

**Supporting Information for**  
**A non-targeted high-coverage microbial metabolomics pretreatment method**  
**development and application in drug resistant Salmonella**

YiYun Zhang<sup>1</sup>, Jian Ji<sup>1\*</sup>, MengZhe Lan<sup>2</sup>, Tingwei Wang<sup>1</sup>, Xiulan Sun<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>State Key Laboratory of Food Science and Technology, School of Food Science and Technology,  
National Engineering Research Center for Functional Food, Collaborative Innovation Center of Food  
Safety and Quality Control in Jiangsu Province, Jiangnan University, Wuxi, Jiangsu 214122, People's  
Republic of China

<sup>2</sup> Guangzhou GRG Metrology & Test Co., Ltd., Guangzhou 510630, China

Corresponding author\*: Xiulan Sun, Jian Ji

Address: Jiangnan University, 1800 Lihu Avenue, Wuxi, Jiangsu 214122, China.

E-mail: [sxlzyz@jiangnan.edu.cn](mailto:sxlzyz@jiangnan.edu.cn);

Tel:+86-510-85912330

Fax: 85329015

**Table S1 Metabolites with significant differences in abundance under two quenching methods (fold change value >2 or <0.5 and p value <0.05)**

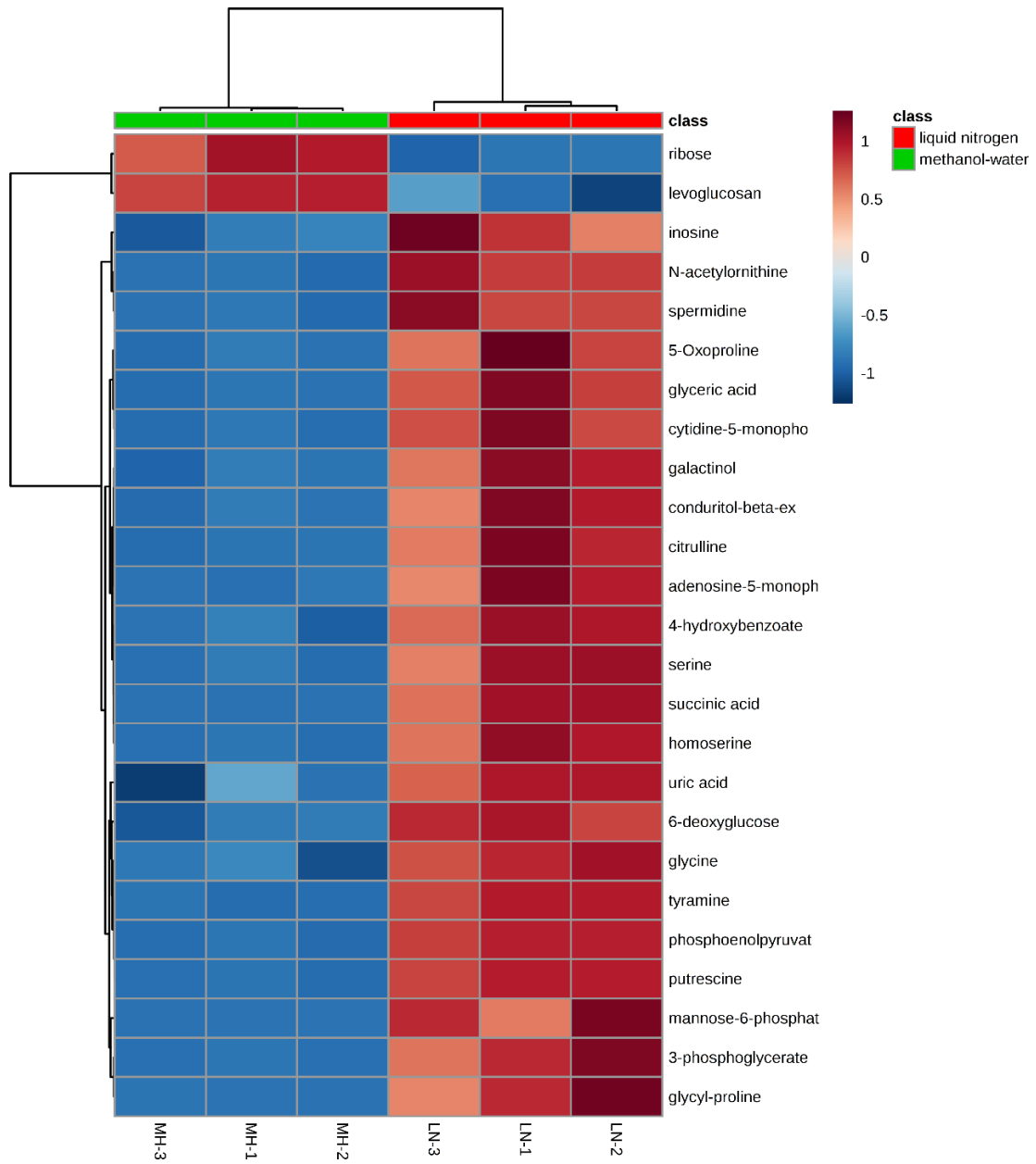
<b>Metabolite name</b>	<b>classify</b>	<b>Fold Change</b>	<b>P-value</b>
2,6-diaminopimelic acid	Amino acid	3.77	0.030132
4-aminobutyric acid	Amino acid	13.2	0.004525
5-Aminovaleric acid	Amino acid	18.22	0.001444
5-Oxoproline	Amino acid	6.75	0.000788
alanine	Amino acid	4.7	0.001054
alpha-aminoadipic acid	Amino acid	13.42	0.001543
aspartic acid	Amino acid	5.87	0.014889
beta alanine	Amino acid	6.79	0.012241
citrulline	Amino acid	12.45	0.00047
cysteine	Amino acid	14.71	0.004548
cysteine-glycine	Amino acid	11.08	0.001049
glutamic acid	Amino acid	14.6	0.002425
glutamine	Amino acid	8.95	0.017625
glycine	Amino acid	4.01	0.000139
glycyl-proline	Amino acid	21.77	0.000749
histidine	Amino acid	64.98	0.002143
homocystine	Amino acid	12.94	0.001064
homoserine	Amino acid	43.88	0.000255
isoleucine	Amino acid	11.97	0.001154
L-pipecolic acid	Amino acid	7.05	0.001455
lysine	Amino acid	37.77	0.006913
methionine	Amino acid	5.76	0.001111
methionine sulfoxide	Amino acid	2.05	0.003257
N-acetylmethionine	Amino acid	12.23	0.000021
ornithine	Amino acid	28.58	0.001072
phenylalanine	Amino acid	12.39	0.002631
proline	Amino acid	7.2	0.001499
serine	Amino acid	3.99	0.000448
threonine	Amino acid	4.09	0.004556
tyrosine	Amino acid	7.26	0.002245
1,5-anhydroglucitol	Carbohydrate	11.99	0.001633
1-Deoxypentitol	Carbohydrate	4.58	0.003404
3-phosphoglycerate	Carbohydrate	20.29	0.000335
6-deoxyglucose	Carbohydrate	5.13	0.000036
fructose	Carbohydrate	3.11	0.012088
fructose-1-phosphate	Carbohydrate	7.78	0.000999
galactinol	Carbohydrate	9.22	0.000358
galactitol	Carbohydrate	2.31	0.004864
galactose	Carbohydrate	2.04	0.001911

