

DOI: 10.3724/SP.J.1118.2020.20027

## 浙江南部近海前肛鳗肌肉脂质去除对其稳定同位素测定结果的影响

杨蕊<sup>1</sup>, 田思泉<sup>1, 2, 3</sup>, 高春霞<sup>1, 2, 3, 4</sup>, 戴黎斌<sup>1</sup>, 王士聪<sup>1</sup>

1. 上海海洋大学海洋科学学院, 上海 201306;
2. 国家远洋渔业工程技术研究中心, 上海 201306;
3. 大洋渔业资源可持续开发教育部重点实验室, 上海 201306;
4. 农业农村部大洋渔业资源环境科学观测实验站, 上海 201306

**摘要:** 为探究富含脂肪的鱼类中脂质对稳定同位素测定结果的影响效应, 本研究选取浙江南部近海 45 尾前肛鳗(*Dysomma anguillaris*)样本, 按 C:N 比值不同, 分为 3.5~4.0 (组 1)及>4.0 (组 2)两组, 分析其脂质去除前后碳、氮稳定同位素比值的变动规律, 并且基于多个回归模型筛选最佳脂质校正模型。研究结果表明: (1) 两组肌肉样品脂质去除后平均  $\delta^{13}\text{C}$  值分别增加 1.21‰、1.78‰, 平均  $\delta^{15}\text{N}$  值增加 0.28‰、0.24‰, 平均 C:N 降低 0.55、1.09; (2) 经 Pearson 相关分析, 组 1 肌肉样品脂质去除前后的  $\delta^{13}\text{C}$ 、 $\delta^{15}\text{N}$  及 C:N 均呈显著正相关关系, C:N 与  $\Delta\delta^{13}\text{C}$  呈显著正相关关系; 组 2 肌肉样品脂质去除前后的  $\delta^{15}\text{N}$  具显著正相关关系, 而  $\delta^{13}\text{C}$  和 C:N 无显著线性相关关系, C:N 与  $\Delta\delta^{13}\text{C}$  同样呈显著正相关关系; (3) 根据赤池信息准则(AIC), 线性模型对 C:N 在 3.5~4.0 的样本拟合度最佳, 拟合方程为  $\Delta\delta^{13}\text{C}=1.30\times(\text{C:N})-3.69$ ; 非线性模型对 C:N>4.0 的样本拟合度最高, 拟合方程为  $\Delta\delta^{13}\text{C}=-5.71+5.12\times\ln(\text{C:N})$ 。研究结果表明, 脂质含量对碳稳定同位素测定结果有显著影响, 在同位素分析中建议开展脂质抽提或校正, 尤其是对脂质含量较高的组织器官; 脂质校正模型在很大程度上简化了样品处理过程, 预计未来会有广泛的应用前景, 但是对于不同水域、不同脂肪含量的不同物种应选择适用的校正模型。

**关键词:** 同位素;  $\delta^{13}\text{C}$ ;  $\delta^{15}\text{N}$ ; 前肛鳗; 脂质去除; 东海; 浙江南部近海

中图分类号: S931

文献标志码: A

文章编号: 1005-8737-(2020)09-1085-10

稳定同位素技术作为一项现代示踪技术, 目前广泛应用于示踪生物的食性来源<sup>[1]</sup>、确定营养位置<sup>[2-3]</sup>和构建食物网营养结构<sup>[4-5]</sup>等, 尤其以碳、氮稳定同位素的应用最为广泛。氮同位素在不同营养级间有 3‰~4‰的富集度<sup>[6-8]</sup>, 通常用来指示生物所处营养级; 碳同位素在消费者与其食物间的同位素分馏效应低, 富集度在 0.1‰~0.4‰, 因此常用于示踪食源<sup>[8-9]</sup>。样品组织选取是开展稳定同位素研究的前提, 肌肉组织因蛋白质代谢率低, 整合了生物体长时间尺度的摄食信息, 成为稳定

同位素研究最常用的组织器官<sup>[10]</sup>。鱼体肌肉组织中的脂肪含量较高, 高脂鱼的脂肪含量可达 10%~15%<sup>[11]</sup>。目前普遍认为脂质对肌肉组织  $\delta^{13}\text{C}$  的测定具有较大影响, 主要表现在两方面: 一是在生物体合成过程中存在分馏作用, 会导致脂质的  $\delta^{13}\text{C}$  较蛋白质少 6‰~7‰<sup>[12]</sup>; 二是同一物种的不同个体、组织间脂质种类及含量异质性会直接干扰  $\delta^{13}\text{C}$  的测定<sup>[13]</sup>。在利用稳定同位素开展营养生态学研究, Schlechtriem 等<sup>[14]</sup>在研究不同的脱脂方法对测定结果的影响时, 发现各种处理方法

收稿日期: 2020-02-26; 修订日期: 2020-03-23.

