บทที่ 2

ทบทวนวรรณกรรม

ถั่วเหลืองเป็นพืชที่สำคัญประเภทหนึ่งซึ่งผลิตภัณฑ์จากถั่วเหลืองเป็นที่นิยมในการนำมาบริโภค ซึ่งอาจบริโภคในลักษณะที่เป็นถั่วเหลืองทั้งเมล็ด หรือนำมาดัดแปลงเป็นอาหารอื่น เช่น นมถั่วเหลือง เต้าหู้ ฟองเต้าหู้ เต้าหู้ยี้ เต้าเจี้ยว ซีอิ๊ว โปรตีนสกัดจากถั่วเหลือง และถั่วเน่า เป็นต้น ในปัจจุบันพบว่า ความนิยมในการบริโภคถั่วเหลืองเพิ่มมากขึ้น เนื่องจากเป็นแหล่งอาหารที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูง (เป็นแหล่งที่ดีของไขมันและโปรตีน) ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ร้อยละของปริมาณสารสำคัญในถั่วเหลือง

สารสำคัญ	ร้อยละ
1. คาร์โบไฮเดรต	26
2. ไขมัน	17
3. โปรตีน	37
4. อื่นๆ เช่น - แร่ธาตุต่างๆ เช่น แคลเซียม , ฟอสฟอรัส , เหล็ก - วิตามินต่างๆ (บี1 บี2 บี6 บี12 ซี ดี และอี) - กรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัว เช่น กรดไลโนเลอิก - เลซิติน - ไอโซฟลาโวน	20

2.1 ประโยชน์ของถั่วเหลืองต่อสุขภาพ

2.1.1 ถั่วเหลืองกับภาวะหมดประจำเดือน

ผู้หญิงวัยหมดประจำเดือนมักมีอาการร้อนวูบวาบ หงุดหงิด มีอาการทางผิวหนังและเยื่อบุบริเวณช่องคลอด รวมทั้งมีอัตราการเป็นโรคกระดูกพรุนและอัตราเสี่ยงต่อโรคหัวใจขาดเลือดสูงขึ้น การใช้ฮอร์โมนทดแทนแม้จะช่วยลดอาการไม่สุขสบายที่เกิดขึ้นแต่ก็มีความเสี่ยงต่อโรคมะเร็งเต้านม การรับประทานอาหารที่ทำจากถั่วเหลืองซึ่งมีสาร isoflavone เป็นส่วนประกอบอย่างสม่ำเสมอ จึงอาจเป็นอีกทางเลือกหนึ่งของผู้หญิงที่ไม่ต้องการใช้ฮอร์โมนทดแทน นอกจากช่วยลดอาการร้อนวูบวาบแล้วยังช่วยป้องกันโรคมะเร็งเต้านมและมะเร็งที่พึ่งฮอร์โมนรวมทั้งลดระดับไขมันในเลือดได้ มีการศึกษาจำนวนมากที่บ่งชี้ว่าการบริโภคถั่วเหลืองที่มี isoflavone หรือการเสริม isoflavone จะ

สามารถเพิ่มความหนาแน่นของกระดูกและลดอาการวูบวาบที่เกิดจากภาวะหมดประจำเดือน (Baird et. al., 1995) การศึกษาในประเทศญี่ปุ่นพบว่า ผู้หญิงญี่ปุ่นที่รับประทานถั่วเหลืองมากทั้งในแง่ปริมาณรวมของถั่วเหลืองและไอโซฟลาโวนจะมีความถี่ของอาการร้อนวูบวาบน้อยกว่า (Sturdee et. al., 2004) มีรายงานว่าผู้หญิงวัยหมดประจำเดือนในยุโรปมีอาการร้อนวูบวาบร้อยละ 70 - 80 ขณะที่ผู้หญิงวัยหมดประจำเดือนในมาเลเซีย จีน และสิงคโปร์มีอาการร้อนวูบวาบ ร้อยละ 57, 18 และ 14 ตามลำดับ

