

代谢组产品样本准备、储存及运输指南

特别声明

本文档属于部门内部资料，仅提供给北京百迈客科技服务部正式员工使用。严禁将该资料上传网络或交给非部门内部人员使用，禁止任何形式公开传阅。

版权声明：本文档版权归北京百迈客生物技术有限公司所有，未经北京百迈客生物技术有限公司书面许可，不得以任何形式复制、使用、传播本文档任何内容，对于违法使用本文内容者，将追究法律责任。

目录

1.前言	3
1.1 适用范围	3
1.2 声明	3
1.3 提取风险提示	3
2.取样原则	3
2.1 取样的代表性	3
2.2 取样的准确性	3
2.3 取样的重复性	3
2.4 取样的及时性	3
2.5 取样的低温性	4
2.6 样本的特殊处理	4
3.送样量需求	5
3.1 GC 非靶、LC 非靶、LC 脂质组非靶	5
3.2 LC 中药非靶	6
3.3 GC 顶空进样非靶	6
3.3 植物广泛靶向代谢组	7
3.4 植物靶向代谢组	8
4.样本准备、保存及运送方式	9
4.1 动物类	9
4.1.1 动物组织/临床样本	9
4.1.2 粪便/肠道内容物	9
4.1.3 血清/血浆	9
4.1.4 尿液	11
4.1.5 精液	11
4.1.6 肺泡灌洗液	12
4.1.7 腹腔渗透液	12
4.1.8 瘤胃液	13
4.1.9 卵泡液	13

4.1.10 脑脊液	13
4.1.11 痰液	14
4.1.12 唾液	15
4.1.13 乳汁	15
4.1.14 阴道分泌物	16
4.1.14 虫体	16
4.1.15 细胞	17
4.1.16 细胞培养液	20
4.2 植物类	20
4.2.1 叶、茎、花、节、芽、愈伤组织	20
4.2.2 根	20
4.2.3 种子	21
4.2.4 果皮	21
4.2.5 果实、果肉、果汁	21
4.2.6 根系分泌物	22
4.3 微生物类	23
4.3.1 测胞内代谢物——菌沉淀、丝状真菌及蕈菌	23
4.3.2 测胞外代谢物——菌上清液	24
4.3.3 发酵液/菌液	24
4.3.4 发酵物	25
4.4 其他	25
4.4.1 土壤	25
4.4.2 肉汤	26

1.前言

1.1 适用范围

本指南介绍百迈客代谢组产品样本送样要求及制备方法。采集送样前请详细阅读。

1.2 声明

对于危害程度为第一、二类的高致病性样品，不接收样本。对于危害程度为三、四类的致病性或传染性的组织样，必须先通过销售或运营与医学实验平台负责人沟通，确认无高致病和传染性且能进行后续实验后再安排样品寄送。危害程度的判定标准具体参见《人间传染的病原微生物名录》。

1.3 提取风险提示

代谢物提取质量与物种及组织部位、样本制备、样本交接、提取方法与操作、以及环境等因素息息相关，故无法完全保证提取质量，望老师知悉理解，并做好组织备份。为保障获得相对较高质量的代谢物，请老师务必按照以下指导原则准备样本。

2.取样原则

2.1 取样的代表性

所采集的样本应该通过严格的细胞学、组织学、病理学等相关鉴定，因为这关系到实验最终结果是否具有科学意义，所以客户须根据实验目的设计相关科学取样方案和取样步骤。

2.2 取样的准确性

正常组织样本中不能含有病变组织，而病理组织样本中也不可以夹带有正常组织。在条件允许的前提下，争取做到实验组与对照组的样本在取材时间、部位、处理条件等方面尽可能保持一致，否则可能会影响实验结果的重复性和可信度。代表性样本的各种特征数据必须被准确记录，并按要求采集、制备、储存、运输进行实验处理。

2.3 取样的重复性

生物学重复的取样应尽量减少重复间样品的差异。在条件允许的前提下，做到重复样本在取材时间、部位、处理条件等方面尽可能保持一致，否则可能会影响实验结果的重复性和可信度。

2.4 取样的及时性

样本质量是影响实验结果的最关键因素，因此用于研究的实验样本，在采集、贮存、运输和制备的过程中尽可能地做到迅速，最大限度的缩短从样本采集到实验的时间。

2.5 取样的低温性

所取样本离体后，经快速清洗和标记等处理后，应立即投入液氮中速冻至少 3h，之后保存于-80℃冰箱或者干冰中，确保在实验操作前样品始终处于-80℃，以避免代谢改变。

2.6 样本的特殊处理

样本的特殊处理包括：盐处理、温度处理、药物处理、病毒侵染、伤害处理、干旱处理等胁迫处理方式，不同程度的处理对样本质量会造成不同程度的影响，常见的会导致代谢物的降解或者含量降低。因此，经过特殊处理的样本，在送样时，务必请在样本信息单中进行详细的备注，以便尽量提高提取的成功率和避免样本的浪费。

3.送样量需求

3.1 GC 非靶、LC 非靶、LC 脂质组非靶

物种	GC 非靶、LC 非靶、LC 脂质组非靶样本量需求		
	样本类型	正常量	建议量
动物	动物/临床组织、肌肉、胎盘组织、皮肤、粪便、肠道内容物	100mg	200mg
	血清、血浆、精液、肺泡灌洗液、腹腔渗透液、瘤胃液、乳汁、卵泡液、脑脊液、尿液、痰液、唾液	200uL	1mL
	阴道分泌物	棉拭子 3 个	棉拭子 6 个
	大虫体（肉眼可见）	100mg	200mg
	小虫体（肉眼不可见）	$\geq 10^9$ 个	$\geq 10^9$ 个，样本 2 份
	细胞	细胞数 $\geq 10^7$	细胞数 $\geq 10^7$ ，样本 2 分
	细胞培养液	1mL	2mL
	植物	茎、芽、节、叶、根、花、愈伤组织、果皮	冻干粉 100mg 或鲜样 200mg
果实、果肉、果汁		冻干粉 100mg 或鲜样 1g	鲜样 2g
果汁		冻干粉 100mg	冻干粉 200mg
根系分泌物		冻干粉 20mg	冻干粉 40mg
微生物	菌沉淀	菌体数 $\geq 10^7$	菌体数 $\geq 10^7$ ，样本 2 分
	酵母菌及非丝状真菌沉淀	菌体数 $\geq 10^7$	菌体数 $\geq 10^7$ ，样本 2 分
	丝状真菌及蕈菌（大型真菌）	100mg	200mg
	菌上清液/培养液	1mL	2mL
	发酵液、菌液	1mL	2mL
	发酵物	100mg	200mg
其他	土壤	1g	2g
	肉汤	1mL	2mL