基金项目: 国家自然科学基金项目(31902372); 温台渔业资源专项调查项目(158053); 大洋渔业资源可持续开发教育部重点实验室开放基金项目(200908).

作者简介: 杨蕊(1997-), 女, 硕士研究生, 研究方向为稳定同位素生态学. E-mail: yangrui970115@163.com

通信作者: 高春霞, 工程师, 研究方向为同位素生态学、渔业资源评估. E-mail: cxgao@shou.edu.cn

并未引起  $\delta^{13}\text{C}$  测定值的显著差异; Murry 等<sup>[15]</sup>指出相对于未去除脂质的样本, 去除脂质样本的  $\delta^{13}\text{C}$  值出现显著增加; Post 等<sup>[16]</sup>对比分析了 16 种水生生物脂质去除前后稳定同位素测定结果, 发现当  $\text{C}:\text{N}>3.5$  时才需对肌肉组织进行脂质去除, 并且运用数学模型拟合出脂质归一化模型。此外, 脂质去除处理过程耗时耗力, Sweeting 等<sup>[12]</sup>提出采用脂质校正模型可节省大量的时间和成本, 如能对高脂质含量的种类归纳出通用的脂质校正模型, 将对推动稳定同位素的广泛应用具有重要意义。

机体组织内脂质含量的变化会影响组织的  $\delta^{13}\text{C}$  值<sup>[17]</sup>, 进而引起对食物网结构的误判。目前, 国内利用稳定同位素技术研究生态系统内种群和食物网结构的报道较多, 但部分研究并未考虑高脂质种类碳稳定同位素测定可能存在的误差, 如纪炜炜等<sup>[18]</sup>利用稳定同位素技术对东海中部游泳动物类群、种间及种内的差异分析, 蔡德陵等<sup>[19]</sup>运用稳定同位素方法对黄东海生态系统食物网连续营养谱的建立等; 另外, 纵观国外研究者提出的数学归一化脂质校正模型中<sup>[16, 20-21]</sup>, 多数并未考虑到  $\text{C}:\text{N}$  比值的不同可能会影响数学归一化校正模型的适用性。因此, 本研究选取浙江南部近海重要的高脂质种类前肛鳗(*Dysomma anguillar*)作为研究对象, 比较并分析脂质去除前后碳氮稳定同位素测定结果, 旨在为评估脂质去除对样本碳氮稳定同位素的测定影响提供技术参考, 并且基于  $\text{C}:\text{N}$  的多种回归模型筛选出最佳脂质校正模型, 为探究鱼类中脂质的影响效应提供理论参考。

## 1 材料与方 法

### 1.1 样品来源

本实验样品为 2016 年 2 月和 5 月在浙江南部近海(120.93°E~122.95°E, 27.21°N~28.97°N)利用单船底拖作业捕获所得, 调查船为马力 540 hp、吨位 800 t 的浙洞渔船 10109 号, 调查网具为底拖网, 网口宽 40 m, 高 7.5 m, 底纲和浮子纲为 80 m, 拖速为 2~4 kn, 每站拖网时间 1 h 左右。样品个体

经冷冻保存带回实验室进行分析, 采样站位如图 1 所示。



图 1 浙江南部近海调查站点

Fig. 1 Survey stations in the offshore waters of Southern Zhejiang

### 1.2 样品处理

本研究选取 45 尾前肛鳗样品, 并对其生物学性状进行测量, 包括全长(吻至尾部末端)、肛长(吻至肛门长度)、体重等, 全长及肛长测量结果精确至 0.1 cm, 体重测量结果精确至 0.1 g。取背部肌肉, 用超纯水清洗后放入冷冻管中, 使用冷冻干燥机(Christ 1-4 $\alpha$ )在-55 °C 下干燥 24 h 后使用混合型球磨机(Retsch MM440)研磨成粉末, 过 100 目筛。