glucose-6-phosphate	Carbohydrate	4.64	0.033028
glyceric acid	Carbohydrate	8.99	0.000171
maltose	Carbohydrate	2.49	0.022316
mannose-6-phosphate	Carbohydrate	66.61	0.000492
myo-inositol	Carbohydrate	8.54	0.001104
pantothenic acid	Carbohydrate	15.39	0.002114
pentonic acid	Carbohydrate	4.99	0.003636
pyrophosphate	Carbohydrate	9.42	0.001911
ribonic acid	Carbohydrate	3.44	0.002408
ribose-5-phosphate	Carbohydrate	7.98	0.023842
tagatose	Carbohydrate	3.42	0.008776
threonic acid	Carbohydrate	38.89	0.004951
trehalose	Carbohydrate	11.71	0.030036
1-monopalmitin	Lipid	2.01	0.030055
2-monopalmitin	Lipid	2.35	0.032797
Beta-Glutamic acid	Lipid	14.38	0.002461
Galactosylglycerol	Lipid	8.37	0.001919
isohexonic acid	Lipid	9.64	0.002598
5'-deoxy-5'-methylthioadenosine	Nucleoside	3.97	0.002896
adenosine-5-monophosphate	Nucleoside	8.62	0.000728
cytidine-5-monophosphate	Nucleoside	4.45	0.000177
inosine	Nucleoside	9.2	0.000986
inosine-5'-monophosphate	Nucleoside	10.06	0.0014
UDP-N-acetylglucosamine	Nucleoside	3.09	0.016126
uridine	Nucleoside	2.22	0.010123
uridine-5-monophosphate	Nucleoside	26.78	0.010945
xanthosine	Nucleoside	9.65	0.005173
malate	Others	40.23	0.005542
N-acetylputrescine	Others	4.71	0.004125
phosphoenolpyruvate	Others	12.12	0.000003
succinic acid	Others	75.34	0.000196
putrescine	Others	15.52	0.000005
spermidine	Others	7.78	0.000102
2,5-Dihydroxypyrazine	Others	3.99	0.027092
5,6-dihydrouracil	Others	32.52	0.008658
5-methoxytryptamine	Others	43.87	0.006689
adenine	Others	3.03	0.001096
conduritol-beta-expoxide	Others	11.79	0.000623
dehydroascorbic acid	Others	15.03	0.001105
guanine	Others	8.6	0.00781
hypoxanthine	Others	112.07	0.00312
nicotinamide	Others	5.4	0.002057
nicotinic acid	Others	3.26	0.002936
serotonin	Others	9.46	0.011313

uracil	Others	7	0.01203
uric acid	Others	6.83	0.000896
xanthine	Others	48.42	0.005879
p-Hydroxyphenyl lactic acid	Others	15.87	0.010684
4-hydroxybenzoate	Others	9.99	0.000202
noradrenaline	Others	14.26	0.001581
tyramine	Others	49.24	0.000007

---

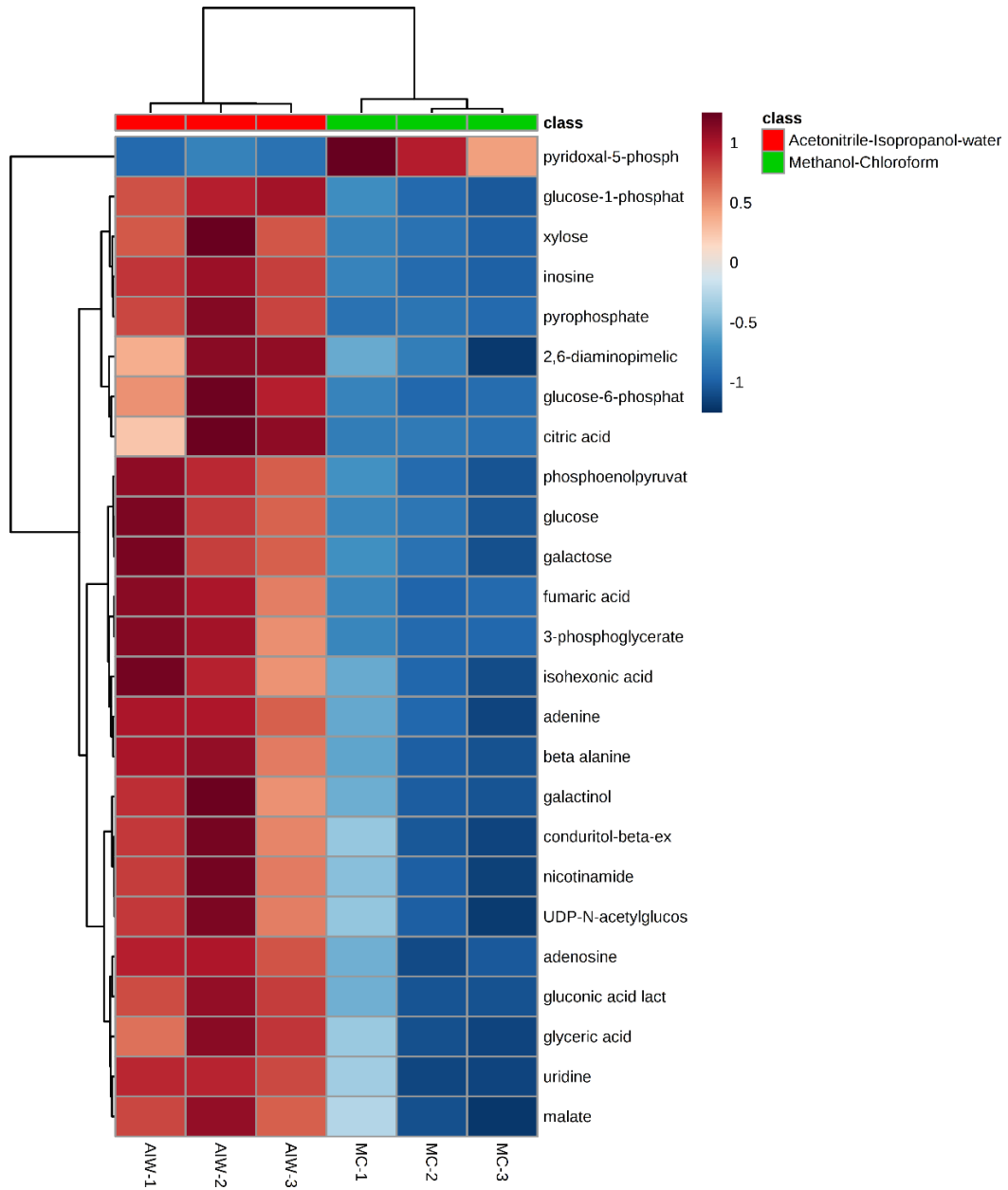
**Fig S1 The top 25 metabolites with the most significant difference between the two quenching methods through the T test**



**Table S2 Metabolites with significant differences in abundance under three extraction solvent (fold change value >2 or <0.5 and p value <0.05)**

<b>Metabolite Name</b>	<b>Classify</b>	<b>Fold Change</b>	<b>p.value</b>
2,6-diaminopimelic acid	Amino acid	3.2088	0.0051113
aspartic acid	Amino acid	2.1106	0.020952
beta alanine	Amino acid	2.2397	0.001199
glutathione	Amino acid	0.13926	0.040811
histidine	Amino acid	0.34598	0.044294
methionine sulfoxide	Amino acid	0.33335	0.011716
3-phosphoglycerate	Carbohydrate	9.0154	0.00094222
galactinol	Carbohydrate	3.6639	0.0029633
galactose	Carbohydrate	3.1917	0.00056296
galactose-6-phosphate	Carbohydrate	5.9416	0.0079469
glucose	Carbohydrate	3.3626	0.00043157
glucose-1-phosphate	Carbohydrate	7.2806	0.00011491
glucose-6-phosphate	Carbohydrate	6.0987	0.0011837
glyceric acid	Carbohydrate	2.4575	0.0037233
mannose-6-phosphate	Carbohydrate	3.7523	0.019332
pyrophosphate	Carbohydrate	4.6509	0.00010311
trehalose	Carbohydrate	0.34233	0.012641
xylose	Carbohydrate	5.3663	0.00057144
dodecanol	Lipid	0.34014	0.040288
hexadecylglycerol	Lipid	0.36881	0.022847
isohexonic acid	Lipid	2.3676	0.0026692
isopentadecanoic acid	Lipid	3.1938	0.011571
adenosine	Nucleoside	2.2897	0.0008171
adenosine-5-monophosphate	Nucleoside	2.2483	0.0076484
inosine	Nucleoside	6.031	0.000041715
UDP-N-acetylglucosamine	Nucleoside	3.2868	0.0041404
uridine	Nucleoside	2.9029	0.0027882
uridin-5-monophosphate	Nucleoside	11.624	0.0059412
xanthosine	Nucleoside	2.5404	0.041721