มีรายงานแสดงประโยชน์ของการบริโภคไอโซฟลาโวนตั้งแต่ 34-134 มิลลิกรัมต่อวัน ทั้งในรูปแป้งถั่วเหลือง โปรตีนถั่วเหลืองหรือสกัดใส่แคปซูล ในการช่วยลดกลุ่มอาการที่เกิดจากภาวะหมดประจำควบคุม (Huntley and Ernst, 2004) ขณะเดียวกันมีผลงานวิจัยแสดงการลดลงของอาการร้อนวูบวาบบริเวณใบหน้าในหญิงวัยทองที่รับประทานแป้งถั่วเหลืองได้ถึงร้อยละ 25 (Rymer and Morris, 2000)

2.1.2 ถั่วเหลืองกับโรคหัวใจขาดเลือด

การศึกษาทางระบาดวิทยาพบว่าประชากรที่กินอาหารที่มีโปรตีนจากพืชจะมีอัตราการเป็นโรคหัวใจขาดเลือดและภาวะของโคเลสเตอรอลในเลือดสูง น้อยกว่าประชากรที่กินอาหารที่มีโปรตีนจากสัตว์ (Anderosn et. al., 1995) จากผลการศึกษาแบบ meta - analysis ของงานวิจัยทางคลินิก 38 เรื่อง พบว่าการบริโภคโปรตีนจากถั่วเหลืองเฉลี่ยวันละ 47 กรัม มีผลให้ลด total cholesterol ได้ประมาณร้อยละ 9.3 ขณะที่ Low density lipoprotein (LDL) ลดลงร้อยละ 12.9 และ triglyceride ลดลงร้อยละ 10.5 คณะกรรมการอาหารและยาและสมาคมแพทย์และโรคหัวใจของอเมริกา (American Heart Association, AHA) จึงได้จัดโปรตีนจากถั่วเหลืองเป็นอาหารที่มีไขมันอิ่มตัวและโคเลสเตอรอลต่ำ ซึ่งอาจช่วยลดความเสี่ยงของโรคหัวใจและหลอดเลือดได้ โดยได้แนะนำขนาดบริโภคโปรตีนจากถั่วเหลืองไว้ที่ 25 กรัมต่อวัน (ศรีวัฒนา และคณะ, 2548)

2.1.3 ถั่วเหลืองกับโรคกระดูกพรุน

โรคกระดูกพรุนเป็นภาวะที่มีความผิดปกติของกระดูกทั้งในด้านปริมาณและคุณภาพ ทำให้ความแข็งแรงของกระดูกลดลง เกิดกระดูกหักได้ง่ายแม้ได้รับการกระทบกระเทือนเพียงเล็กน้อย สาเหตุที่พบได้บ่อยและสำคัญมากที่สุด คือ การขาดฮอร์โมนเอสโตรเจนจากการขาดประจำเดือน แคลเซียมมีผลต่อมวลกระดูกตั้งแต่วัยเด็กจนวัยสูงอายุ การเสริมแคลเซียมสามารถทำให้มวลกระดูกสูงขึ้นแม้จะได้รับแคลเซียมจากอาหารเพียงพอตามข้อกำหนดของสารอาหารที่ควรได้รับสำประจำวันสำหรับคนไทย (Thai Recommended Dietary Allowance, RDA) แล้ว (Ongphiphadhanakul B., 2002)

การเสริมแคลเซียมในช่วงวัยทองไม่สามารถขจัดผลการขาดเอสโตรเจนได้ แต่ช่วยลดผลที่เกิดจากการขาดแคลเซียมได้ ทั้งนี้ผู้หญิงควรได้รับแคลเซียมจากอาหารวันละ 800-1200 มิลลิกรัม อาหารที่มีแคลเซียมสูง ได้แก่ นม ปลาทอดกรอบ กินได้ทั้งกระดูก กุ้งแห้ง เต้าหู้ เป็นต้น การศึกษาการบริโภคแคลเซียมในผู้ใหญ่ชาวไทยเฉลี่ยเท่ากับ 361 มิลลิกรัมต่อวันซึ่งเป็นปริมาณที่ต่ำกว่าที่ควรได้รับประจำวันมาก (สุรัตน์ และคณะ, 2549)