### 1.3 稳定同位素比值测定

将研磨好的样品粉末均分成两份, 一份取 1.0~1.5 mg 包埋于锡舟(型号 4 mm×4 mm×11 mm)中, 利用元素分析-稳定同位素比质谱仪(ISOPRIME 100, 英国 Isoprime 公司)测定样品的 C、N 稳定同位素比值( $\delta^{13}\text{C}$ 、 $\delta^{15}\text{N}$ )及元素含量百分比( $\text{C}:\text{N}$ ); 另一份样品用氯仿与甲醇(2:1, 体积比)的混合溶液进行脂质去除, 经两次离心(4000 r/min, 3 min)后再次干燥, 重复上述方法测量出脂质去除后样品的 C、N 同位素比值( $\delta^{13}\text{C}'$ 、 $\delta^{15}\text{N}'$ )及元素含量百分比( $\text{C}:\text{N}'$ )。以  $\Delta\delta^{13}\text{C}$  表示  $\delta^{13}\text{C}$  与  $\delta^{13}\text{C}'$  的差值, 以  $\Delta\delta^{15}\text{N}$  表示  $\delta^{15}\text{N}$  与  $\delta^{15}\text{N}'$  的差值, 以  $\Delta(\text{C}:\text{N})$  表示  $\text{C}:\text{N}$  与  $\text{C}:\text{N}'$  的差值。

以国际通用的美国拟箭石(PDB)以及大气中

的氮气(N<sub>2</sub>-atm)作为碳、氮稳定同位素测定的标准物质, 结果以碳稳定同位素比值( $\delta^{13}\text{C}$ )和氮稳定同位素比值( $\delta^{15}\text{N}$ )表示, 计算公式如下:

$$\delta X = [(R_{\text{sample}}/R_{\text{standard}}) - 1] \times 10^3$$

式中,  $X$  为  $^{13}\text{C}$  或  $^{15}\text{N}$ ;  $R$  为  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  或者  $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$  的丰度比值。

为保证测量样品的准确性, 采用 USGS 24 和 USGS 26 对测量仪器进行校正, 并且每 10 个待测样品放入 3 个实验室 II 级蛋白质标准品(Protein:  $\delta^{13}\text{C} = -26.98\%$ ,  $\delta^{15}\text{N} = 5.94\%$ )进行仪器校准, 仪器测定精度为  $\delta^{13}\text{C} < \pm 0.2\%$ ,  $\delta^{15}\text{N} < \pm 0.2\%$ 。稳定同位素测定在上海海洋大学稳定同位素分析测试平台进行。

## 1.4 数据处理分析

根据 Post 等<sup>[16]</sup>提出的  $C:N > 3.5$  的样本需进行脂质去除的建议, 本研究对  $C:N < 3.5$  的肌肉样本进行显著性差异检验发现,  $C:N < 3.5$  的样本脂质去除前后碳、氮稳定同位素均无显著差异 ( $P > 0.05$ ), 因此, 本研究将 45 尾前肛鳗划分为 2 组, 即  $3.5 < C:N \leq 4.0$  组以及  $C:N > 4.0$  组, 将脱脂前分组样本命名为组 1、组 2, 脱脂后分组样本命名为组 1'、组 2'(表 1)。采用配对  $t$  检验对脂质去除前后肌肉样本的  $\delta^{13}\text{C}$ 、 $\delta^{15}\text{N}$  以及  $C:N$  进行显著性差异检验, 并利用 Pearson 相关分析和线性回归分析对比脂质去除前后肌肉样本  $\delta^{13}\text{C}$  值、 $\delta^{15}\text{N}$  值和  $C:N$  的相关关系。

表 1 前肛鳗肌肉不同  $C:N$  比的生物学信息

Tab. 1 Biological information of different  $C:N$  ratio of *Dysomma anguillar*

样本处理方式 sample processing method	组名 group name	$C:N$	样本数量 samples size	肛长范围 range of anal length
未去除脂质样本 lipid unremoved samples	组 1 group1	3.5-4.0	26	41-88
	组 2 group2	>4.0	19	58-112
去除脂质样本 lipid removed samples	组 1' group1'	<3.5	26	41-88
	组 2' group2'	<3.5	19	58-112