**Fig S2 The top 25 metabolites with the most significant difference under three extraction solvent through the T test**

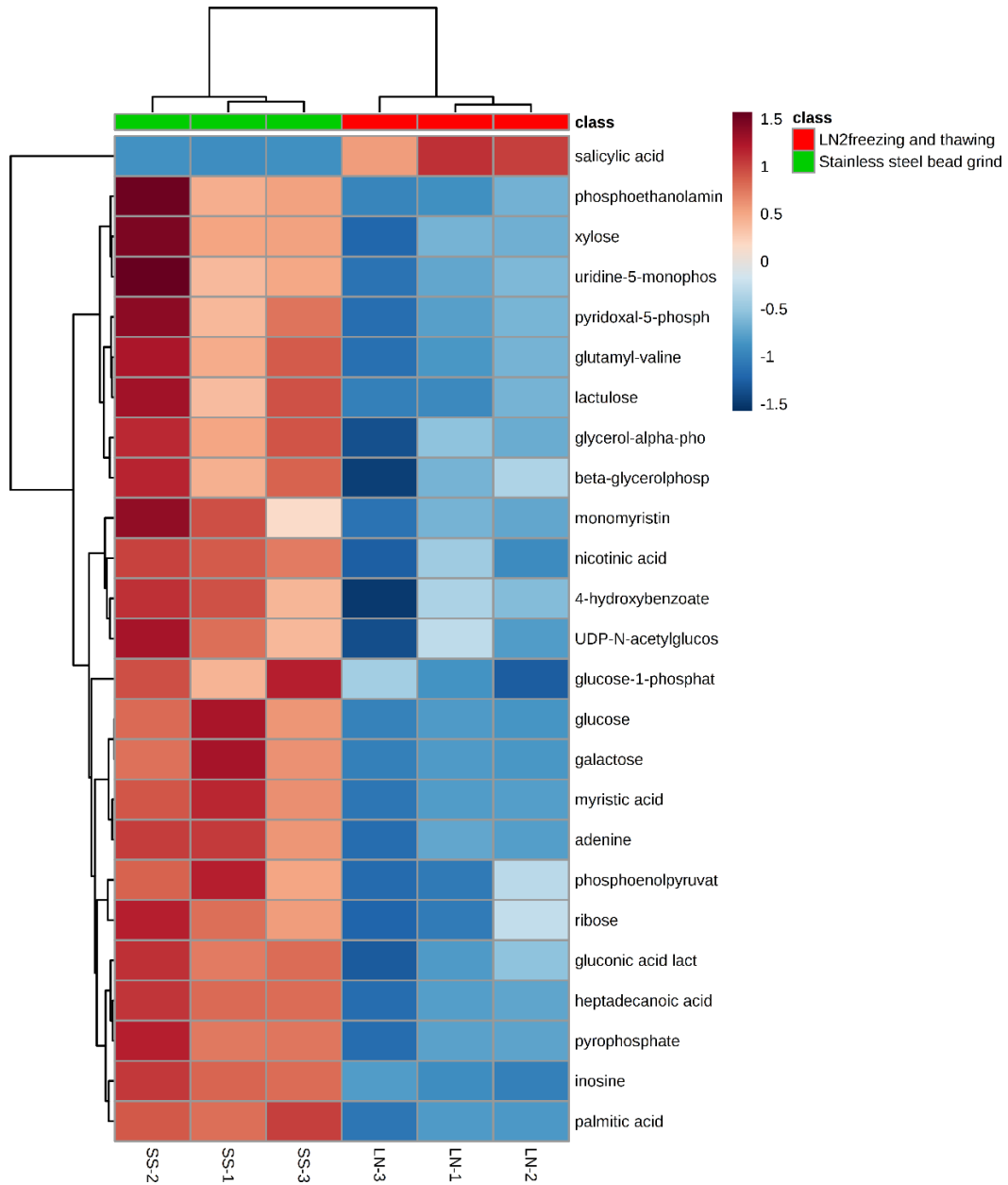


**Table S3 Metabolites with significant differences in abundance under two extraction methods (fold change value >2 or <0.5 and p value <0.05)**

<b>Metabolite</b>	<b>Classify</b>	<b>Fold Change</b>	<b>p.value</b>
1-monoheptadecanoyl glyceride	Lipid	0.44429	0.025073
2-monopalmitin	Lipid	0.49303	0.026122
creatinine	Amino acid	0.31216	0.02528
galactose-6-phosphate	Carbohydrate	0.38547	0.022987
glucose	Carbohydrate	0.48719	0.000978
glucose-6-phosphate	Carbohydrate	0.4311	0.01696
glutamyl-valine	Amino acid	0.42928	0.002842
glycyl tyrosine	Amino acid	0.25701	0.032624
hexadecylglycerol	Lipid	0.41223	0.019619
inosine	Nucleoside	0.25482	5.4E-05
lactulose	Carbohydrate	0.4687	0.003982
monomyristin	Lipid	0.38332	0.012668
myristic acid	Lipid	0.4143	0.000548
palmitic acid	Lipid	0.47668	8.11E-05
pyrophosphate	Carbohydrate	0.37944	0.000799
salicylic acid	Benzenoids	5.2428	0.000468
uridine-5-monophosphate	Nucleoside	0.2811	0.016056



**Fig S3 The top 25 metabolites with the most significant difference between the two extraction methods through the T test**