2.1.4 ถั่วเหลืองกับโรคมะเร็ง

มะเร็งเต้านม มะเร็งลำไส้ใหญ่ มะเร็งต่อมลูกหมาก มะเร็งมดลูก มะเร็งรังไข่ ซึ่งเป็นมะเร็งชนิดที่สัมพันธ์กับฮอร์โมนในร่างกายและโรคหัวใจขาดเลือด มีอุบัติการณ์ต่ำกว่าในเอเชียและยุโรปตะวันออกเมื่อเทียบกับประเทศตะวันตก มีรายงานว่าประเทศญี่ปุ่นมีอัตราเสี่ยงต่อโรคมะเร็งที่พึ่งฮอร์โมนต่ำสุด ผู้อพยพชาวเอเชียที่อยู่ในประเทศตะวันตกที่ยังรับประทานอาหารตามประเพณีดั้งเดิมของตนมีอัตราเสี่ยงต่อโรคไม่สูงขึ้นแต่กลุ่มที่หันไปบริโภคแบบตะวันตกมีอัตราเสี่ยงต่อโรคสูงขึ้นข้อมูลบ่งชี้ว่ามีความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณไฟโตรเอสโตรเจน (Phytoestogen) ที่ได้รับจากอาหารโดยขึ้นกับปริมาณถั่วเหลืองที่แต่ละท้องถิ่นบริโภค เช่น คนญี่ปุ่นรับประทานผลิตภัณฑ์ จากถั่วเหลืองวันละ 200 มิลลิกรัม คนเอเชียจะได้รับไอโซฟลาโวนจากอาหารวันละ 25 - 45 มิลลิกรัม โดยได้รับจากอาหารจำพวกถั่วเมล็ดแห้งสูงกว่าคนในประเทศตะวันตก (น้อยกว่า 5 มิลลิกรัมต่อวัน) ผู้หญิงที่รับประทานซุปเต้าเจี้ยวมากจะมีอัตราเสี่ยงต่อโรคมะเร็งต่ำกว่า ผู้ชายญี่ปุ่นที่กินเต้าหู้มากกว่า 5 ครั้งต่อสัปดาห์ มีอัตราเสี่ยงต่อมะเร็งต่อมลูกหมากเป็นครึ่งหนึ่งของผู้ที่กินเต้าหู้น้อยกว่า 1 ครั้งต่อสัปดาห์ คนญี่ปุ่นที่กินเต้าหู้มากมีอัตราเสี่ยงต่อมะเร็งกระเพาะต่ำกว่าคนจีนที่กินถั่วเหลืองมากกว่า 5 กิโลกรัมต่อปี มีอัตราเสี่ยงต่อมะเร็งกระเพาะอาหารลดลงร้อยละ 40 หญิงจีนที่กินอาหารที่ประกอบด้วยถั่วเหลืองน้อยกว่า 1 ครั้งต่อสัปดาห์มีอัตราเสี่ยงต่อมะเร็งปอดเป็น 3.5 เท่าและมะเร็งเต้านมเป็น 2 เท่าของหญิงจีนที่กินอาหารที่ประกอบด้วยถั่วเหลืองทุกวัน (ศรีวัฒนา และคณะ, 2548)

การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างผู้บริโภคอาหารที่มีส่วนประกอบของถั่วเหลืองกับการเป็นมะเร็งเยื่อบุโพรงมดลูกของผู้หญิงแถบชานเมืองเซียงไฮ้ ประเทศจีน ที่มีประวัติครอบครัวเคยเป็นโรคมะเร็งเยื่อบุโพรงมดลูก จำนวน 982 คน แล้วแบ่งออกเป็น 2 กลุ่มเท่าๆกันแบ่งตามอายุที่เท่ากันจับคู่กัน ระยะเวลาในการทำการศึกษา 5 ปี ระหว่างปี ค.ศ. 1997 - 2001 โดยได้แบ่งช่วงการศึกษาออกเป็น 4 ช่วง เพื่อให้อาหารที่มีส่วนประกอบของถั่วเหลืองที่แตกต่างกัน ผลการศึกษาพบว่าหากได้รับส่วนประกอบถั่วเหลืองเพิ่มขึ้นทำให้ความเสี่ยงที่จะเป็นโรคมะเร็งเยื่อบุโพรงมดลูกลดลง แต่ก็ยังไม่สามารถสรุปได้ว่าผลที่เป็นโรคมะเร็งเยื่อบุโพรงมดลูก ลดลงมาจากสารอาหารจาก

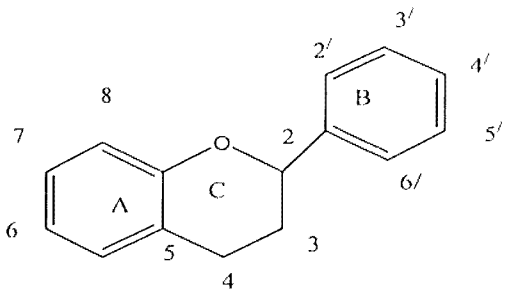
ถั่วเหลืองส่วนใด และอีกทั้งอาสาสมัครที่เข้าทดลองไม่ได้คัดเอาเฉพาะผู้ที่ไม่เคยใช้การรักษาด้วยฮอร์โมนมาก่อน (Wang Hong Xu et al., 2004)

มีรายงานวิจัยอีกมากมายได้กล่าวถึงประโยชน์ของถั่วเหลืองต่อสุขภาพ เช่น เป็นฮอร์โมนทดแทนในหญิงวัยทอง ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ต้านมะเร็ง โดยกล่าวว่าเนื่องมาจากสารสำคัญในถั่วเหลือง ชื่อ isoflavones

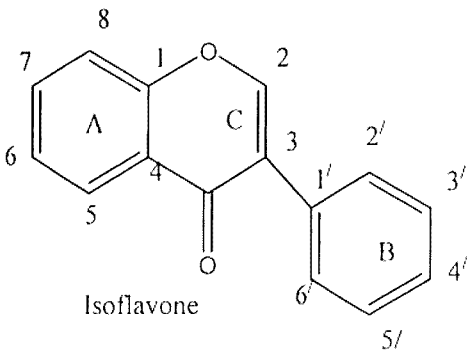
Isoflavoneเป็นส่วนหนึ่งของ flavonoidsโดยการพบปริมาณของ flavonoids จะแตกต่างกันไป ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับลักษณะต่างๆของถั่วเหลือง เช่น ชนิด การเจริญเติบโต ฤดูกาล สภาพอากาศในการปลูก อีกทั้งอุปนิสัย ทัศนคติ รูปแบบวัฒนธรรมในการบริโภค ปริมาณของ flavonoids ในผลิตภัณฑ์แต่ละชนิด การปรุงเตรียมอาหาร และค่า bioavalability ของแต่ละบุคคล

Isoflavonoid คือ สารที่มีโครงสร้างพื้นฐานคล้ายคลึงกับ flavone คือ ประกอบด้วย 3 วงแหวน (A , C และ B ตามลำดับ) เหมือนกัน ยกเว้นที่ isoflavones ต่อกับตำแหน่งที่ 3 ของวงแหวน C แทนที่จะเป็นตำแหน่งที่ 2 เหมือนใน flavones ซึ่งเป็น flavan