## 1.5 校正模型筛选

本研究选取两种线性模型和两种非线性模型对测定结果进行脂质校正模型的筛选。

第一种为基于线性的校正模型:

$$\Delta\delta^{13}\text{C} = a \times \delta^{13}\text{C} + b$$

第二种为基于 Post 等<sup>[16]</sup>的线性校正模型:

$$\Delta\delta^{13}\text{C} = a \times C:N + b$$

第三种为基于 McConnaughey 等<sup>[20]</sup>的非线性模型:

$$\Delta\delta^{13}\text{C} = (a \times C:N + b) / (C:N + c)$$

第四种为基于  $\delta^{13}\text{C}$ 、 $\delta^{13}\text{C}'$  和  $C:N$  之间的非线性模型<sup>[22]</sup>:

$$\Delta\delta^{13}\text{C} = a_1 + a_2 \times \ln(C:N)$$

采用 R 语言中广义线性模型 glm() 以及非线性模型参数估计函数 nls() 估算校正模型中的参数, 计算每个模型的赤池信息准则(Akaike information criterion, AIC)值, 并将赤池信息准则值最小的模型作为最适脂质校正模型, AIC 值通过下公

式进行计算:

$$\text{AIC} = -2 \times \ln Z + 2k + 2k(k+1)/(n-k-1)$$

式中,  $Z$  为似然函数,  $k$  为参数数量,  $n$  为样本数量。

## 2 结果与分析

### 2.1 碳氮稳定同位素测定结果分析

本研究选取 45 尾前肛鳗样本开展碳氮稳定同位素分析(表 2)。组 1 肌肉样品  $\delta^{13}\text{C}$  值范围为  $-17.12\%$ ~ $-15.61\%$  (差值为 1.51),  $\delta^{15}\text{N}$  值范围为  $10.71\%$ ~ $13.40\%$  (2.69),  $C:N$  范围为 3.52~4.00, 组 1'肌肉样本  $\delta^{13}\text{C}'$  值范围为  $-16.53\%$ ~ $-14.52\%$  (2.01)、 $\delta^{15}\text{N}'$  值范围为  $10.79\%$ ~ $13.49\%$  (2.70),  $C:N'$  范围为 3.11~3.27; 组 2 肌肉样品  $\delta^{13}\text{C}$  值范围为  $-17.57\%$ ~ $-16.27\%$  (1.30)、 $\delta^{15}\text{N}$  值范围为  $11.56\%$ ~ $13.39\%$  (1.83),  $C:N$  为 4.01~5.02, 组 2'肌肉样品  $\delta^{13}\text{C}'$  值范围为  $-16.05\%$ ~ $-14.63\%$  (1.42)、 $\delta^{15}\text{N}'$  值范围为  $11.39\%$ ~ $13.59\%$  (2.20),  $C:N'$  范围为 3.19~3.31。