**Table S4 The RSD values for all metabolites**

Amino acid	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
isoleucine	0.1865	0.1305	0.6586	0.0574	0.1976	0.2245	0.1555	0.125	0.0419	0.052	0.094	0.1697
proline	0.1797	0.2854	0.4094	0.1248	0.2992	0.3335	0.1471	0.2907	0.2042	0.2115	0.2324	0.7348
glycine	0.2261	0.0809	0.3611	0.0542	0.348	0.1166	0.0483	0.0981	0.115	0.0627	0.69	0.3431
serine	0.0615	0.1357	0.3133	0.376	0.3605	0.4329	0.0914	0.1866	0.1945	0.2133	0.0398	0.3392
L-pipecolic acid	0.1221	0.078	0.0927	0.1284	0.06	0.162	0.1545	0.0891	0.0796	0.0176	0.0547	0.1034
threonine	0.1079	0.0359	0.3933	0.1839	0.3216	0.594	0.171	0.1073	0.1028	0.5427	0.0394	0.3017
beta alanine	0.2145	0.0723	0.2019	0.1513	0.9498	0.2862	0.276	0.0685	0.0913	0.0208	0.1018	0.1486
homoserine	0.4659	0.3523	0.4359	0.1804	0.2762	0.2424	0.1123	0.0313	0.1213	0.1827	0.0877	0.2365
trans-4-hydroxy-L-proline	0.0652	0.066	0.0748	0.1367	0.0062	0.023	0.142	0.0285	0.0914	0.0786	0.1015	0.2898
3-aminoisobutyric acid	0.0659	0.7077	0.9322	0.074	0.1126	0.3488	0.1159	0.1274	0.6609	0.0198	0.0709	0.1282
aspartic acid	0.1216	0.1066	0.6226	0.2025	0.4724	0.5816	0.2856	0.1136	0.1431	0.0667	0.2259	0.3512
methionine	0.1195	0.0852	0.6373	0.047	0.7687	0.166	0.1259	0.1457	0.081	0.0249	0.377	0.2338
5-Oxoproline	0.1293	0.025	0.5707	0.1437	0.3509	0.5005	0.1301	0.143	0.1314	0.0075	0.0651	0.4299
asparagine	0.4475	0.3242	0.1653	0.3188	0.3077	0.6045	0.1249	0.1576	0.1512	0.6114	0.0697	0.8885
4-aminobutyric acid	0.3861	0.1666	0.5059	0.0968	0.3708	0.333	0.2253	0.2831	0.2816	0.1028	0.0863	0.3271
L-glutamic acid	0.3861	0.5922	0.5059	0.0968	0.3708	0.333	0.704	0.4352	0.2816	0.1028	0.6024	0.3271
cysteine	0.166	0.6859	0.6054	0.5742	0.2124	0.6967	0.2291	0.3062	0.0522	0.0909	0.2763	0.2861
creatinine	0.0872	0.1825	0.8125	0.311	0.7071	0.3242	0.0491	0.2789	0.0794	0.1247	0.1136	0.4464
alanine	0.1498	0.1121	0.6808	0.0316	0.6878	0.439	0.1271	0.115	0.0796	0.0441	0.1472	0.198
ornithine	0.0938	0.1013	0.4758	0.0166	0.4462	0.3913	0.1475	0.1163	0.1657	0.0408	0.1832	0.2137
1-Deoxyxypentitol	0.1267	0.105	0.6791	0.6991	0.6941	0.4786	0.1931	0.1486	0.1392	0.0095	0.1655	0.3839
5-Aminovaleric acid	0.1897	0.0589	0.2875	0.142	0.6763	0.3941	0.1706	0.0589	0.1072	0.0393	0.0575	0.1934
phenylalanine	0.1633	0.0889	0.5848	0.0564	0.225	0.3173	0.1795	0.0855	0.0884	0.0393	0.114	0.1868
alpha-aminoadipic acid	0.0804	0.2114	0.3783	0.0414	0.4122	0.4664	0.1702	0.0879	0.1202	0.0293	0.1106	0.3035
glutamine	0.3031	0.1741	0.4769	0.12	0.5604	0.3941	0.3208	0.1155	0.3764	0.0575	0.1483	0.3297
citrulline	0.1412	0.11	0.5811	0.0707	0.7161	0.4305	0.1237	0.0904	0.0958	0.0292	0.2043	0.1851
methionine sulfoxide	0.1911	0.2221	0.093	0.1539	0.4076	0.2797	0.1115	0.382	0.2359	0.0914	0.0756	0.1725
histidine	0.4201	0.096	0.6967	0.0107	0.6073	0.5023	0.269	0.242	0.0484	0.0045	0.29	0.2646
lysine	0.0445	0.1114	0.5561	0.0148	0.358	0.3459	0.1977	0.6163	0.0896	0.0166	0.3159	0.2378
tyrosine	0.1932	0.1107	0.6617	0.0751	0.3759	0.3821	0.1589	0.0679	0.0447	0.0698	0.0869	0.2137
2,6-diaminopimelic acid	0.3093	0.0803	0.141	0.2472	0.5881	0.6143	0.3048	0.1393	0.1277	0.0113	0.1032	0.3396
glycyl-proline	0.1115	0.0786	0.6225	0.0577	0.7784	0.2915	0.1452	0.09	0.4958	0.0222	0.2788	0.17
N-acetylornithine	0.1904	0.2281	0.6711	0.0284	0.707	0.3661	0.1446	0.034	0.1724	0.0678	0.4145	0.2979
cysteine-glycine	0.1702	0.5833	0.3919	0.3338	0.2257	0.2385	0.1505	0.3966	0.1751	0.1058	0.158	0.4881
glutamyl-valine	0.1317	0.1703	0.2007	0.1144	0.1807	0.3659	0.156	0.1039	0.158	0.0571	0.2905	0.4512
glutathione	0.6692	0.7799	0.1584	0.575	0.5182	0.9756	0.2599	0.0461	0.1377	0.03	0.3849	0.4087
homocystine	0.173	0.2711	0.1522	0.137	0.0574	0.1874	0.1534	0.063	0.054	0.0362	0.0817	0.3041
xanthosine	0.3471	0.4953	0.1082	0.2054	0.6394	0.0702	0.4523	0.3061	0.2985	0.7592	0.2084	0.497

Carbohydrate	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
glyceric acid	0.1119	0.0978	0.165	0.5209	0.2585	0.2971	0.0918	0.0706	0.1844	0.0477	0.0286	0.292
2,3-Dihydroxybutanoic acid	0.4486	0.8473	0.1952	0.4233	0.4325	0.1371	0.4212	0.4706	0.7596	0.3977	0.6036	0.0071
erythrose	0.0766	0.0458	0.1781	0.1604	0.0497	0.0456	0.057	0.0871	0.0465	0.0405	0.0748	0.1094
threitol	0.0518	0.0237	0.4144	0.1134	0.3189	0.572	0.5821	0.1464	0.2318	0.007	0.3273	0.8373
threonic acid	0.1443	0.1499	0.1387	0.4755	0.1166	0.1808	0.23	0.2016	0.0257	0.073	0.4739	0.2989
Erythronic acid	0.0627	0.0787	0.4678	0.0732	0.2607	0.1794	0.0934	0.1017	0.1582	0.0298	0.2467	0.4992
glutamic acid	0.0665	0.5197	0.7237	0.0563	0.5563	0.6787	0.1771	0.1537	0.1388	0.0133	0.1778	0.4027
tartaric acid	0.6248	0.2205	0.225	0.1331	0.1718	0.5008	0.0924	0.1637	0.139	0.3407	0.5752	0.4128
D-Lyxose	0.0478	0.0572	0.6445	0.0646	0.4108	0.3545	0.1128	0.0878	0.1745	0.0454	0.1425	0.6658
xylose	0.0671	0.1045	0.4466	0.0876	0.1833	0.1433	0.1099	0.1092	0.1282	0.0114	0.2052	0.2031
pyrophosphate	0.2958	0.0341	0.7341	0.176	0.4501	0.3601	0.1719	0.0706	0.1363	0.0224	0.3062	0.0646
xylulose	0.0954	0.133	0.6506	0.641	0.1189	0.1664	0.6216	0.7363	0.1889	0.6501	0.2299	0.8247
ribose	0.0262	0.0921	0.1948	0.1466	0.1547	0.505	0.0775	0.0358	0.088	0.0629	0.1154	0.1862
pentitol	0.0448	0.0527	0.3952	0.1427	0.1701	0.0699	0.1861	0.1082	0.1824	0.0383	0.2177	0.1405
arabitol	0.0062	0.6567	0.0866	0.6745	0.2057	0.1395	0.0393	0.0287	0.1037	0.019	0.1131	0.3994
6-deoxyglucose	0.2211	0.2089	0.434	0.6497	0.4306	0.1163	0.0368	0.3797	0.1077	0.0047	0.1153	0.105
fucose	0.1915	0.2035	0.0826	0.3409	0.2276	0.0909	0.5682	0.4523	0.5446	0.5189	0.6436	0.6701
glucose-1-phosphate	0.0362	0.093	0.5263	0.033	0.4448	0.2288	0.0818	0.0539	0.0929	0.0139	0.1688	0.4429
pentonic acid	0.0545	0.0455	0.4791	0.2816	0.6345	0.1965	0.1743	0.0887	0.0706	0.0829	0.2082	0.3272
ribonic acid	0.0931	0.0941	0.4854	0.535	0.3215	0.1512	0.224	0.378	0.0862	0.328	0.1913	0.1772
3-phosphoglycerate	0.191	0.2275	0.709	0.1196	0.6093	0.3303	0.1173	0.1369	0.0663	0.0505	0.6609	0.396
1,5-anhydroglucitol	0.0896	0.1247	0.7391	0.6408	0.5021	0.4612	0.1711	0.046	0.1322	0.0345	0.1416	0.1957
pinitol	0.6069	0.0985	0.3999	0.1456	0.9247	0.3851	0.5198	0.1714	0.5141	0.998	0.0866	0.2011
fructose	0.2291	0.1848	0.1582	0.3767	0.3943	0.1359	0.2077	0.1633	0.0501	0.1453	0.3031	0.1661
tagatose	0.1862	0.4253	0.2676	0.4236	0.3861	0.69	0.2116	0.1614	0.0852	0.6772	0.285	0.1553
gluconic acid lactone	0.0862	0.0812	0.2021	0.1129	0.1752	0.1264	0.114	0.0359	0.1324	0.047	0.0582	0.1263
galactose	0.177	0.1416	0.4655	0.0992	0.4198	0.1782	0.0478	0.0782	0.1399	0.1226	0.2905	0.1841
glucose	0.1744	0.1246	0.3722	0.1267	0.3508	0.1991	0.0471	0.0805	0.1486	0.5144	0.2762	0.1553
sorbitol	0.2704	0.8656	0.9815	0.4521	0.2148	0.0571	0.1925	0.1274	0.0893	0.0142	0.0636	0.1877
galactitol	0.2548	0.1132	0.1806	0.2922	0.7784	0.3216	0.0892	0.5132	0.1051	0.2436	0.6099	0.239
hexose	0.1775	0.1368	0.6112	0.1386	0.2204	0.4843	0.0639	0.0947	0.2052	0.0526	0.3416	0.4924
pantothenic acid	0.1686	0.0799	0.4221	0.1727	0.6112	0.4472	0.1723	0.0791	0.0929	0.0285	0.0561	0.1824
hexitol	0.5785	0.4746	0.7886	0.4907	0.2768	0.365	0.6875	0.6937	0.5518	0.0277	0.7188	0.721
myo-inositol	0.2028	0.1356	0.2971	0.1005	0.2043	0.2721	0.1342	0.086	0.035	0.0779	0.2467	0.2409
ribose-5-phosphate	0.5894	0.2381	0.4015	0.2099	0.4302	0.2344	0.3641	0.3992	0.1694	0.3166	0.2232	0.7798
N-acetyl-D-mannosamine	0.134	0.0842	0.1497	0.1756	0.3356	0.3554	0.2299	0.0417	0.0462	0.0831	0.1905	0.2787
fructose-1-phosphate	0.1905	0.2088	0.604	0.3993	0.3275	0.3287	0.141	0.0627	0.0979	0.0493	0.141	0.2514
fructose-6-phosphate	0.1401	0.0127	0.5247	0.0123	0.4613	0.3511	0.5379	0.3815	0.3096	0.0463	0.1393	0.2198
glucose-6-phosphate	0.1115	0.2003	0.2598	0.0988	0.0636	0.1589	0.3463	0.1393	0.1072	0.1558	0.2462	0.2098
mannose-6-phosphate	0.1267	0.2218	0.5808	0.1073	0.1341	0.3126	0.1346	0.2351	0.2313	0.1428	0.8284	0.5277
galactose-6-phosphate	0.0861	0.0418	0.279	0.0164	0.3327	0.5226	0.2404	0.2237	0.3585	0.6623	0.8838	0.5031
sucrose	0.1763	0.1197	0.6192	0.3578	0.6842	0.5508	0.1629	0.5082	0.2268	0.3317	0.3023	0.3689
lactulose	0.0638	0.2626	0.3032	0.164	0.2623	0.0448	0.1026	0.1166	0.129	0.0628	0.1888	0.6087
cellobiose	0.3575	0.8701	0.8094	0.2076	0.6704	0.1948	0.1208	0.2301	0.0893	0.0561	0.335	0.255
trehalose	0.3049	0.1468	0.5731	0.1405	0.3731	0.3682	0.4287	0.3272	0.2713	0.1547	0.0821	0.185
maltose	0.3681	0.9233	0.2438	0.3095	0.492	0.3083	0.1809	0.2142	0.0812	0.041	0.3437	0.2648
galactinol	0.2645	0.032	0.6778	0.4347	0.1063	0.4574	0.1086	0.1251	0.0565	0.0399	0.3748	0.3612