Isoflavones จึงเป็น isomer ของ flavan หรือ ของ flavones (ดังแสดงไว้ในแผนภาพที่ 1) ซึ่งจะมีการพบในรูป aglycone 3 ชนิด คือ daidzein, genistein, glycitein และมีในรูป glycone 9 ชนิด คือ daidzin, genistin, glycitin, 6" –O–acetyldaidzin, 6" –O–acetylgenistin, 6" –O – acetylglycitin, 6" –O–malonyldaidzin, 6" –O–malonylgenistin , 6" –O – malonylglycitin

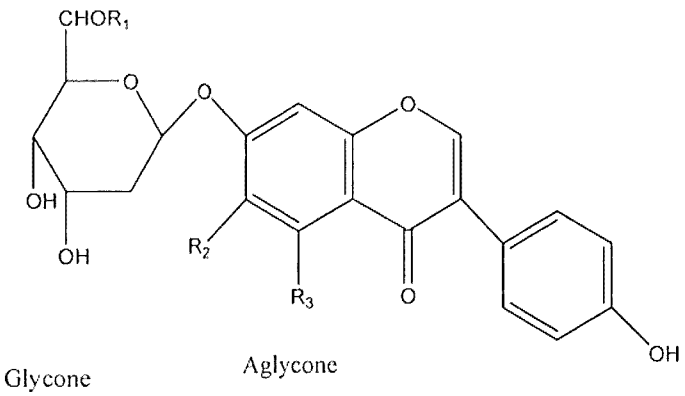


flavone



Isoflavone

ภาพที่ 1 โครงสร้างพื้นฐานของ flavone และ isoflavone

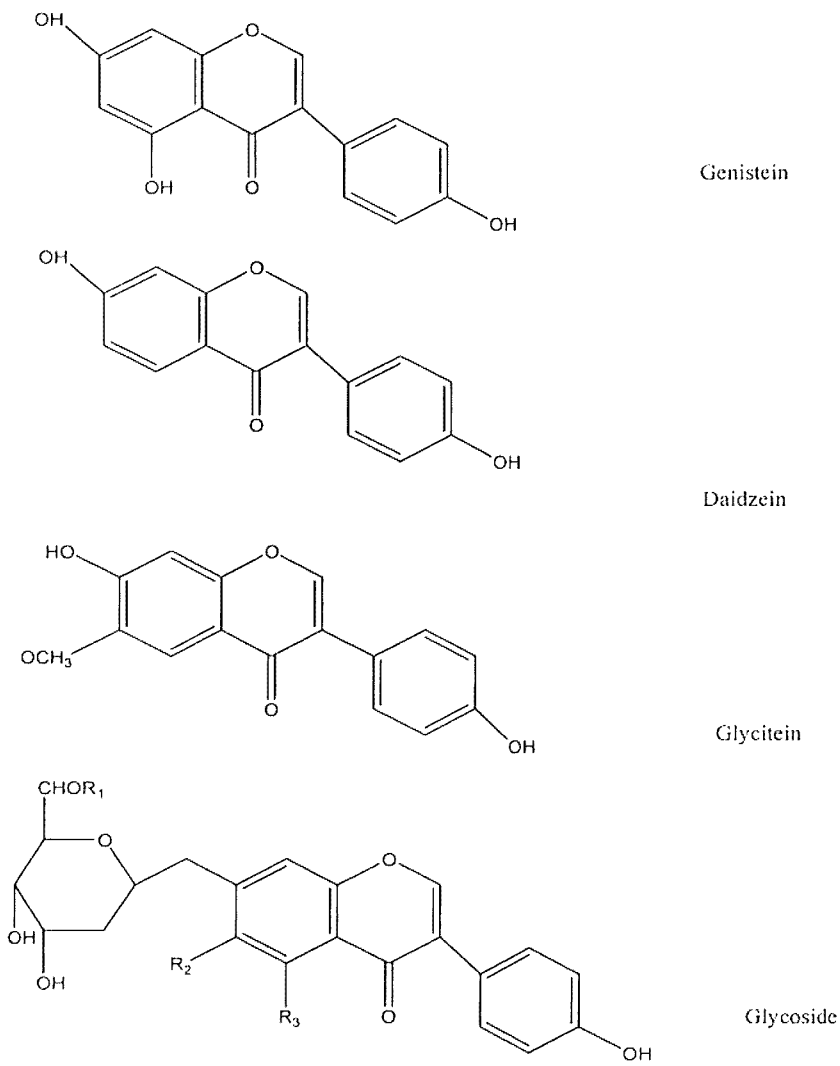


Glycoside

ภาพที่ 2 หมู่ฟังก์ชันนอลของ isoflavone conjugate

ตารางที่ 2 แสดงหมู่ฟังก์ชันนอลของ isoflavone conjugate (ผ่องศรี, 2542)

Name	R_1	R_2	R_3
(Glycoside)			
Daidzin	H	H	H
Genistin	H	OCH_3	H
Glycitin	H	H	OH
6" – O – malonyldaidzin	$COCH_2COOH$	H	H
6" – O – malonylgenistin	$COCH_2COOH$	OCH_3	H
6" – O – malonylglycitin	$COCH_2COOH$	H	OH
6" – O – acetyldaidzin	COCH	H	H
6" – O – acetylgenistin	COCH	OCH_3	H
6" – O – acetylglycitin	COCH	H	OH
(Aglycone)			
Daidzein	OH	H	H
Genistein	OH	OCH_3	H
Glycitein	OH	H	OH



ภาพที่ 3 โครงสร้างตามชนิดของ aglycone ต่าง ๆ ใน isoflavone