表 2 前肛鳗碳氮稳定同位素测定结果分析

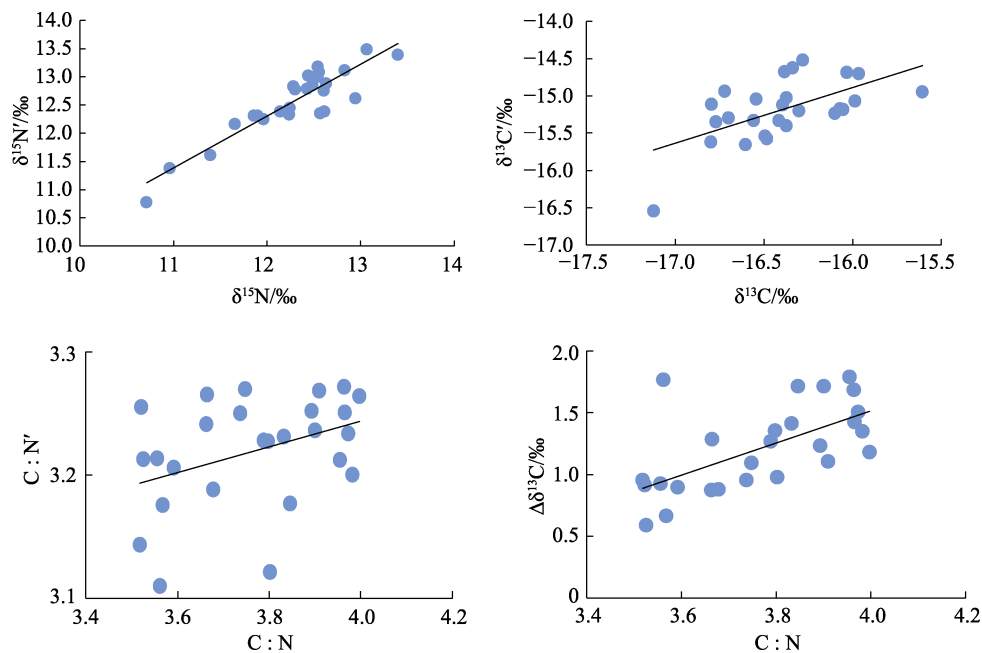
Tab. 2 Results of carbon and nitrogen stable isotopes analysis of *Dysomma anguillar*

组名 group name	C : N	$\delta^{13}\text{C}/\text{‰}$		$\delta^{15}\text{N}/\text{‰}$		C : N	
		范围 range	$\bar{x} \pm \text{SD}$	范围 range	$\bar{x} \pm \text{SD}$	范围 range	$\bar{x} \pm \text{SD}$
组 1 group1	3.5~4.0	-17.12~-15.61	-16.39±0.33	10.71~13.40	12.28±0.61	3.52~4.00	3.77±0.17
组 2 group2	>4.0	-17.57~-16.27	-16.91±0.36	11.56~13.39	12.39±0.49	4.01~5.02	4.33±0.32
组 1' group1'	<3.5	-16.53~-14.52	-15.18±0.42	10.79~13.49	12.56±0.61	3.11~3.27	3.22±0.04
组 2' group2'	<3.5	-16.05~-14.63	-15.14±0.32	11.39~13.59	12.63±0.57	3.19~3.31	3.24±0.04

利用配对  $t$  检验对两组前肛鳗肌肉样本脂质去除前后的  $\delta^{13}\text{C}$ 、 $\delta^{15}\text{N}$  以及 C : N 进行差异显著性分析, 发现除组 2 肌肉样本脂质去除前后  $\delta^{15}\text{N}$  无显著差异外 ( $P>0.05$ ), 其余均呈显著性差异 ( $P<0.01$ ), 两组肌肉样品  $\delta^{13}\text{C}$  值平均增加 1.21‰、

1.78‰,  $\delta^{15}\text{N}$  值平均升高 0.28‰、0.24‰, C : N 平均降低 0.55、1.09。

组 1 肌肉样品的  $\delta^{13}\text{C}$ 、 $\delta^{15}\text{N}$  和 C : N 脂质去除前后的值均呈现显著正相关关系 ( $P<0.05$ ), C : N 与  $\Delta\delta^{13}\text{C}$  呈现显著正相关关系 ( $P<0.05$ ) (图 2)。

图 2 组 1 (3.5 < C : N ≤ 4.0) 前肛鳗肌肉样品  $\delta^{13}\text{C}$ 、 $\delta^{15}\text{N}$  和 C : N 值在脂质去除前后的线性关系Fig. 2 Linear relationship of  $\delta^{13}\text{C}$ 、 $\delta^{15}\text{N}$  and C : N values of muscle samples in group 1 *Dysomma anguillar* (3.5 < C : N ≤ 4.0) before and after lipid removal

组 2 肌肉样品  $\delta^{15}\text{N}$  值在脂质去除前后呈现显著正相关关系 ( $P<0.05$ ),  $\delta^{13}\text{C}$  和 C : N 的脂质去除前后值均无显著相关关系 ( $P>0.05$ ), C : N 与  $\Delta\delta^{13}\text{C}$  呈现显著正相关关系 ( $P<0.05$ ) (图 3)。