3.2 LC 中药非靶

LC 中药非靶样本量需求				
固体样本类型	干样		鲜样	
	正常量	建议量	正常量	建议量
中药粉末	800mg	1g	3g	5g
中药材				
中药渣				
中成药			/	
液体样本类型	正常量		建议量	
中药入血血清血浆	1mL		3mL	
中药液	1mL		2mL	

备注：提供中药的处理方法及步骤：中药材是醇提的还是其他的提取溶剂，如果老师已经提取好了，是提取液的话要提供处理方法。

3.3 GC 顶空进样非靶

GC 顶空进样非靶样本量需求				
样本类型	干样		鲜样	
	最低量	正常量	最低量	正常量
动物组织	/	/	2.5g	5g
粪便	/	/	1g	3g
植物组织（包括常规植物根茎叶果实、茶叶等）、菌菇类	1g	3g	2g	5g
样本类型	最低量		正常量	
液体样本（培养液、酸奶、发酵液、酒等）	5ml/5g		10ml/10g	
微生物	5*10 ⁷ 个/50mg		10 ⁸ 个/200mg	

备注：

①由于顶空测得挥发出来的气体中的物质，本身含量就不高，所以建议按照正常量提供，老师确实提供不了那么多，可按照最低量提供。

②常规默认组织样本都会通过液氮研磨均匀再上机检测，要是客户只需要测挥发出来的香

气物质（如花香），不需要研磨样本，下单的时候需备注清楚。

3.3 植物广泛靶向代谢组

适用植物广泛靶向组：初生代谢组、次生代谢组、黄酮代谢组、萜类代谢组、生物碱代谢组等。

样本	植物广泛靶向代谢组样本量要求						
	样本类型	冻干粉		干样		鲜样	
		正常量	建议量	正常量	建议量	正常量	建议量
植物组织	根、茎、叶、花、果实、果肉、果皮、种子、胚乳	200mg	300mg	400mg	600mg	1g	2g
液体	类型	正常量		建议量			
	根系分泌物	50mL		100mL			
	发酵液	3mL		5mL			
	酒/组织液/果汁	3mL		5mL			
	蜂蜜/花蜜/油	200uL		500uL			
	中药煎剂/提取液	200uL		500uL			
特殊样本	培养样本存在液体	300mg		600mg			

备注：

- ①液体样本需提供提取方法及浓度。
- ②植物生物学重复>6个。
- ③研磨损失：50%。

干样为我们实验室可以直接研磨的样本，如需我们再次冻干，则会导致样本实际量更少，影响实验。

④水在生长着的植物体中含量最大，原生质含水量为80~90%，其中叶绿体和线粒体含50%左右。液泡中则含90%以上。组织或器官的含水量随木质化程度增加而减少，如瓜果的肉质部分含水量可超过90%，幼嫩的叶子为80~90%，根为70~95%，树干则平均为50%，休眠芽约40%。含水最少的是成熟的种子，一般仅10~14%，或更少。

- ⑤水生植物花朵含水量 70-95%。
- ⑥液体样本要备注：制备方法，样本用量，溶液体积。
- ⑦特殊样本：备注样本是什么，培养液是什么，保证样本的质量达到要求，是否关注样本在培养过程中分泌在培养液中的物质。
- ⑧植物广泛靶向代谢组样本需冻干，若送的非冻干粉，实验室冻干后反馈是否满足正常启动要求。

3.4 植物靶向代谢组

适用于植物靶向产品：植物激素、游离脂肪酸、类胡萝卜素、花青素、糖类、黄酮定量、有机酸检测、氨基酸等。

样本	植物靶向产品样本量要求						
	类型	冻干粉		干样		鲜样	
		正常量	建议量	正常量	建议量	正常量	建议量
植物组织	根、茎、叶、花、果实、果肉、果皮、种子、胚乳	50mg	100mg	300mg	600mg	2g	5g
动物组织	动物组织						
液体	类型	正常量			建议量		
	根系分泌物/发酵液/酒/组织液/蜂蜜/花蜜/油/中药煎剂/提取液/菌液/果汁	3mL			5mL		

备注：

- ①植物激素及黄酮靶向等植物靶向产品不建议做液体样本。
- ②植物靶向产品的样本需冻干，若送的非冻干粉，实验室冻干后反馈是否满足正常启动要求。

4. 样本准备、保存及运送方式

4.1 动物类

4.1.1 动物组织/临床样本

1. 首先准备好用于包装样本的铝箔或冷冻保存管，并且用油性记号笔在铝箔或冻存管外表多处写明样本编号。
2. 准确切除所需组织后，在生理盐水或 PBS 中迅速漂洗样本，以去除血渍和污物。并将组织切割成小块，用镊子夹住样本，立即投入液氮冷冻。
3. 用准备好的铝箔或冷冻保存管装载包裹组织，迅速投入液氮或转入-80℃冰箱保存样本。
4. 填写样本登记表，写明样本名称、组织类型、编号、取样日期、样本处理过程等情况。
5. LC 非靶代谢组织的量为 200mg/sample，保留备份，干冰低温寄送，避免反复冻融。

4.1.2 粪便/肠道内容物

1. 待新鲜粪便或肠道内容物样本收集好后，按照 50μL/g 样本的比例添加浓度为 100mg/mL 叠氮化钠（若没有叠氮化钠可不加），混匀后分装样本至 200mg/管。
2. 然后立即用液氮速冻处理 15min 以上，保存至-80℃冰箱，足量干冰低温运送。

注意事项：

1. 叠氮化钠的作用是防腐杀菌，有毒，请万分小心。
2. 如果没有叠氮化钠，直接液氮速冻，保存至-80℃冰箱。
3. 由于粪便/肠道内容物中有非常多的微生物，微生物代谢速度非常快，所以反复冻融会对代谢水平有非常大的影响。强烈建议样本收集后，按照 200mg/sample 进行分装冻存，尤其是涉及多组学产品。
4. 若粪便/肠道内容物样品状态是固液混合物，需多取一些（取样量是根据含水量预估冻干后 50mg 以上的量）。