Lipid	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
itaconic acid	0.066	0.3151	0.0663	0.0634	0.0171	0.0746	0.0812	0.1694	0.0278	0.0558	0.2022	0.3519
2,5-Dihydroxypyrazine	0.597	0.5854	0.5084	0.4017	0.1572	0.7721	0.8636	0.7249	0.1746	0.0139	0.2462	0.2712
pelargonic acid	0.3151	0.1377	0.0703	0.1937	0.304	0.2224	0.2023	0.1883	0.1242	0.0137	0.0868	0.4338
capric acid	0.0477	0.0647	0.0794	0.1376	0.0064	0.0239	0.0501	0.0183	0.0707	0.0807	0.0118	0.1103
dodecanol	0.166	0.068	0.1058	0.1429	0.2607	0.4639	0.0564	0.3148	0.0631	0.0198	0.5101	0.293
Beta-Glutamic acid	0.1845	0.0719	0.5414	0.1702	0.7701	0.4418	0.1935	0.1197	0.0955	0.0275	0.1425	0.3511
lauric acid	0.2546	0.1364	0.4971	0.1524	0.2329	0.3775	0.0379	0.2871	0.0754	0.0954	0.1641	0.5255
2,4-hexadienedioic acid	0.0346	0.1247	0.479	0.0542	0.2833	0.1737	0.1514	0.1685	0.0905	0.0541	0.0854	0.6574
diglycerol	0.0452	0.0216	0.6813	0.0811	0.7015	0.0437	0.055	0.0319	0.1369	0.0638	0.0627	0.1114
glycerol-alpha-phosphate	0.0422	0.0262	0.6607	0.0857	0.6965	0.6089	0.0603	0.5509	0.1439	0.6651	0.0569	0.1225
myristic acid	0.1235	0.1257	0.3629	0.0968	0.3898	0.2326	0.1071	0.0693	0.0758	0.0976	0.1486	0.3492
tyramine	0.1082	0.042	0.358	0.0615	0.1217	0.3033	0.0407	0.2078	0.5837	0.5143	0.6039	0.2322
pentadecanoic acid	0.1178	0.0891	0.0925	0.0165	0.3259	0.064	0.129	0.0599	0.0865	0.0936	0.1241	0.2593
isohexonic acid	0.1678	0.6403	0.096	0.0428	0.0997	0.2646	0.1887	0.097	0.1488	0.0419	0.3261	0.1791
beta-hydroxymyristic acid	0.1152	0.1813	0.595	0.1776	0.7264	0.3868	0.1469	0.7421	0.0824	0.1015	0.5091	0.3352
palmitoleic acid	0.1284	0.054	0.0943	0.4619	0.3414	0.2729	0.1687	0.0947	0.2697	0.1322	0.1892	0.1289
palmitic acid	0.1287	0.0872	0.1605	0.2023	0.3509	0.166	0.0751	0.0275	0.0311	0.1213	0.1034	0.3463
heptadecanoic acid	0.1307	0.0668	0.1405	0.0801	0.4257	0.0482	0.1009	0.0331	0.0868	0.1178	0.111	0.233
octadecanol	0.1297	0.0519	0.0808	0.0604	0.0587	0.1914	0.0303	0.0713	0.0504	0.04	0.089	0.133
2,3-Diphosphoglycerin	0.3553	0.5593	0.7576	0.6989	0.0851	0.165	0.6741	0.1841	0.4997	0.0853	0.5092	0.5415
linoleic acid	0.1524	0.0578	0.1525	0.1038	0.1478	0.2861	0.1322	0.0822	0.4841	0.0171	0.6945	0.0847
oleic acid	0.1639	0.388	0.708	0.0949	0.1143	0.3356	0.1165	0.0543	0.5575	0.0465	0.447	0.5054
stearic acid	0.1783	0.0452	0.1596	0.3587	0.248	0.1934	0.0564	0.3879	0.1078	0.1438	0.0451	0.4068
Galactosylglycerol	0.2281	0.7526	0.9309	0.0594	0.3741	0.534	0.1695	0.0777	0.0905	0.0246	0.0758	0.1739
nonadecanoic acid	0.1004	0.1102	0.1142	0.4031	0.2319	0.2408	0.1438	0.0669	0.1437	0.1843	0.1093	0.4771
monomyristin	0.1046	0.0199	0.3788	0.3729	0.3955	0.2569	0.1996	0.1879	0.0252	0.0183	0.1273	0.4093
dehydroabiatic acid	0.1145	0.0836	0.5055	0.124	0.206	0.2829	0.8843	0.0623	0.282	0.0409	0.0509	0.4244
oleamide	0.1557	0.0959	0.1661	0.2925	0.7036	0.3503	0.2011	0.1864	0.386	0.2269	0.2177	0.1758
cis-gondoic acid	0.2315	0.0735	0.6475	0.3566	0.2972	0.8432	0.2018	0.2317	0.4346	0.1437	0.0237	0.4533
arachidic acid	0.1514	0.0472	0.1019	0.1669	0.166	0.053	0.0461	0.2467	0.1101	0.1388	0.085	0.3585
abiatic acid	0.4486	0.3568	0.498	0.3515	0.0212	0.8885	0.1603	0.2562	0.3692	0.1579	0.5003	0.7279
hexadecylglycerol	0.2349	0.1922	0.2873	0.4004	0.7151	0.7721	0.4753	0.1013	0.3305	0.1513	0.1208	0.2454
2-monopalmitin	0.1141	0.1747	0.1985	0.2089	0.5282	0.1909	0.249	0.1679	0.1195	0.0659	0.0933	0.3106
1-monopalmitin	0.1892	0.1125	0.1299	0.0231	0.3614	0.2486	0.1942	0.1275	0.1562	0.068	0.0964	0.2563
1-monoheptadecanoyl glyceride	0.1528	0.2346	0.6846	0.5123	0.5333	0.2746	0.2891	0.1848	0.048	0.4674	0.1455	0.4062
lactobionic acid	0.0958	0.5655	0.4622	0.9821	0.4228	0.4336	0.1724	0.8957	0.399	0.5585	0.0602	0.3808
squalene	0.339	0.4326	0.2979	0.0991	0.4739	0.1989	0.1866	0.0725	0.1337	0.1438	0.0565	0.233
lignoceric acid	0.1501	0.2568	0.143	0.0413	0.1065	0.3951	0.2617	0.8145	0.127	0.1165	0.2492	0.4892
cholesterol	0.103	0.1371	0.1474	0.1657	0.131	0.2475	0.1133	0.2881	0.0124	0.0841	0.4559	0.0455