## 2.2 脂质去除前后 $\delta^{13}\text{C}$ 的校正模型拟合

考虑到脂质去除前种内  $\delta^{13}\text{C}$  值差异显著 ( $P<0.05$ ), 因此对两组数据分别进行脂质校正。根据本研究的测定结果, 结合 R 语言中的广义线性模型 glm() 以及非线性模型参数估计函数 nls() 拟合模型, 发现组 1 脂质校正模型拟合结果中模型

2 拟合出的 AIC 值最小 (表 3), 组 2 脂质校正模型拟合结果中模型 4 拟合出的 AIC 值最小 (表 4)。利用配对  $t$  检验, 对模型预测的  $\delta^{13}\text{C}$  值与测量真实值进行差异检验, 发现两者并无显著差异 ( $P>0.05$ )。

然而, 本研究中两组脂质校正模型的筛选结果虽不一致, 但其 AIC 值基本相近 (表 3、表 4), 且两组样本脱脂后碳、氮稳定同位素数据均无显著差异 ( $P>0.05$ ), 表现出较小的组内差异, 因此整合数据后筛选出模型 2 (线性模型) 对整合数据的拟合度最佳 (表 5), 这也进一步证实了线性模型比

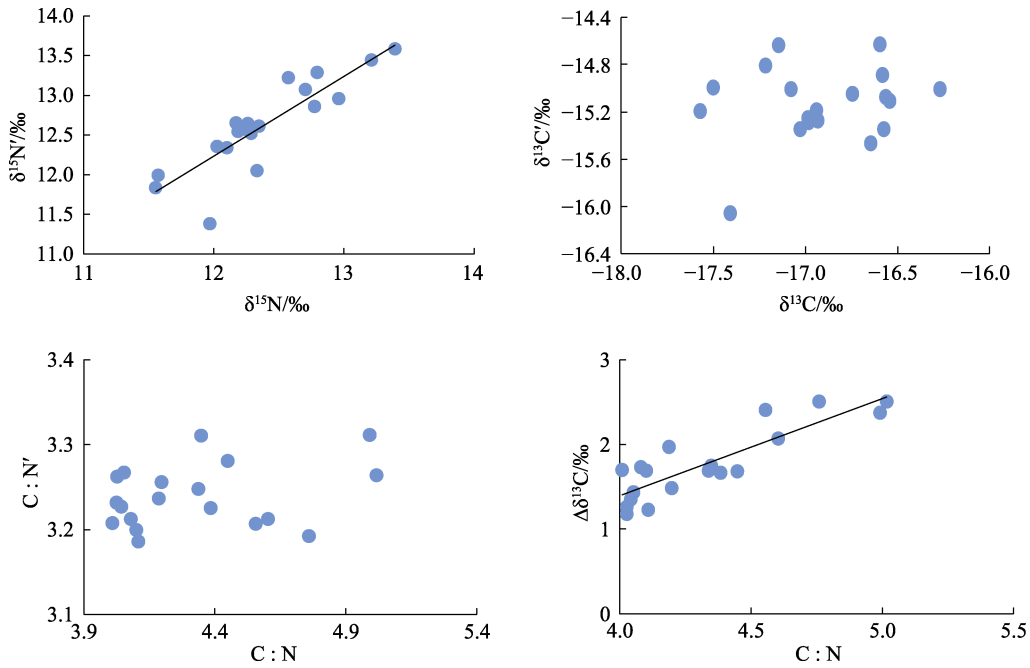


图 3 组 2(C : N>4.0)前肛鳗脂质去除前后肌肉样品  $\delta^{13}\text{C}$ 、 $\delta^{15}\text{N}$  和 C : N 值的线性关系  
 Fig. 3 Linear relationship of  $\delta^{13}\text{C}$ 、 $\delta^{15}\text{N}$  and C : N values of muscle samples in group 2 of *Dysomma anguillaris* (C : N>4.0) before and after lipid removal

表 3 组 1(3.5<C : N≤4.0)前肛鳗脂质校正模型拟合结果

Tab. 3 Results of lipid correction models in group 1 *Dysomma anguillaris* (3.5<C : N≤4.0)