2.2 เภสัชจลนศาสตร์ของ flavonoids

กระบวนการทางเภสัชจลนศาสตร์ของสาร flavonoids จะพบว่าเริ่มต้นจากกระบวนการดูดซึม ซึ่งจากการศึกษาเกี่ยวกับการดูดซึมและเมตาบอไลท์ ได้อธิบายการดูดซึมของสาร flavonoid glycoside และ flavonoid aglycone ใน lumen และ enterocyte ของทางเดินอาหาร โดย flavonoid glycoside จะผ่านเข้าไปในเซลล์ได้โดยมีตัวพา คือ sodium dependent glucose transporter หลังจากเข้าเซลล์แล้วบางส่วนของ flavonoid glycoside ก็จะถูกขับออกมานอกเซลล์และส่วนที่อยู่ในเซลล์ก็ถูกย่อยโดย broad - specific ß - glucosidase (BSßQ) ได้ flavonoid aglycone ที่พร้อมถูกดูดซึมเข้าสู่กระแสเลือด ส่วน flavonoid glycoside ที่ถูกขับออกมานอกเซลล์ ก็จะถูกย่อยโดยเอนไซม์ BSßQ lactase phloridzin hydrolyse และ bacterial enzyme ภายในลำไส้ให้ได้

flavonoid aglycone ก่อนถูกดูดซึมเข้าสู่ enterocyte จากนั้นก็จะเกิด complex กับ glucoronide และ sulfate ได้ flavonoid glucoronide และ flavonoid sulfate นอกจากนี้สาร isoflavones จะถูกเมตาบอลิซึมที่ตับโดยผ่านการเกิด complex กับ glucoronide ประมาณ 97 % และที่เหลือจะเป็น sulfate แล้วยังสามารถเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยสามารถจับกับ cytochrome P 450 ได้ด้วย (Walle T. et. al., 2004)

