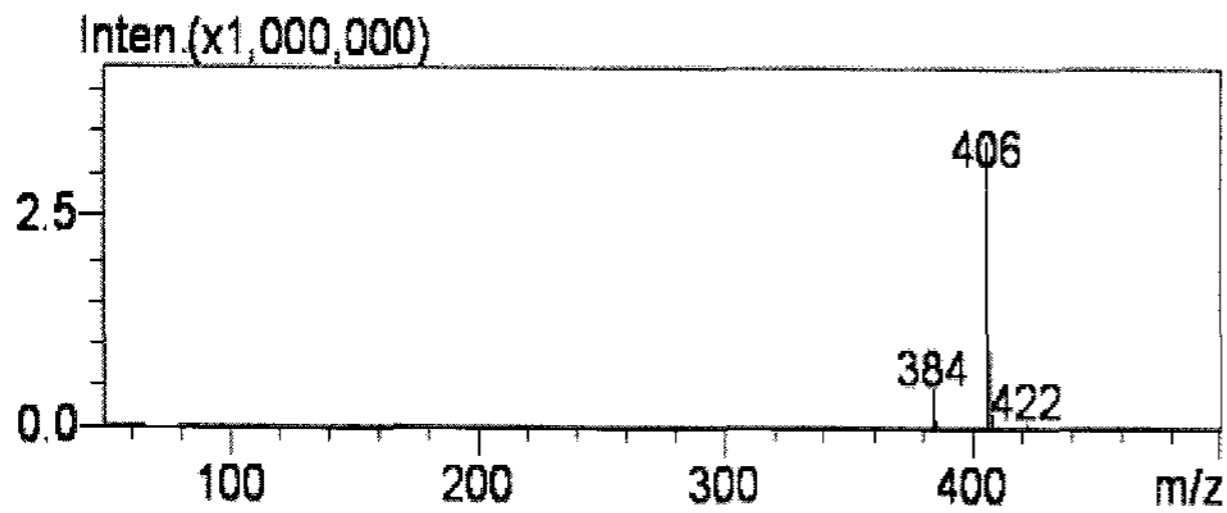


Figure 7. LC/MS spectrum of the sample containing *N*-benzyl-5-oxo-6*E*,8*E*-octadecadienamamide, isolated from lipidic extract of maca using SCO_2 .

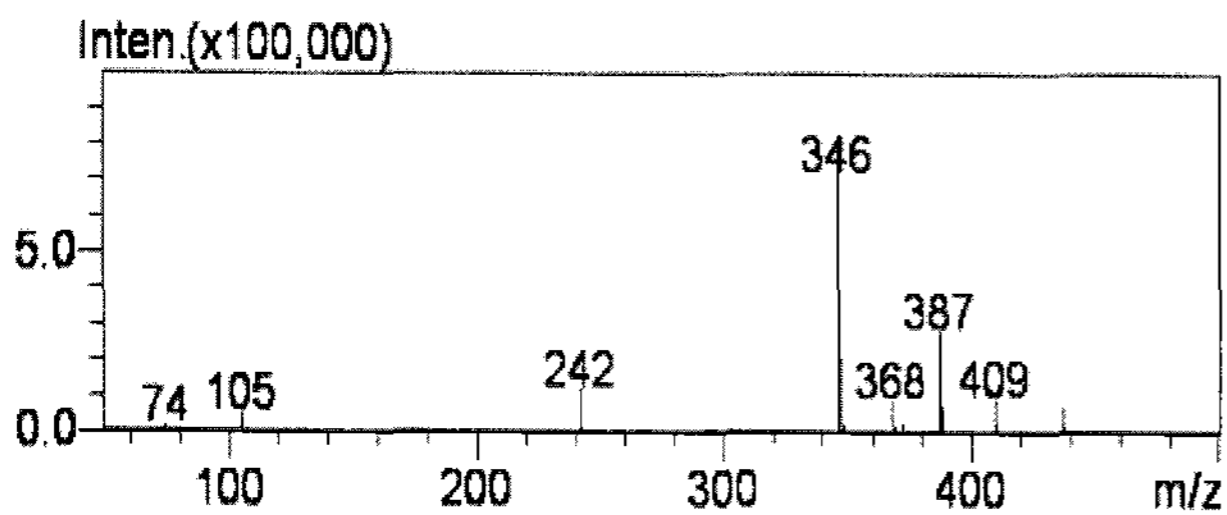


Figure 8. LC/MS spectrum of the sample containing *N*-benzylhexadecanamamide, isolated from lipidic extract of maca using SCO_2 .