序号 number	校正模型 lipid correction model	组 1 拟合结果 fitting results of group 1	赤池信息准则 AIC
1	$\Delta\delta^{13}\text{C}=a\times\delta^{13}\text{C}+b$	$\Delta\delta^{13}\text{C}=-0.25\times\delta^{13}\text{C}-2.95$	21.91
2	$\Delta\delta^{13}\text{C}=a\times\text{C} : \text{N}+b$	$\Delta\delta^{13}\text{C}=1.30\times\text{C} : \text{N}-3.69$	10.58
3	$\Delta\delta^{13}\text{C}=(a\times\text{C} : \text{N}+b)/(\text{C} : \text{N}+c)$	$\Delta\delta^{13}\text{C}=(1.22\times\text{C} : \text{N}-4.55)/(\text{C} : \text{N}-3.74)$	24.73
4	$\Delta\delta^{13}\text{C}=a_1+a_2\times\ln(\text{C} : \text{N})$	$\Delta\delta^{13}\text{C}=-5.25+4.88\times\ln(\text{C} : \text{N})$	10.59

表 4 组 2(C : N>4.0)前肛鳗脂质校正模型拟合结果

Tab. 4 Results of lipid correction models in group 2 *Dysomma anguillaris* (C : N>4.0)

序号 number	校正模型 lipid correction model	组 2 拟合结果 fitting results of group 2	赤池信息准则 AIC
1	$\Delta\delta^{13}\text{C}=a\times\delta^{13}\text{C}+b$	$\Delta\delta^{13}\text{C}=-0.81\times\delta^{13}\text{C}-11.98$	14.80
2	$\Delta\delta^{13}\text{C}=a\times\text{C} : \text{N}+b$	$\Delta\delta^{13}\text{C}=1.15\times\text{C} : \text{N}-3.19$	0.42
3	$\Delta\delta^{13}\text{C}=(a\times\text{C} : \text{N}+b)/(\text{C} : \text{N}+c)$	$\Delta\delta^{13}\text{C}=(9.62\times\text{C} : \text{N}-29.88)/(\text{C} : \text{N}-2.23)$	2.29
4	$\Delta\delta^{13}\text{C}=a_1+a_2\times\ln(\text{C} : \text{N})$	$\Delta\delta^{13}\text{C}=-5.71+5.12\times\ln(\text{C} : \text{N})$	0.31

表 5 前肛鳗几种脂质校正模型拟合结果比较

Tab. 5 Comparison of fitting results of lipid correction models in *Dysomma anguillaris*

序号 number	校正模型 lipid correction model	整合数据拟合结果 result of integrated data	赤池信息准则 AIC
1	$\Delta\delta^{13}\text{C}=a\times\delta^{13}\text{C}+b$	$\Delta\delta^{13}\text{C}=-0.72\times\delta^{13}\text{C}-10.57$	39.88
2	$\Delta\delta^{13}\text{C}=a\times\text{C} : \text{N}+b$	$\Delta\delta^{13}\text{C}=1.08\times\text{C} : \text{N}-2.88$	7.26
3	$\Delta\delta^{13}\text{C}=(a\times\text{C} : \text{N}+b)/(\text{C} : \text{N}+c)$	$\Delta\delta^{13}\text{C}=(1.46\times\text{C} : \text{N}-5.59)/(\text{C} : \text{N}-3.87)$	66.53
4	$\Delta\delta^{13}\text{C}=a_1+a_2\times\ln(\text{C} : \text{N})$	$\Delta\delta^{13}\text{C}=-4.74+4.48\times\ln(\text{C} : \text{N})$	7.41

非线性模型更适用于较低的 C : N 比值。

### 2.3 脂质去除前后 $\delta^{13}\text{C}$ 、 $\delta^{15}\text{N}$ 与肛长的线性回归关系

对前肛鳗肛长与碳氮稳定同位素测定结果进

行线性回归分析(图 4), 发现肛长与脂质去除前  $\delta^{13}\text{C}$  的线性关系不显著( $P>0.05$ ), 而与去除后  $\delta^{13}\text{C}$  呈现极显著正相关关系( $P<0.01$ ), 脂质去除前后  $\delta^{15}\text{N}$  与肛长均呈现极显著正相关关系( $P<0.01$ )。