4.1.3 血清/血浆

注意：一定避免反复冻融。

4.1.3.1 血清

1. 血液收集在离心管中 37℃（或室温）静置 1h 进行凝固分层。
2. 然后 3000rpm 室温离心 10 分钟，取上清转至干净的离心管中。
3. 再 12000rpm、4℃离心 10 分钟，取上清分装到 1.5mL 离心管中，每管 0.2ml，-80℃冻存。足量干冰寄送。

注意事项：

1. 一定避免反复冻融。
2. 取血时如用酒精消毒，请擦干擦拭部位，待酒精完全挥发后再取样。
3. 血清参考产率：30%~50%（例如：1mL 全血大约能得 0.3~0.5mL 血清）。
4. 采全血时如使用真空采血管，请务必使用无预加抗凝剂的凝血管（帽盖为红色）。
5. 强烈推荐尽量多的收集样本并分装冻存（这样可以用来做很多实验，且避免反复冻融）。
6. 采集到的血清、血浆样本颜色应该是淡黄色透明或者半透明液体，如果发现样本中是红色，说明在样本采集过程中出现了溶血现象。溶血后会导致样本的代谢谱发生很大的变化，所以出现溶血的样本建议重新制备。
7. 确保样本收集过程的一致性，如血清样本要尽可能保证所有样品凝血时间的一致性。
8. 样本分装后必须确保离心管盖紧且样本编号标记清晰，干冰寄送时请确保干冰量足且样本埋藏于干冰深处，泡沫箱密封严实且不易破损（建议在泡沫箱外面套层纸箱）。

4.1.3.2 血浆

1. 应使用肝素钠抗凝管（真空采血管帽盖为绿色）或 EDTA 抗凝管（真空采血管帽盖为紫色）采集全血，并尽快进行血浆分离：3000rpm 室温离心 10 分钟（血样采集后室温放置需在 1h 之内进行离心。血样采集后冰上放置需在 2h 内进行离心）。
2. 取上层，0.2mL/管分装至 1.5mL 离心管中。-80℃冻存。足量干冰寄送。

注意事项：

1. 对于抗凝管的选择：代谢组学实验检测推荐使用肝素钠抗凝管（因为柠檬酸是 TCA 循环中的重要物质，使用柠檬酸钠抗凝剂的话会引入外源污染。而 EDTA 会影响 NMR 采谱。但肝素钠会对 RNA 相关实验有负面作用，主要是因为会抑制反转录酶活性。请根据自身具体情况选用合适的抗凝管）。
2. 最后分装保存推荐使用 1.5mL 离心管，因为螺口冻存管管帽内有一个橡胶垫圈，目的是为了密封。但是长期在-80℃/干冰低温下，橡胶圈会变硬脆，易脱落，导致密封不严，样本泄露。
3. 血浆参考产率：≈50%（例如：1mL 全血大约能得 0.5mL 血浆）。
4. 采集到的血清、血浆样本颜色应该是淡黄色透明或者半透明液体，如果发现样本中是红色，说明在样本采集过程中出现了溶血现象。溶血后会导致样本的代谢谱发生很大的变化，所以出现溶血的样本建议重新制备。

5. 确保样本收集过程的一致性，如血清样本要尽可能保证所有样品凝血时间的一致性。
6. 样本分装后必须确保离心管盖紧且样本编号标记清晰，干冰寄送时请确保干冰量足且样本埋藏于干冰深处，泡沫箱密封严实且不易破损（建议在泡沫箱外面套层纸箱）。

参考文献：

- [1] Yin P, Peter A, Franken H, et al. Preanalytical aspects and sample quality assessment in metabolomics studies of human blood[J]. Clinical chemistry, 2013: clinchem. 2012.199257.
- [2] Dunn W B, Broadhurst D, Begley P, et al. Procedures for large-scale metabolic profiling of serum and plasma using gas chromatography and liquid chromatography coupled to mass spectrometry[J]. Nature protocols, 2011, 6(7):

4.1.4 尿液

1. 预先配置叠氮化钠工作液（0.5mg/L），于-20℃保存。
2. 晨起中段尿（临床）或晨间 1 小时尿（动物）直接分装到离心管中，每管 1mL，并添加 10μL 叠氮化钠工作液。 -80℃冻存寄送。
3. 若叠氮化钠获取困难可用 1000rpm、4℃离心 5 分钟，0.22μm 滤膜过滤方法代替。

注意事项：

1. 动物 1 小时尿量不够，可分多次收集，如果需要收取 24h 尿液，请使用带有低温装置的代谢笼收取，并添加叠氮化钠。
2. 叠氮化钠的作用是防腐杀菌，有毒，请万分小心。

参考文献：

- [1] Fernández-Peralbo M A, Castro L D. Preparation of urine samples prior to targeted or untargeted metabolomics mass-spectrometry analysis[J]. Trends in Analytical Chemistry, 2012, 41(41):75-85.
- [2] Bernini P, Bertini I, Luchinat C, et al. Standard operating procedures for pre-analytical handling of blood and urine for metabolomic studies and biobanks.[J]. Journal of Biomolecular Nmr, 2011, 49(3-4):231-243.
- [3] Yuille M, Illig T, Hveem K, et al. Laboratory management of samples in biobanks: European consensus expert group report.[J]. Biopreservation & Biobanking, 2010, 8(1):65.

4.1.5 精液

1. 所有动物都是在相同的管理条件下饲养的，并得到相同的营养。收集 1mL 的精液样本。

2. 采样后立即 4℃、3000rpm 下离心 10min。
3. 分装上清液至 1.5mL 离心管中，液氮淬灭，-80℃低温保存，足量干冰寄送。

参考文献：

[1]Menezes E B, Velho A L C, Santos F et al. Uncovering sperm metabolome to discover biomarkers for bull fertility.[J]. BMC Genomics, 2019, 20: 714.

4.1.6 肺泡灌洗液

1. 采集 1ml 肺泡灌洗液样本于离心管中，4℃下 6000g 离心 10min。
2. 收集上清液，分装到 1.5ml 离心管中，放入液氮 30s。
3. -80℃冻存。足量干冰寄送。

注意事项：

1. 样本收集时仔细操作，避免污染。
2. 全程在低温下快速进行。
3. 将样本分装以便多次实验。

参考文献：

[1]Bertoldo M J, Nadal-Desbarats L, Gérard N, et al. Differences in the metabolomic signatures of porcine follicular fluid collected from environments associated with good and poor oocyte quality [J]. Reproduction, 2013: REP-13-0142.