พบว่า glycoside ดูดซึมได้ช้ากว่า aglycones เนื่องจากมีน้ำตาลเป็นส่วนประกอบในโมเลกุล ทำให้โมเลกุลขนาดใหญ่ และการศึกษาเกี่ยวกับเภสัชจลนศาสตร์ของ genistein ต่อการดูดซึมจะอยู่ในรูปของ genistein หรือในรูปของ glycoside ของ genistin ซึ่ง genistin บางส่วนจะถูกทำให้เป็น genistein โดยอาศัยกรด HCl ในระบบทางเดินอาหาร และบางส่วนของ genistin จะถูกทำให้เป็น genistein โดยอาศัยเอนไซม์ ß – glucosidase ซึ่งพบอยู่ในทางเดินอาหารเอง แต่ส่วนใหญ่ในขั้นตอนการย่อย genistin นั้น เมื่อ genistin ถูกขนส่งไปสู่ลำไส้ใหญ่นั้นเอนไซม์ ß – glucosidase ที่อยู่ในแบคทีเรียที่อาศัยอยู่ในลำไส้ใหญ่นั้นจะทำการย่อย genistin ให้เป็น genistein หลังจากนั้น genistein จะถูกดูดซึมที่บริเวณลำไส้เล็กและอยู่ในรูปของเมตาบอไลท์ คือ dihydro genistein และ 6"–hydroxyl–O desmethylangolensin จากนั้นมันจะถูกขนส่งไปยังตับเพื่อ conjugate กับ glucuronate และ sulfate โดยอาศัย biotranformation ในขั้นตอนที่ 2 คือ

1) ปฏิกิริยา glucuronide conjugation ซึ่งอาศัยเอนไซม์ Uridine diphosphate glucoronosyltranferase (UDP – glucoronosyl – tranferase)
2) ปฏิกิริยา sulfate conjugation ซึ่งอาศัยเอนไซม์ sulfotransferase

ซึ่งจาก Drug biotranformation ทั้ง 2 ปฏิกิริยานี้ จะทำให้ genistein conjugate กับ glucuronate และ sulfate แล้วจะพบว่าอยู่ในรูปที่มีขั้ว สามารถละลายน้ำได้ ซึ่งถูกขับออกทางปัสสาวะและน้ำดี genistein สามารถถูกดูดซึมอีกครั้งได้โดยอาศัย enterohepatic circulation (Setechell et. al., 2002)

แบคทีเรียในลำไส้มนุษย์สามารถเมตาบอไลท์ glycosides ให้กลายเป็น aglycones ฉะนั้นแบคทีเรียในลำไส้จึงมีอิทธิพลต่อค่า bioavailability ของสา รisoflavone (Xu et. al., 1995)

Glycoside มีความเป็นขั้วมากกว่าและมีโมเลกุลขนาดใหญ่กว่าอะกลัยโคน ทำให้การดูดซึมที่ลำไส้เล็กน้อยกว่าอะกลัยโคน (Xu et. al., 1995) ขณะเดียวกัน glycoside ถูกเอนไซมในลำไส้สัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมย่อยได้ยาก ดังนั้น glycoside จึงดูดซึมได้น้อยกว่า aglycone (Brown, 1998)

ß - glucosidase ของแบคทีเรียในลำไส้ส่วนปลายสามารถเปลี่ยน glycosideให้เป็น aglycone และถูกดูดซึมในรูป aglycone (Friend and Chang, 1984) โดยเฉพาะอย่างยิ่ง Lactobacilli

Bacteroids และ Bafidobacteria มีเอนไซม์ ß-glucosidase ดังนั้น แบคทีเรียเหล่านี้จึงมีอิทธิพลอย่างมากต่อการเปลี่ยน glycoside ไปเป็น aglycone

2.3 การทบทวนวรรณกรรมและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

จากการศึกษาที่ผ่านมามีผู้วิจัยมากมายที่สนใจศึกษาเกี่ยวกับการวิเคราะห์ genistein ในผลิตภัณฑ์อาหาร เช่น อาหารจำพวกถั่ว อาหารจำพวกเนื้อ รวมถึงตัวอย่างทางชีวภาพ เช่นปัสสาวะ ด้วยเทคนิคต่างๆ เช่น High Performance Liquid Chromatography (HPLC), Reversed Phase - High Performance Liquid Chromatography (RP-HPLC), Capillary Zone Electrophoresis (CZE) เป็นต้น

O. Mellenthin และ R. Galesa (1999) แยกไอโซฟลาโวนเฉพาะบางชนิดด้วย Capillary Zone Electrophoresis (CZE) และมีการสกัดตัวอย่างแบบ solid-phase extraction ก่อนด้วย polyamide cartridge