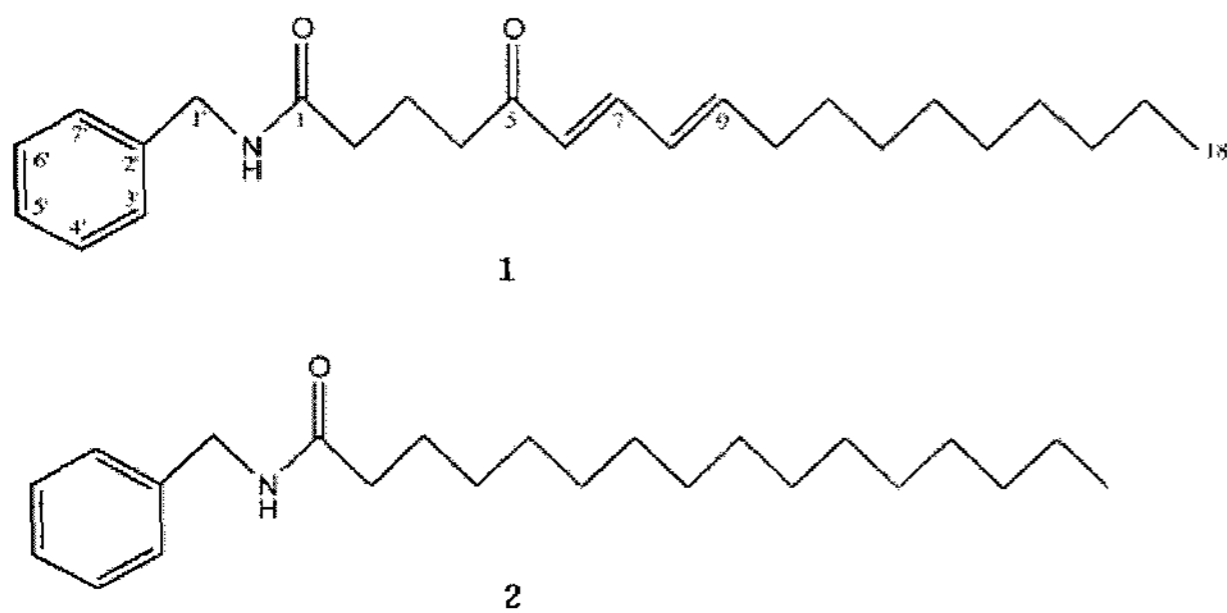


Figure 9. Structure of macamides, isolated from lipidic extract of maca using SCO_2 (1 : *N*-benzyl-5-oxo-6*E*,8*E*-octadecadienamamide, 2 : *N*-benzylhexadecanamamide).

요 약

생리활성이 뛰어난 마카의 지질 분획으로부터 macamides를 분리 동정하기 위해 본 연구에서는 초임계 이산화탄소 추출을 통해 마카 지질 추출물을 제조하여 재순환 분취용 HPLC로부터 2종의 macamides 물질을 분리 정제하였다. 분리된 2종의 macamides 물질의 구조 해석을 위해 LC/MS와 1H -NMR과 ^{13}C -NMR 분석을 실시한 결과 분자량이 384인 *N*-benzyl-5-oxo-6*E*,8*E*-octadecadienamamide와 분자량이 346인 *N*-benzylhexadecanamamide로 동정되었다. 본 연구를 통해 분리된 2종의 macamides는 향후 마카분말 및 마카제품의 macamides의 지표물질로 활용이 가능할 것으로 사료된다.