4.1.7 腹腔渗透液

1. 收集 1mL 渗出液样本，4℃、3000rpm 下，离心 10min。
2. 分装上清液至 1.5mL 离心管中，-80℃冻存，干冰寄送。

注意事项：

1. 样本收集时仔细操作，避免污染。
2. 全程在低温下快速进行。
3. 将样本分装以便多次实验。

参考文献：

[1] Junka A , Wojtowicz W , Z Bek A , et al. Metabolic profiles of exudates from chronic leg ulcerations[J]. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2017, 137:13-22.

[2] Lam C W , Law C Y . Pleural Effusion Lipoproteins Measured by NMR Spectroscopy for Diagnosis of Exudative Pleural Effusions: A Novel Tool for Pore-Size Estimation[J]. Journal of Proteome Research, 2014, 13(9):4104-4112.

4.1.8 瘤胃液

1. 采集 1ml 瘤胃液样本于离心管中，6000g 室温离心 15min。
2. 收集上清液，用一次性 0.22um 无菌滤膜过滤。
3. 收集滤液分装到 1.5ml 离心管中，-80℃冻存，干冰寄送。

参考文献

[1]Saleem F, Bouatra S, Guo A C, et al. The bovine ruminal fluid metabolome[J]. *Metabolomics*, 2013, 9(2): 360-378

4.1.9 卵泡液

1. 将收集到的卵泡液立即 3000g、4℃下离心 20 分钟，取上清分装到 1.5mL 离心管中，每管 0.2mL。
2. -80℃冻存。足量干冰寄送。

注意事项:

1. 样本收集时仔细操作，避免血液污染。
2. 取样时如用麻醉剂，建议用异氟醚，防止在 NMR 血清谱图中出现干扰峰。
3. 强烈推荐尽量多的收集样本并分装冻存（这样可以用来做很多实验，且避免反复冻融）。

参考文献:

[1]Wen X . Estradiol, progesterone, testosterone profiles in human follicular fluid and cultured granulosa cells from luteinized pre-ovulatory follicles[J]. *Reproductive Biology & Endocrinology* Rb & E, 2010, 8(1):117.2.8

[2]Bertoldo M J, Nadal-Desbarats L, Gérard N, et al. Differences in the metabolomic signatures of porcine follicular fluid collected from environments associated with good and poor oocyte quality[J]. *Reproduction*, 2013: REP-13-0142.

[3]Chao D L B J M , Boueilh T , Simard G , et al. Targeted metabolomics reveals reduced levels of polyunsaturated choline plasmalogens and a smaller dimethylarginine/arginine ratio in the follicular fluid of patients with a diminished ovarian reserve[J]. *Human Reproduction*, 2017, 32(11):2269-2278.

4.1.10 脑脊液

1. 用不含任何添加剂的聚丙烯 EP 管收集脑脊液后，立即在 4℃、3000rpm 下离心 10min。
2. 收集上清至无菌 EP 管。-80℃冻存。足量干冰运输。

注意事项:

1. 样本需及时冷冻, 且避免反复冻融。
2. 取样后若样本不浑浊的情况下也可不进行离心, 立即-80℃冻存。

参考文献:

- [1]Stoop, Marcel P., et al. "Quantitative proteomics and metabolomics analysis of normal human cerebrospinal fluid samples." *Molecular & Cellular Proteomics* (2010): mcp-M110.
- [2]Öhman A, Forsgren L. NMR metabonomics of cerebrospinal fluid distinguishes between Parkinson's disease and controls[J]. *Neuroscience letters*, 2015, 594: 36-39.
- [3] Tsutsui H, Muguruma Y, Noda T, et al. Development of targeted metabolomics for the determination of ornithine cycle compounds as possible biomarkers in cerebrospinal fluid regarding to Alzheimer's disease pathology using UHPLC-ESI-MS/MS[J]. *Med Mass Spectrom.*, 2018.

4.1.11 痰液

1. 清晨痰量多, 含菌量亦大, 可先用洁口液, 再用凉开水或生理盐水漱口, 以除去口腔中细菌, 深吸气后用力咳出 1-2 口痰于广口无菌瓶中, 痰量极少可用 45℃、10%氯化钠溶液雾化吸入导痰。

2. 液化方法:

- a. 用注射器将痰液来回抽提并打出, 使得痰液混匀。-80℃冻存, 足量干冰运输。
- b. b.Sacomanno 液、二硫苏糖醇 (DTT) 液等体积混合, 1~2 倍体积加入到痰液中, 振荡液化 30min。-80 度冻存, 足联干冰运输。

备注:

- a.Sacomanno 液: 每 50ml 固定液中含 50%乙醇 48mL, 2%聚乙二醇 1mL、0.3%利福平 1mL。
- b.二硫苏糖醇液 (DTT): 0.1gDTT、0.78g 氯化钠、0.02g 氯化钾、0.112g 磷酸二氢钠、0.02g 磷酸二氢钾,加水至 2L, 使 DTT 浓度为 0.005%。

注意事项:

采样前 12h 禁食。

参考文献:

- [1] Quinn R A, Phelan V V, Whiteson K L, et al. Microbial, host and xenobiotic diversity in the cystic fibrosis sputummetabolome[J]. *Isme Journal*, 2015, 10(6) :1483-1498.
- [2] Lim Y W, Schmieder R, Haynes M, et al. Metagenomics and metatranscriptomics: windows

on CF-associated viral and microbial communities.[J]. Journal of Cystic Fibrosis, 2013, 12(2):154-164.

[3] Garcia MR, Rodriguez JC, Navarro JF, et al. Molecular epidemiology of tuberculosis in elche, spain[J]. J Med Microbiol, 2002, 51(3): 273-274.

4.1.12 唾液

1. 收集全唾液有不同的方法。无论采用何种方法，均应指导受试者在采集试验前至少 1h 内避免进食、饮水、吸烟或使用口腔卫生产品。用去离子水彻底漱口，并排空口腔唾液。受试者应舒适坐姿，睁眼，头部略微向前倾，并指导受试者休息 5min（采集未刺激的唾液），尽量减少口面部运动。收集 5 分钟。以下是采集全唾液最常用的三种方法：

a.引流法：放松，将唾液从下唇滴入装有漏斗的 50ml 离心管中。

b.吐痰法：让唾液积聚在口腔底部，受试者每 60 秒将唾液吐入 50ml 离心管中（提醒受试者不要咳出黏液）。

c.抽吸法：通过唾液抽吸器将口底的唾液持续抽吸到离心管中。

2. 采集后，将唾液标本 4℃、2600g 下离心 15min。

3. -80℃冻存，足量干冰运输。

参考文献

[1]Li Y, St. John M A R, Zhou X, et al. Salivary transcriptome diagnostics for oral cancer detection[J]. Clinical Cancer Research, 2004, 10(24):8442.