Nucleotide	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
UDP-N-acetylglucosamine	0.0237	0.2691	0.4501	0.2229	0.334	0.5287	0.2253	0.0985	0.1451	0.0272	0.5337	0.4428
cytidine-5-monophosphate	0.0565	0.1259	0.7002	0.1789	0.6344	0.3562	0.0805	0.0734	0.1086	0.0308	0.1714	0.2792
uridine	0.2733	0.0691	0.5184	0.2947	0.5969	0.5282	0.1361	0.0246	0.3788	0.1085	0.1102	0.4038
inosine	0.4829	0.1092	0.3712	0.0735	0.3988	0.6927	0.1361	0.0465	0.2783	0.0322	0.1385	0.2367
adenosine	0.1853	0.1666	0.7345	0.3238	0.6901	0.2867	0.074	0.0346	0.2705	0.1499	0.2183	0.1847
glycyl tyrosine	0.3436	0.1638	0.1068	0.6307	0.4601	0.2545	0.2357	0.142	0.2453	0.0375	0.1907	0.6427
5'-deoxy-5'-methylthioadenosine	0.1191	0.1596	0.942	0.2473	0.386	0.231	0.1601	0.5196	0.3045	0.0242	0.506	0.3331
uridine-5-monophosphate	0.1384	0.1695	0.7832	0.0822	0.5603	0.3275	0.3353	0.2357	0.4452	0.2566	0.488	0.6512
inosine-5'-monophosphate	0.0561	0.2652	0.1046	0.4669	0.2763	0.4277	0.1615	0.1601	0.2647	0.0285	0.3766	0.3116
adenosine-5-monophosphate	0.0904	0.0644	0.6976	0.0791	0.5901	0.2931	0.1333	0.0891	0.0694	0.0311	0.2614	0.2933

Other	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1,2-Dihydroxycyclohexane	0.0266	0.1449	0.1244	0.2156	0.0063	0.0722	0.1015	0.3245	0.263	0.1886	0.3828	0.1186
nicotinic acid	0.193	0.2271	0.7632	0.1946	0.4693	0.0315	0.1291	0.0267	0.1752	0.0523	0.1551	0.2754
maleic acid	0.3425	0.2061	0.0373	0.1177	0.1971	0.1432	0.71	0.6553	0.4521	0.1121	0.7395	0.394
succinic acid	0.0864	0.0277	0.3477	0.176	0.3779	0.1931	0.0969	0.0216	0.0761	0.1182	0.047	0.0559
2,3-dihydropyridine	0.7028	0.0272	0.043	0.7008	0.0324	0.7002	0.2289	0.449	0.047	0.0033	0.6936	0.4605
o-toluic acid	0.0184	0.6695	0.7414	0.5848	0.1209	0.171	0.627	0.0853	0.4804	0.4979	0.4443	0.7101
uracil	0.204	0.0625	0.4581	0.1518	0.4582	0.5277	0.2953	0.1045	0.1388	0.0372	0.0615	0.2009
fumaric acid	0.4806	0.102	0.7192	0.0872	0.6182	0.7025	0.3516	0.1101	0.1756	0.0371	0.2566	0.2828
citraconic acid	0.6715	0.2176	0.1618	0.0119	0.1137	0.2033	0.2618	0.2262	0.043	0.0406	0.3366	0.2272
Erythronic acid g-lactone	0.06	0.1336	0.0635	0.0606	0.0569	0.183	0.0405	0.0891	0.0722	0.061	0.0504	0.1017
thymine	0.8208	0.7291	0.5179	0.0085	0.8338	0.4851	0.2854	0.0468	0.2658	0.0169	0.0524	0.5488
glutaric acid	0.3971	0.2194	0.7033	0.542	0.5032	0.2001	0.7214	0.2318	0.7823	0.3093	0.0348	0.7148
dihydroxymalonic acid	0.002	0.0438	0.6762	0.6882	0.0394	0.0355	0.0187	0.6859	0.0385	0.4411	0.0123	0.6605
malate	0.0859	0.0448	0.3424	0.151	0.1871	0.3187	0.2535	0.0606	0.0274	0.0728	0.3464	0.3989
malic acid	0.0518	0.0237	0.4144	0.1134	0.2621	0.7462	0.6612	0.1464	0.4613	0.272	0.3273	0.3093
nicotinamide	0.1362	0.0944	0.605	0.0978	0.5476	0.4189	0.165	0.0987	0.189	0.0222	0.267	0.3663
5,6-dihydrouracil	0.11	0.3159	0.3793	0.1273	0.861	0.5952	0.2856	0.1641	0.2601	0.0149	0.3329	0.3113
salicylic acid	0.1564	0.2865	0.3811	0.0316	0.4934	0.352	0.1089	0.0357	0.1812	0.0619	0.1312	0.2586
cytosin	0.4906	0.2023	0.2488	0.0875	0.4343	0.6992	0.3045	0.0662	0.4046	0.1186	0.6357	0.6454
3-phenyllactic acid	0.0577	0.0809	0.4627	0.0637	0.2431	0.166	0.0937	0.7141	0.1523	0.0366	0.1921	0.2891
phosphoenolpyruvate	0.1735	0.1267	0.638	0.085	0.028	0.5018	0.1965	0.0739	0.0782	0.0391	0.3715	0.3868
hexadecane	0.1532	0.367	0.1579	0.1503	0.2532	0.503	0.0036	0.172	0.2601	0.3802	0.2835	0.1768
4-hydroxybenzoate	0.4039	0.184	0.2875	0.0977	0.2678	0.086	0.0891	0.0415	0.0865	0.1276	0.093	0.2542
xylonolactone	0.0478	0.0572	0.6445	0.0646	0.4233	0.3545	0.3528	0.6345	0.1745	0.0454	0.2426	0.785
1,3-diaminopropane	0.0749	0.0736	0.1541	0.4529	0.056	0.0884	0.2406	0.2196	0.1206	0.0235	0.1857	0.2031
phthalic acid	0.0776	0.0551	0.1093	0.1636	0.2198	0.0553	0.1956	0.0994	0.0751	0.0039	0.0166	0.3958
levoglucosan	0.0081	0.0783	0.1002	0.0761	0.2043	0.1033	0.0331	0.0136	0.1111	0.0191	0.1087	0.6706
beta-glycerolphosphate	0.1198	0.0657	0.5736	0.0795	0.6585	0.1674	0.1124	0.0502	0.2092	0.0194	0.0937	0.1051
putrescine	0.1713	0.1848	0.7709	0.1086	0.7994	0.3903	0.1912	0.0967	0.151	0.0511	0.3099	0.216
N-acetylputrescine	0.2462	0.0864	0.6907	0.1389	0.7058	0.3176	0.1699	0.1171	0.1232	0.0297	0.0988	0.2462
phosphoethanolamine	0.0625	0.1239	0.6709	0.0359	0.7056	0.0662	0.055	0.1172	0.0646	0.0994	0.0779	0.1771
terephthalic acid	0.4331	0.0837	0.6389	0.0781	0.1136	0.1274	0.6762	0.0344	0.2461	0.0409	0.0513	0.094
hypoxanthine	0.1962	0.0358	0.4946	0.6835	0.2447	0.4926	0.2201	0.0742	0.0991	0.0747	0.082	0.1719
citric acid	0.0294	0.0416	0.0969	0.0328	0.3337	0.3375	0.4267	0.2305	0.0861	0.0189	0.0269	0.2248
dehydroascorbic acid	0.1406	0.0818	0.4926	0.0021	0.1999	0.3508	0.1571	0.0652	0.0797	0.0736	0.1059	0.2366
hippuric acid	0.3322	0.1977	0.3076	0.1547	0.2292	0.3225	0.2394	0.7093	0.4276	0.2921	0.5751	0.2289
adenine	0.2084	0.1138	0.6982	0.0664	0.6247	0.923	0.0891	0.0545	0.1757	0.0415	0.3463	0.3037
p-Hydroxyphenyl lactic acid	0.1088	0.0502	0.6962	0.1032	0.0939	0.3119	0.3096	0.0821	0.1256	0.0821	0.1371	0.1233
isopentadecanoic acid	0.53	0.4641	0.0521	0.6664	0.3226	0.7788	0.269	0.9761	0.0312	0.6334	0.29	0.2647
xanthine	0.1533	0.092	0.3362	0.125	0.4723	0.5104	0.2493	0.1788	0.1849	0.0168	0.0637	0.4937
conduritol-beta-expoide	0.2371	0.1057	0.5456	0.0919	0.5417	0.4648	0.1314	0.087	0.0798	0.0349	0.2698	0.2564
uric acid	0.8037	0.3345	0.4727	0.2158	0.2104	0.6606	0.0706	0.2105	0.1137	0.0274	0.1762	0.5881
guanine	0.0808	0.4553	0.2494	0.0053	0.5056	0.9187	0.2527	0.4911	0.1793	0.1065	0.0973	0.135
noradrenaline	0.2312	0.1046	0.5785	0.038	0.3846	0.4698	0.1571	0.0949	0.0647	0.0346	0.1029	0.2684
spermidine	0.1442	0.3216	0.8422	0.2613	0.5402	0.3626	0.5096	0.4061	0.439	0.0837	0.4875	0.3378
pyridoxal-5-phosphate	0.0345	0.1207	0.7241	0.1684	0.7026	0.2227	0.1095	0.1127	0.1742	0.0217	0.0618	0.1468
5-methoxytryptamine	0.1767	0.201	0.6329	0.1536	0.5923	0.5006	0.2677	0.1309	0.2422	0.0699	0.235	0.0426
serotonin	0.332	0.172	0.694	0.1333	0.6763	0.8248	0.2748	0.1151	0.4755	0.0147	0.1762	0.3226