REFERENCES

- Balick, M. J. and Lee, R. (2002), Maca : from traditional food crop to energy and libido stimulant, *Alternative Ther. Health Med.* **8**, 96-98.
- Dini, A., Migliuolo, G., Rastrelli, L., Saturnino, P., and Schettino, O. (1994), Chemical composition of *Lepidium meyenii*, *Food chemistry.* **49**(4), 347-349.
- Valentová, K. and Ulrichová, J. (2003) *Smallanthus sonchifolius* and *Lepidium meyenii*-prospective Andean crops for the prevention of chronic diseases, *Biomed. Papers.* **147**(2), 119-130.
- Valerio, L. G. and Gonzales, G. F. (2005), Toxicological aspects of the south American herbs Cat's Claw (*Uncaria tomentosa*) and Maca (*Lepidium meyenii*), *Toxicological reviews.* **24**(1), 11-35.
- Yata, M. J. V. (2007) Fertility property of maca and its effect on hormone levels, *FOOD STYLE* **21.** **11**(4), 60-63.
- Jin, W.-w., Zhang, Y.-z., and Ao, M.-z. (2007), Improvement of mice immune function with compounds of powdered Maca (*Lepidium meyenii*)and ginsenosides, *Chinese journal of new drugs.* **16**(1), 45-48.
- Rubio, J., Dang, H., Gong, M., Liu, X., Chen, S. l., and Gonzales, G. F. (2007), Aqueous and hydroalcoholic extracts of Black Maca (*Lepidium meyenii*) improve scopolamine-induced memory impairment in mice, *Food and chemical toxicology.* **45**(10), 1882-1890.
- Gonzales, G. F. and Valerio, L. G. (2006), Medicinal plants from Peru: A review of plants as potential agents against cancer, *Anti-cancer agents in medicinal chemistry.* **6**, 429-444.
- Zhang, Y.-z., Yu, L.-j., and Wan, J.-m. (2007), Effect of ethanol extract of *Lepidium meyenii Walp.* (Maca) on immunological function of mice. *Natural product R & D,* **19**(2), 274-276.
- Cicero, A. F. G., Piacente, S., Plaza, A., Sala, E., Arletti, R., and Pizza, C. (2002), Hexanic Maca extract improves rat sexual performance more effectively than methanolic and chloroformic Maca extracts, *Andrologia.* **34**(3), 177-179.
- Zheng, B. L., He, K., Kim, C. H., Rogers, L., Shao, Y., Huang, Z. Y., Lu, Y., Yan, S. J., Qien, L. C., and Zheng, Q. Y. (2000), Effect of a lipidic extract from *Lepidium meyenii* on sexual behavior in mice and rats, *Urology.* **55**(4), 598-602.
- Muhammad, I., Zhao, J., Dunbar, D. C., and Khan, I. A. (2002), Constituents of *Lepidium meyenii* 'maca', *Phytochemistry.* **59**(1), 105-110.
- Zhao, J., Muhammad, I., Dunbar, D. C., Mustafa, J., and Khan, I. A. (2005), New alkamides from Maca (*Lepidium meyenii*), *J. Agric. Food Chem.* **53**, 690-693.
- Ganzera, M., Zhao, J., Muhammad, I., and Khan, I. A. (2002), Chemical profiling and standardization of *Lepidium meyenii* (Maca) by reversed phase high performance liquid chromatography, *Chem. Pharm. Bull.* **50**(7), 988-991.
- Korea Food and Drug Administration. (2008), Food Code, Korean Foods Industry Association, Seoul.
- Row, K. H. and Hong S. P. (2002), Separation of Acanthoside-D in *acanthopanax senticosus* by preparative recycle chromatography, *HWAHAK KONGHAK.* **40**(4), 488-491.
- C. Turner, J. W. King, and L. Mathiasson (2001), Supercritical fluid extraction and chromatography for fat-soluble vitamin analysis, *J. Chromatography A.* **936**, 215-237.
- Lee, S. J. and B. S. Chun (2002), Extraction of volatile essential oil from citrus junos peel by supercritical carbon dioxide, *Korean J. Biotechnol. Bioeng.* **17**(2), 148-152.