[2]Sugimoto M ,Wong D T, Hirayama A, et al. Capillary electrophoresis mass spectrometry-based saliva metabolomics identified oral, breast and pancreatic cancer-specific profiles[J]. Metabolomics, 2010, 6(1):78-95.

[3]The human saliva metabolome[J]. Metabolomics, 2015, 11(6):1864-1883.

[4]Navazesh M . Methods for collecting saliva.[J]. Annals of the New York Academy of Sciences, 2010, 694(1):72-77.

4.1.13 乳汁

1. 收集整个乳房中完整乳汁样本，并合并早晨与晚间的样本，以减少样本间的误差。

2. 采样后立即 4℃，3000rpm，离心 15min。

3. 分装上清液至 1.5mL 离心管中，液氮淬灭，-80℃低温保存，足量干冰寄送。

参考文献

[1].Isabel Ten-Doménech, Ramos-Garcia V , José David Pieiro-Ramos, et al. Current Practice in

Untargeted Human Milk Metabolomics[J]. *Metabolites*, 2020, 10(2). [2]. Saben J L , Sims C R , Piccolo B D , et al. Maternal adiposity alters the human milk metabolome: associations between nonglucose monosaccharides and infant adiposity[J]. *The American Journal of Clinical Nutrition*. [3]. Sun H Z , Wang D M , Wang B , et al. Metabolomics of four biofluids from dairy cows: potential biomarkers for milk production and quality.[J]. *Journal of Proteome Research*, 2015, 14(2):1287-1298.

4.1.14 阴道分泌物

1. 常规无菌生理盐水消毒外阴，用扩阴器扩张阴道。
2. 用无菌棉拭子拭取宫颈口或宫颈后穹窿的分泌物，紧贴阴道壁，轻微 360°旋转 5 次，放入 15ml 无菌聚丙烯锥管中，液氮淬灭。
3. -80℃冰箱保存，足量干冰寄送。

注意事项：

记录阴道检查结果及 pH 检测结果，且样本采集前 24~48h 禁欲、禁盆浴、禁阴道灌洗及局部上药。

参考文献：

[1]Nelson T M , Borgogna J C , Michalek R D , et al. Cigarette smoking is associated with an altered vaginal tract metabolomic profile[J]. *Scientific Reports*, 2018, 8(1):852.

[2]Kim TK, Thomas SM, Ho M, Sharma S, Reich CI, et al. (2009) Heterogeneity of vaginal microbial communities within individuals. *J Clin Microbiol* 47: 1181–1189

[1]NelsonTM,BorgognaJC,MichalekRD,etal.Cigarette smoking is associated with an altered vaginal tractmetabolomicprofile[J].*ScientificReports*,2018,8(1):852.

2.2.KimTK,ThomasSM,HoM,SharmaS,ReichCI,etal.(2009)Heterogeneityofvaginalmicrobialcommunitieswithinindividuals.*JClinMicrobiol*47:1181–1189

4.1.14 虫体

4.1.14.1 大虫体（肉眼可见，可称量）

1. 将虫体（果蝇、瓢虫等）用二氧化碳或乙醚麻醉，冰上收集到 1.5ml 离心管中进行称重。
2. 将离心管迅速放入液氮中 30s。
3. 在-80℃冰箱保存。干冰寄送。

4.1.14.2 小虫体（肉眼不可见，难称量）

1. 培养到预期的生长阶段后，快速收集虫体培养液，并 5000rpm、4℃ 离心 5min，使虫体与培养液分离。沉淀为虫体，记数，每个样本虫体个数至少 1×10^9 个。
2. 震荡 20min 左右以使其排空其肠道内容物。
3. 用预冷的 PBS 溶液多次清洗：1200rpm、4℃ 离心 5min，离心后去除上清。
4. 然后放到液氮中浸泡 ≥ 3 min 淬灭。放入 -80℃ 冰箱保存。送样时干冰寄送。

备注：最终的样本是在 1.5mL 的离心管中，且没有液体。

4.1.15 细胞

4.1.15.1 需淬灭剂细胞样本收集方法

淬灭试剂准备

1. 称取 85g AMBIC（碳酸氢铵）加入到 1000ml 超纯水中，得到 85g/L 的 AMBIC 溶液。
2. 然后量取 600mL 甲醇、100ml AMBIC(85g/L) 及 290ml 超纯水混合，用 12M 盐酸调节 pH 至 7.4，最后用超纯水定容至 1L 即可。

注意：由于 pH 的变化，淬灭试剂最好现配现用。

悬浮细胞[1]

1. 对细胞进行计数，计算 1×10^7 个细胞所需要的体积（即 1 体积）。
2. 取 5 体积的淬灭试剂于试管中（试管的体积应为大于等于 7 体积），置于 -20℃ 预冷。
3. 快速从细胞培养液中取出 1 体积的细胞，放入含有淬灭试剂的试管中。
4. 轻微震荡试管 10s，在 1000g、4℃ 下离心 1min，若细胞较小或细胞未沉淀，可适当加大转速或延长离心时间，但不宜一次提升太多，以防止细胞破损。
5. 除去上清。
6. 将细胞放入液氮，30s 后取出置于 -80℃ 保存。

贴壁细胞

（1）酶消化法[2]

1. 除去细胞培养基，迅速用预冷的 PBS 溶液清洗细胞，清洗两次。
2. 除去 PBS 溶液（一定要将 PBS 去除干净，越快越好）。
3. 消化：加入胰酶，消化至部分细胞呈球状。然后加入培养基，轻轻晃动，使培养基浸润细胞终止消化，吸出剩余培养基。加入 PBS 吹打，悬浮细胞。（目的是把贴壁细胞消化下来，方便后继处理，加入的溶液量及孵育时间可以根据自己实验室具体情况进行修改）。

4. 快速计数，取 1×10^7 个细胞所需要的体积（即 1 体积）。
5. 快速放入预冷的 5 体积的淬灭试剂中，轻微震荡离心管 10s。
6. 转子 -20°C 预冷，在 4°C 、1000g 条件下离心 1min，若细胞较小或未沉淀，可适当加大转速或延长离心时间，但不宜一次提升太多，以防止细胞破损。
7. 除去上清，将细胞放入液氮中，30s 后取出保存在 -80°C 中。