**Table S5 Different metabolites extracted by two derivatization methods**

<b>Class</b>	<b>37 ° C Derivatization</b>	<b>75 ° C Derivatization</b>
<b>Carbohydrate</b>	D-Lyxose	erythronicacid
	sorbitol	lyxitol
	Erythronicacid	6-deoxygalactofuranose
	pentitol	deoxypentitol
	threonicacid	lyxose
	1-Deoxypentitol	
	ribonicacid	
	gluconicacidlactone	
	tartaricacid	
	arabitol	
	xylulose	
	pentonicacid	
	2,3-Dihydroxybutanoicacid	
	pinitol	
	galactitol	
	fructose-1-phosphate	
	fructose-6-phosphate	
	galactose-6-phosphate	
	trehalose	
	<b>Amino acid</b>	glutamyl-valine
homoserine		glutamate
L-pipecolicacid		pipecolicacid
methioninesulfoxide		oxoproline
5-Aminovalericacid		O-acetylserine
L-glutamicacid		tranexamicacid
glutathione		cyanoalanine
creatinine		5-aminovalericacid
2,6-diaminopimelicacid		
glycyl-proline		
5-Oxoproline		
cysteine-glycine		
alpha-aminoadipicacid		
glutamine		
trans-4-hydroxy-L-proline		
glycyltyrosine		
<b>Lipid</b>		lauricacid
	itaconicacid	behenicacid
	isopentadecanoicacid	glycerol-1-phosphate
	Beta-Glutamicacid	glycerol-3-galactoside
	2,3-Diphosphoglycerin	methylhexose
	Galactosylglycerol	caprylicacid
	monomyristin	dodecanoicacid

dehydroabieticacid  
 abieticacid  
 cis-gondoicacid  
 2-monopalmitin  
 cholesterol  
 hexadecylglycerol  
 squalene

Nucleoside	thymidine
<b>Others</b>	erythronicacidlactone
1,2-Dihydroxycyclohexane	tetracosane
terephthalicacid	phenylethylamine
2,5-Dihydroxypyrazine	2,5-dihydroxypyrazine
4-hydroxybenzoate	p-hydroxyphenyllacticacid
tyramine	2-methylglycericacid
phthalicacid	agmatine
Erythronicacidg-lactone	methyltetrahydrophenanthrenone
dehydroascorbicacid	hydroquinone
maleicacid	alkane
p-Hydroxyphenyllacticacid	allantoin
o-toluicacid	isoxanthopterin
hippuricacid	2-(1-methyl-2-pyrrolidinyl)-pyridine
	3-hydroxyphenylaceticacid
	urocanicacid

**Table S6 Metabolites with significant differences in abundance under two derivatization (fold change value >2 or <0.5 and p value <0.05)**