Tekel J. และคณะ (1999) พัฒนาเทคนิคเพื่อการวิเคราะห์ Genistein, Daidzein, Biochanin A, และ Formononetin (Biochamin B) และใช้เครื่องมือ Gas Chromatography – Mass Spectrometry in single ion monitoring (GC/MS-SIM) จากการศึกษาพบว่าเส้นโค้งของการวิเคราะห์มีความเป็นเส้นตรงที่ความเข้มข้นระหว่าง 5-25 ng/mL สำหรับ detection limit อยู่ในช่วง 1 ng/mL และมี %recovery สำหรับ total isoflavone หลังจากการย่อยด้วยเอนไซม์อยู่ระหว่าง 56.5-77.1% ที่ระดับ 25 ng/mL

Aaron P. Griffith, Mark W. Collison (2001) พัฒนาวิธีการสกัดและวิเคราะห์ Isoflavone จากอาหารที่ประกอบด้วยถั่วเหลืองและอาหารเสริมด้วยเทคนิค Reversed-Phase –High Performance Liquid Chromatography- Mass Spectrometry เทคนิคดังล่าวสามารถวิเคราะห์ Isoflavone ได้อย่างรวดเร็วและสามารถนำไปประยุกต์ใช้สำหรับการวิเคราะห์สารอาหารเสริมซึ่งมีการรบกวนจากสารที่เป็นองค์ประกอบอื่นๆ แต่อย่างไรก็ตามเทคนิคดังกล่าวก็ยังมีความถูกต้องไม่มากนัก

Ksycinska H. และคณะ (2004) ศึกษาการหาอนุพันธ์ใหม่ของ genisteine ใน culture media ด้วย Liquid Chromatography พบว่า genisteine เป็นสารที่เสถียรสามารถย่อยได้ในสภาวะเมตาบอลิซึมของร่างกายหรือไม่ย่อยสลายของสิ่งมีชีวิต

Borivoj Klejdus และคณะ(2005) ได้ศึกษาการกระจายตัวของ Isoflavone Alglycon และ Glycoside ในพืชตระกูลถั่วโดยเทคนิค Fast column High-Performance Liquid Chromatography ที่เชื่อมกับ Diode-Array Detector พบว่า ได้ %recovery ที่ยอมรับได้

Cesar Ida C. และคณะ (2006) พัฒนาวิธีการ Reversed-Phase High Performance Liquid Chromatography เพื่อหาปริมาณ isoflavone aglycones ในสารสกัดแห้งจากถั่วเหลืองที่ผ่านการย่อย

แล้ว พบว่าวิธีการที่พัฒนาขึ้นมานี้ให้ค่าความเป็นเส้นตรง (r^2=0.99), ความเที่ยงตรง (R.S.D<2%), ความแม่นยำ (มีค่า %recovery 98.12% สำหรับ genisteine)

L. Saavedra และ C. Barbas (2007) ก็ได้พัฒนาวิธีการ pre-concentration แบบ in-line และ on-line ที่ไม่ทำให้ตัวอย่างเกิดการปนเปื้อนเนื่องจากตัวอย่างทางชีวภาพและตัวอย่างที่ซับซ้อนบางชนิด มีปริมาณน้อยมาก ทำให้สามารถเพิ่ม sensitivity และ selectivity ของ Capillary Electrophoresis ได้

Lijuan Chen และคณะ (2007) หาปริมาณของ acetyl glucoside isoflavone ในปัสสาวะมนุษย์ ด้วยเทคนิคผสม Liquid chromatography-mass spectrometry ซึ่งเทคนิคนี้สามารถวัด isoflavone ได้อย่างมี sensitivity และ specificity สูง มีวิธีการเตรียมตัวอย่างที่ง่าย ใช้ตัวอย่างเพียง 0.5 mL และ Limitation of detection ของ Genistein มีค่า 14.8 pmol