（2）刮细胞法（针对很难用酶消化下来的贴壁细胞）[2]

1. 除去细胞培养基，迅速用预冷的 PBS 溶液清洗细胞，清洗两次。
2. 除去 PBS 溶液（越快越好）。（不能计数的话，建议测代谢物之前做蛋白定量）。
3. 加入 5 体积淬灭试剂淬灭后用细胞刮分离细胞，将刮下的细胞转入离心管中。
4. 在 4°C 、1000g 条件下离心 1min 去除上清。
5. -80°C 保存，干冰运输。

注意事项：

1. 取对数生长期，培养至同一时期的细胞，建议多准备样本，以备后续使用。
2. 液氮处理细胞时，注意防止离心管破碎导致样本受损。
3. 为防止样本收集过程中细胞膜破裂，建议在全程操作不宜过度剧烈，切勿涡旋震荡、高速离心或超声等，同时避免反复冻融，以保证细胞膜不会破损，减少代谢组学分析影响。
4. PBS 清洗时，切勿冲走细胞，清洗充分后，尽量将 PBS 完全倒掉。

参考文献

[1] Christopher A Sellick, Metabolite extraction from suspension-cultured mammalian cells for global metabolite profiling, nature protocol, 2011.

[2] Rahul Vijay Kapoore, Cell line dependence of metabolite leakage in metabolome analyses of adherent normal and cancer cell lines, metabolomics, 2015.

4.1.15.2 无需淬灭剂细胞样本收集方法（备选方法，不便配置淬灭试剂时可采用）

悬浮细胞

1. 直接从培养基中取出细胞悬浊液，装入 15ml 离心管。
2. 1200rpm、 4°C 下离心 5min。离心后去除上清，沉淀为细胞，记数，每个样本细胞个数至少 1×10^7 个。

3. 然后向细胞中加入预冷的 PBS，混匀后转入 1.5ml 的离心管中。900rpm、4℃离心 3min，将上清去除。重复清洗细胞 3 次。

4. 然后放到液氮中浸泡 $\geq 3\text{min}$ 淬灭。放入-80℃冰箱保存。送样时干冰寄送。

备注：最终的细胞是在 1.5mL 的离心管中，且没有液体。

贴壁细胞

(1) 刮细胞法[3]

1. 除去细胞培养基，迅速用预冷的 PBS 溶液清洗细胞，需多次清洗。

2. 除去 PBS 溶液（越快越好），进行细胞计数（不能计数的话，建议测代谢物之前做蛋白定量）。

3. 用细胞刮将细胞刮入离心管中。

4. 将 EP 管迅速放入液氮中 $\geq 3\text{min}$ 。

5. 在-80℃冰箱保存。干冰寄送。

(2) 酶消化法[4]

1. 除去细胞培养基，迅速用预冷的 PBS 溶液清洗细胞，清洗两次。

2. 除去 PBS 溶液（一定要将 PBS 去除干净，越快越好）。

3. 消化：加入胰酶，消化至部分细胞呈球状。然后加入培养基，轻轻晃动，使培养基浸润细胞终止消化，吸出剩余培养基。加入 PBS 吹打，悬浮细胞。（目的是把贴壁细胞消化下来，方便后继处理，加入的溶液量及孵育时间可以根据自己实验室具体情况进行修改）。

4. 快速计数，取 1×10^7 个细胞所需要的体积（即 1 体积）。

5. 转子-20℃预冷,在 4℃、1000g 条件下离心 1min，若细胞较小或未沉淀，可适当加大转速或延长离心时间，但不宜一次提升太多，以防止细胞破损。

6. 去除上清，迅速放入液氮速冻 30s，-80℃保存。干冰寄送。

参考文献

[1] Dehui Xu, Yujing Xu et al. Alteration of metabolite profiling by cold atmospheric plasma treatment in human myeloma cells. *Cancer Cell Int.* 2018.

[2] Zuzana Racovaa, Eva Anzenbacherova, et al. Metabolite profiling of natural substances in human: in vitro study from fecal bacteria to colon carcinoma cells (Caco-2). *Journal of Nutritional Biochemistry.* 2020.

[3] Sarah Hayton, Arth L. Maker et al. Experimental design and reporting standards for metabolomics studies of mammalian cell lines. *Cellular and Molecular Life*

Sciences. 2017.

[4]Katja Dettmer,Nadine Nürnberger et al. Metabolite extraction from adherently growing mammalian cells for metabolomics studies: optimization of harvesting and extraction protocols.

Anal Bioanal Chem. 2011.

4.1.16 细胞培养液

1. 将培养液摇匀，快速从培养瓶中取出一定量的培养液，4℃条件下离心（1000g，10min）。
2. 移取上清 10mL 至新的离心管中，迅速放入液氮中淬灭 30s。
3. 淬灭后放入-80℃中保存。

注意事项：

寄送样本使请放入足量的干冰以保持低温条件（经验值：快递途中干冰消耗率约为 5KG/天，消耗速度与气温，泡沫箱厚度(>5cm)有直接关系，请酌情添加干冰）。

参考文献：

[1] Silas G.Villas-Boas, Extracellular metabolomics: A metabolic footprinting approach to assess Wber degradation in complex media.Analyticalbiotechnology, 2005.

[2] Hanna Meyer, Hendrikje Weidmann, Methodological approaches to help unravel the intracellular metabolome of Bacillus subtilis. Microbial Cell Factories2013, 12:69.

[3] Farhana R. Pinu, Analysis of Intracellular Metabolites from Microorganisms:uenching and Extraction Protocols, metabolites, 2017.