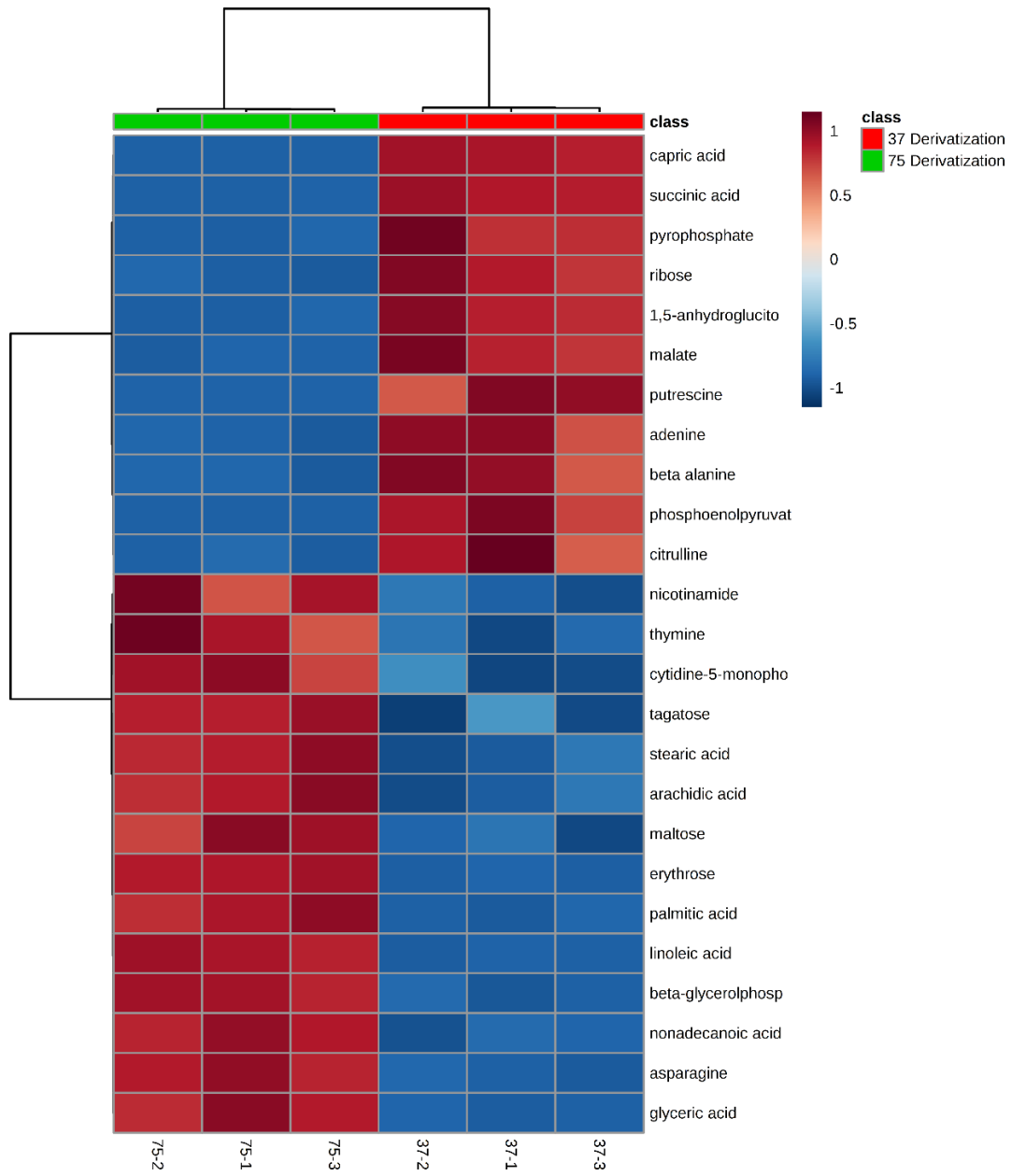
Metabolite name	Class	Fold Change	p.value
alanine	Amino acid	0.29657	5.6705E-06
asparagine	Amino acid	0.10801	8.2125E-06
beta alanine	Amino acid	8.8574	0.000011609
citrulline	Amino acid	173.55	0.000044836
glutamic acid	Amino acid	4.7451	0.00025881
lysine	Amino acid	5.4908	0.00063385
ornithine	Amino acid	2.4401	0.0022579
1,5-anhydroglucitol	Carbohydrate	0.085897	9.4579E-08
cellobiose	Carbohydrate	0.17418	0.000038209
erythrose	Carbohydrate	0.1913	0.000084801
fructose	Carbohydrate	3.5711	0.00012287
glucose-6-phosphate	Carbohydrate	0.33519	0.00019339
glyceric acid	Carbohydrate	0.41374	0.00027165
maltose	Carbohydrate	0.23813	0.0010991
mannose-6-phosphate	Carbohydrate	3.63	0.0014524
pyrophosphate	Carbohydrate	4.3689	0.011561
ribose	Carbohydrate	2.3378	0.01469
tagatose	Carbohydrate	2.0925	0.038163
threitol	Carbohydrate	2.781	0.041415
1-monopalmitin	Lipid	544.79	1.7024E-07
arachidic acid	Lipid	0.28517	6.3646E-06
beta-hydroxymyristic acid	Lipid	0.11099	0.000024504
capric acid	Lipid	8.6244	0.000033468
diglycerol	Lipid	2.7989	0.000078951
linoleic acid	Lipid	3.4993	0.00046552
nonadecanoic acid	Lipid	5.362	0.0015395
oleamide	Lipid	2.4996	0.0019079
palmitic acid	Lipid	2.3417	0.0031963
palmitoleic acid	Lipid	0.34805	0.0053449
pelargonic acid	Lipid	0.31271	0.0056841
stearic acid	Lipid	0.19699	0.031468
5'-deoxy-5'-methylthioadenosine	Nucleoside	0.065269	4.3859E-07
UDP-N-acetylglucosamine	Nucleoside	2.565	0.041996
noradrenaline	Other	0.1867	0.0017371
hexadecane	Other	7.2375	0.00046021
beta-glycerolphosphate	Other	2.4919	0.000021358
fumaric acid	Other	249.78	0.00012922
malate	Other	0.022081	0.00064077
N-acetylputrescine	Other	2.8481	0.0015196
phosphoenolpyruvate	Other	2.6142	0.0068842
succinic acid	Other	140.42	0.035277



putrescine	Other	2.2023	0.0093437
2,3-dihydroxypyridine	Other	235.8	3.414E-07
5-methoxytryptamine	Other	0.27942	1.4724E-06
adenine	Other	0.08601	3.1925E-06
cytosin	Other	11.549	0.000053923
nicotinamide	Other	2.1138	0.0015198
pyridoxal-5-phosphate	Other	2.4736	0.011487
serotonin	Other	3.2932	0.020381

---

**Fig S4 The top 25 metabolites with the most significant difference between the two derivatization through the T test**



**Table S7 The 31 significant differential metabolites screened by T-test and Z-score**

<b>Name</b>	<b>pvalue</b>	<b>FC</b>	<b>p.adjust</b>
1,3-diaminopropane	3.45E-07	3.875635853	1.45E-05
1-monostearin	7.81E-05	2.155699859	0.000745623
2'-deoxycytidine 5'-triphosphate	0.000548672	0.45754465	0.002954389
3-phosphoglycerate	1.98E-05	2.005092606	0.000292726
4-hydroxybutyric acid	0.009326757	2.122676347	0.02481135
5-aminovaleric acid	0.006273284	3.010650663	0.018901785
5-methoxytryptamine	0.007605907	2.409955598	0.021016322
8-aminocaprylic acid	0.012229008	2.804345086	0.031318192
adenosine-5-monophosphate	0.004714149	0.405465118	0.016499521
citramalic acid	6.05E-05	2.417276854	0.000635546
conduritol B epoxide	0.029184941	0.394465882	0.059503278
cortexolone	2.12E-05	3.078147091	0.000292726
cyclohexylamine	0.000108611	2.832970113	0.000918578
cysteine	0.031108011	0.485195845	0.062814253
digitoxose	8.57E-07	14.33701099	2.57E-05
dihydrosphingosine	0.03359325	0.337497035	0.065930678
galactose	0.029050982	0.018587216	0.059503278
gluconic acid	0.035589383	0.397359279	0.069201579
glutaric acid	0.003596793	2.821482843	0.013251343
hydrocortisone	4.95E-06	3.698704121	0.000103933
levoglucosan	0.012934394	2.326065095	0.031666707
L-homoserine	3.82E-05	2.512823854	0.000445227
maleamic acid	0.000672418	2.865014057	0.003444092
malic acid	9.91E-05	3.638789044	0.000904592
myristic acid	0.001211002	2.739640123	0.005779785
N-acetyl-aspartic acid	8.37E-07	3.911374564	2.57E-05
N-cyclohexyl-formamide	0.004964466	0.039358098	0.016842625
nicotinic acid	0.000128635	4.241401194	0.001038978
oleic acid	5.20E-08	2.344865183	3.64E-06
ornithine	0.00146322	0.361224712	0.006828362
palmitoleic acid	3.68E-08	3.059500152	3.64E-06
phosphogluconic acid	0.000257701	2.71585674	0.001745716
progesterone	1.15E-05	2.979291179	0.000200997
sedoheptulose	0.014708818	0.338921271	0.035204704
spermidine	0.01598347	2.538790496	0.03688493
succinic acid	0.024294009	2.0897166	0.051812019
thymidine	0.048121241	3.02912773	0.087873571
xanthine	8.75E-06	14.16530794	0.000167096
xanthosine	2.58E-06	3.676472077	6.03E-05