4.2 植物类

4.2.1 叶、茎、花、节、芽、愈伤组织

1. 取整片叶片/一段茎/一朵花，放入预先做好标记的离心管中，迅速放入液氮中冷冻处理至少 15min。
2. 取出后迅速放入-80℃冰箱冻存。足量干冰寄送。

注意事项：

1. 采集叶片样本时，最好在中午光照好的时间收集。
2. 要根据实验设计，采集样本时保持样本一致性，尤其是同一组样本（颜色、衰老程度、叶脉占比、光照、位置等）。

4.2.2 根

1. 取整株植物的根部，迅速用 PBS 漂洗掉根上的泥土。

2. 根据具体实验设计取植株根特定的部位，500mg/sample 装入离心管中。
3. 标号后迅速放入液氮中冷冻处理至少 15min。
4. -80℃冻存。足量干冰寄送。

注意事项：

1. PBS 漂洗时间要尽快。
2. 由于根部组织特别脆弱，被挤压后会变成浆糊状，所以推荐保存至离心管中，而不是锡箔纸包裹。

4.2.3 种子

1. 对于细小、含水低的颗粒种子（拟南芥种子、谷物种子等），可以先将同一组的植株种子混匀后再分装（≈200mg/sample）至 1.5mL 离心管中。
2. 标号后迅速放入液氮中冷冻处理至少 15min。
3. -80℃冻存。足量干冰寄送。

4.2.4 果皮

1. 对于苹果、橘子等果实的果皮需要将其从果实剥离下来且剥离干净避免果肉等影响。
2. 再用锋利的刀分割成“均匀”合适的小块分装至 50m 离心管中，标号后迅速放入液氮中冷冻处理至少 15min。
3. 若果皮特殊：含水量大。如有条件，尽量冻干，冻干粉至少 100mg，若无条件，鲜样根据含水量进行评估送样量，尽量多送。

备注：在采取果实的平均样品时，如桃、梨、苹果、柑橘等果实，即使是从同一株果树上取样，也应考虑到果枝在树冠上的各个不同方位和部位以及果实体积的大、中、小和成熟度上的差异，按各自相关的比例取样，再混合成平均样品。

4.2.5 果实、果肉、果汁

1. 对于含多汁、块头较大的果实（番茄、西瓜、苹果等）需要先用锋利的刀分割成“均匀”合适的小块分装至 50m 离心管中，标号后迅速放入液氮中冷冻处理至少 15min。
2. 对于要求对整个果实进行提取的（整粒葡萄等），需要把果实装在 50mL 离心管中迅速放入液氮中冷冻处理至少 15min。
3. 对于果肉样本，首先是将果皮等可能对结果带来干扰的剥离干净，然后用锋利的刀分割成“均匀”合适的小块分装至 50m 离心管中，标号后迅速放入液氮中冷冻处理至少 15min。
4. 对于果汁样本，需要把果汁装在离心管中迅速放入液氮中冷冻处理至少 15min。

5. 果实、果肉、果汁含水量大，如有条件，尽量冻干，冻干粉至少 100mg。若无条件，鲜样根据含水量进行评估送样量。

注意事项：

1. 对多汁的果实进行取样很难保持均一性（如番茄，皮、果肉、果瓢、籽的占比），强烈建议将整个果实进行研磨、冻干，对粉末进行称重分装。
2. 不推荐用锡箔纸包裹。

参考文献：

[1]De Vos R C, Moco S, Lommen A, et al. Untargeted large-scale plant metabolomics using liquid chromatography coupled to mass spectrometry.[J]. Nature Protocols, 2007, 2(4):778-791.

[2]Kim H K, Choi Y H, Verpoorte R. NMR-based metabolomic analysis of plants[J]. Nature Protocols.

4.2.6 根系分泌物

1. 取整株植物的根部，用流动的去离子水或 PBS 迅速清洗植物的整个根系，以除去营养液/泥土。
2. 将整个根系浸入装有 20-50ml 去离子水玻璃容器中，去离子水体积取决于根系的大小，若原本种植于土壤中，容器可用铝箔覆盖以为根部创造黑暗条件。
3. 将根在与植物生长相同的受控气候条件下在水中放置 2-6h，立即收集根系分泌物溶液，冷冻干燥成冻干粉，精确称量重量，保存于 1.5ml 离心管中。具体收集时间可根据冻干粉量来调节，不够的话可以适当延长时间。
4. 若无条件冻干，直接送液体，需实验室冻干后方能确认样品量是否能满足正常启动量。
5. 4.-80℃ 保存，干冰运输。

注意事项：

1. 根部清洗需快速，并冲洗干净。
2. 根系分泌物所需体积和收集时间，因植物根部分泌物量和速度不同，需要根据最终冻干粉的量来定。
3. 因粉末在寄送过程中容易分散到管壁，不好称重。冻干粉最好能准确记录重量，实验过程中直接用管中所有的干粉，这是冻干粉不足的情况下可做此操作。
4. 若无冻干条件，直接送根系分泌物至少 50ml，因不同样本根系分泌物的浓度可能不同，因此具体的量以实验室冻干后评估结果为准。

参考文献:

- [1] Yuting Wang, Wenjie Ren, Yan Li, et al. Nontargeted metabolomic analysis to unravel the impact of di(2-ethylhexyl) phthalate stress on root exudates of alfalfa (*Medicago sativa*). *Science of the Total Environment* 2018.
- [2] Khorassani R, Hettwer U, Ratzinger A, Steingrobe B, Karlovsky P, Claassen N. 2011. Citramalic acid and salicylic acid in sugar beet root exudates solubilize soil phosphorus. *BMC Plant Biology* 11:121.
- [3] Luo Q, Wang S, Sun L N, et al. Metabolic profiling of root exudates from two ecotypes of *Sedum alfredii* treated with Pb based on GC-MS[J]. *Scientific Reports*, 2017, 7:39878.
- [4] Zhao L, Huang Y, Hu J, et al. ¹H NMR and GC-MS based metabolomics reveal defense and detoxification mechanism of cucumber plant under nano-Cu stress[J]. *Environmental Science & Technology*, 2016:acs.est.5b05011.

4.3 微生物类

4.3.1 测胞内代谢物——菌沉淀、丝状真菌及蕈菌

菌体数量: 需要菌体的数量为 1×10^7 cells (此为一次实验的用量, 最好收集两次实验的用量, 分两个离心管存放), **样本信息登记单需填写精确计数结果。**

取样时间: 菌体生长指数中期 (mid-log)

4.3.1.1 适用菌属: 大肠杆菌 (*E.coli*) [1,2]

- 测细菌 OD (Mid-log 期), 计算 1×10^7 个菌体所需要的培养液体积。
- 快速收集细菌培养液, 并迅速在 4°C 条件下离心 (1000g, 10min) 使细菌与培养液分离。
- 除去上清培养液, 将细菌快速浸入液氮中进行淬灭, 30s。
- 淬灭后在冰上解冻, 用 1XPBS 缓冲液 (在 4°C 或 -20°C 中预冷) 洗去残留的培养液, 然后离心 (1000g, 4°C, 10min) 除去 PBS 缓冲液。
- 保存在 -80°C 中。

4.3.1.2 适用菌属: 酵母菌及非丝状真菌 [3]

- 测菌体 OD (Mid-log 期), 计算 1×10^7 个菌体所需要的培养液体积。
- 20°C 下预冷淬灭溶液 (甘油盐溶液, pure glycerol and sodium chloride solution (13.5g/L) to a final ratio of 3:2 (v/v))。
- 迅速转移细菌培养液至淬灭溶液中 (培养液: 淬灭溶液=1:4)。

d.轻轻摇匀，放入预冷条件下 5min。

e.-20℃下离心 20min（36086g）。

f.移除上清，保存于-80℃。

注意事项：

1. 寄送样本使请放入足量的干冰以保持低温条件（经验值：快递途中干冰消耗率约为 5KG/天，消耗速度与气温，泡沫箱厚度(>5cm)有直接关系，请酌情添加干冰）。
2. 微生物代谢速度非常快，因此所有的步骤需要尽快完成。
3. 不同样本收集的菌体数量应一致。

参考文献：

[1] Bertini I, Hu X, Luchinat C. Global metabolomics characterization of bacteria: pre-analytical treatments and profiling [J]. *Metabolomics*, 2014, 10(2):241-249.

[2] Hanna Meyer, Hendrikje Weidmann, Methodological approaches to help unravel the intracellular metabolome of *Bacillus subtilis*. *Microbial Cell Factories* 2013, 12:69.

[3] Kathleen F Smart, Analytical platform for metabolome analysis of microbial cells using methyl chloroformate derivatization followed by gas chromatography– mass spectrometry, *nature protocols* | VOL.5 NO.10 | 2010.

4.3.1.3 适用菌属：丝状真菌及蕈菌（大型真菌）

1. 取足量的样本，放入预先做好标记的离心管中，迅速放入液氮中冷冻处理至少 5min。取样时注意不要混入泥土等污染物。
2. 取出后迅速放入-80℃冰箱冻存。足量干冰寄送。

4.3.2 测胞外代谢物——菌上清液

1. 将培养液摇匀，快速从培养瓶中取出一定量的培养液，1000g、4℃条件下离心 10min。
2. 移取上清 1ml 至新的离心管中,迅速放入液氮中淬灭 30s。
3. 淬灭后放入-80℃中保存。

注意事项：

1. 寄送样本使请放入足量的干冰以保持低温条件（经验值：快递途中干冰消耗率约为 5KG/天，消耗速度与气温，泡沫箱厚度(>5cm)有直接关系，请酌情添加干冰）。

4.3.3 发酵液/菌液

1. 根据研究目的选择合适培养基和菌种进行培养。

2. 收集菌液：将其快速摇匀，取出 1ml 左右的菌液，快速浸入液氮中进行淬灭 30s。
3. 淬灭后保存在-80℃中，干冰寄送。

4.3.4 发酵物

1. 取足量的样本，放入预先做好标记的离心管中，迅速放入液氮中冷冻处理至少 5min。冷冻干燥成冻干粉准确称量重量，冻干粉不少于 20mg（若无冻干条件，可根据样本含水量评估鲜样量）。
2. 取出后迅速放入-80℃冰箱冻存。足量干冰寄送。

4.4 其他

4.4.1 土壤

4.4.1.1 农耕土壤样本

1. 采样原则

采样时应沿着一定的线路，按照“随机”、“等量”和“多点混合”的原则进行采样。要避免路边、田埂、沟边、肥堆等特殊部位,同时避免选取土地表面有杂草，碎石等其他非土壤杂物多的地点，否则应在取样前先除去杂物。同一采样单元内的差异性要尽可能地小，不同采样单元之间的差异性要尽可能地大。

2. 采样方法

在确定的采样点上，先用小土铲去掉表层 3mm 左右的土壤，然后倾斜向下切取深度至 30cm 处的土壤。取出土壤后放入无菌袋中，然后迅速放入冰块中储存。将各采样点土样集中一起混合均匀，按需要量装入袋中带回。尽量避免碎石、砂砾、植物残体等。

3. 样本处理：

取样品 3g/sample，冷冻干燥，然后用直径为 2mm 的筛子过筛（为了避免重复性差，需过筛，将石头、木屑等筛选出去），保存至-80℃冰箱，足量干冰低温运送。

参考文献：

[1] The Preparation of Soil Samples for Chemical Analysis.G. M. MacNider; Journal of Industrial & Engineering Chemistry 1909 1 (7).

[2] Bartlett, R. J. and B. R. James. 1980. Studying dried, stored soil samples--some pitfalls. Soil Sci. Soc. Am. J.

[3] Stefan Jenkins, Tami L. Swenson. 2017. Construction of viable soil defined media using quantitative metabolomics analysis of soil metabolites. Frontiers in microbiology, 22.

4.4.1.2 植物根际土壤

1. 从土壤中取出植物完整根系。
2. 确认待取样本：根际土壤通常指植物根际附近 1~2mm 的土壤。
3. 抖去根附近的浮土，刮取依然黏在根上的根际土壤。
- 3.取样品 3g/sample，冷冻干燥，保存至-80℃冰箱，足量干冰低温运送。

参考文献：

[1]David J. Beale .Microbial Metabolomics: Applications in Clinical, Environmental, and Industrial Microbiology [M]. Springer International Publishing, 2016: 160-161.

[2]Jun Y , Jun Z , Tao W , et al. Root exudates drive the soil-borne legacy of aboveground pathogen infection[J]. Microbiome, 2018 Sep 12;6(1).

4.4.2 肉汤

1. 将煮好的汤混合物用纱布过滤。
2. 滤液 4℃、11000g 下离心 20min，取出上清液。
3. 再用 0.22μm 超滤膜再次过滤上清液。
4. 过滤好的液体收集分装到 1.5mL 离心管中，每管 1mL，液氮淬灭，-80℃保存。送样的时候干冰运输。

备注：由于肉汤代谢物多少与汤的浓稠度有关系，所以建议样本间条件均保持一致，肉汤样本量好取的情况下，分装保存，多提供几管，用于备用。

参考文献：

[1] Bi, H., Cai, D., Zhang, R., Zhu, Y., Zhang, D., Qiao, L., & Liu, Y. (2019). Mass Spectrometry-Based Metabolomics Approach to Reveal Differential Compounds in Pufferfish Soups: Flavor, Nutrition, and Safety. Food Chemistry, 125261.