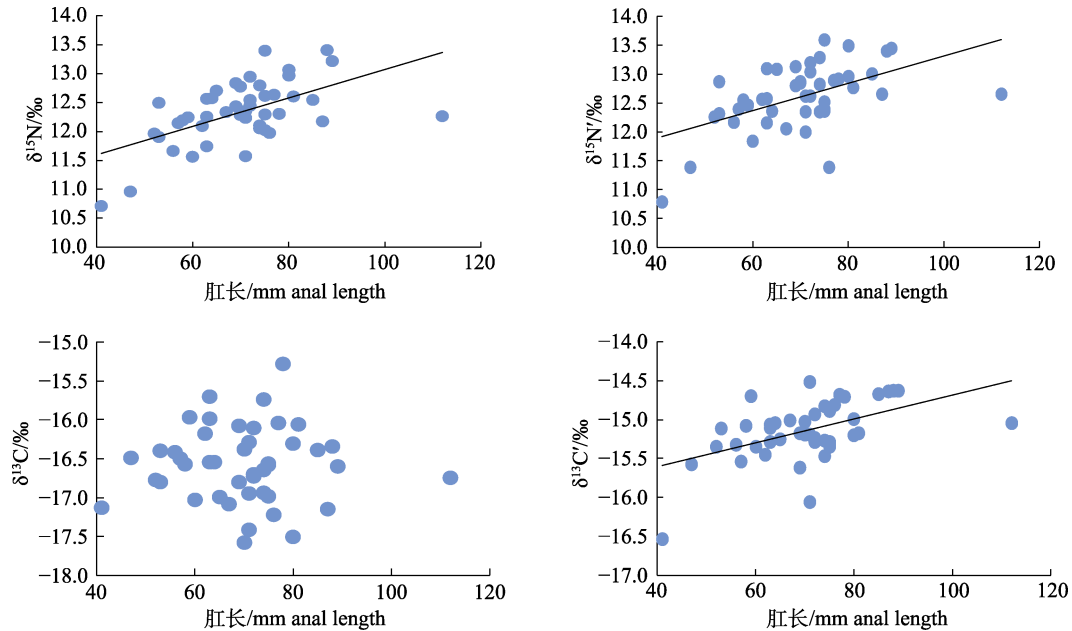


图 4 前肛鳗脂质去除前后  $\delta^{13}\text{C}$ 、 $\delta^{15}\text{N}$  与肛长的线性回归关系

Fig. 4 Linear regression of  $\delta^{13}\text{C}$ ,  $\delta^{15}\text{N}$  and anal length of *Dysomma anguillarid* before and after lipid removal

## 3 讨论

### 3.1 脂质去除对碳、氮同位素测定的影响

脂质是机体组织的重要成分, 不同个体组织间脂质含量各不相同, DeNiro 等<sup>[23]</sup>研究发现, 脂质具有更低的  $\delta^{13}\text{C}$  值, 因此, 对于脂质含量高的生物样品, 其  $\delta^{13}\text{C}$  值会因脂质的影响而相对偏负, 这样不同个体间  $\delta^{13}\text{C}$  的比较可能会因脂质含量的变化而出现误判。为避免脂质对同位素测定的影响, 需要对组织样品开展脂质去除或者数学校正前处理, 达到数据归一化的目的<sup>[16, 22]</sup>。采用化学试剂对脂质进行提取是去除组织中脂质最直接的方式, Schlechtriem 等<sup>[14]</sup>利用 Soxhlet 提取法(汽油-醚)、氯仿-甲醇萃取法<sup>[24]</sup>、丙二醇-环己烷萃取法<sup>[25]</sup>研究  $\delta^{13}\text{C}$  值的变动, 发现同位素值均显著提升, 但值得注意的是 Soxhlet 提取法提取能力有限, 只能提取游离态的脂质, 无法完全提取组织内部脂质。本研究使用传统的氯仿: 甲醇(2 : 1)混合溶液对肌肉样本进行脂质去除, 测定结果表明两组

样本  $\Delta\delta^{13}\text{C}$ 、 $\Delta\delta^{15}\text{N}$  与  $\Delta\text{C} : \text{N}$  均有显著变化, 说明该脂质去除方法对处理前肛鳗肌肉样品有效。

脂质在合成过程中丙酮酸转化为乙酰辅酶 A 时发生同位素效应, 使脂质相对于蛋白质和碳水化合物具有更低的  $\delta^{13}\text{C}$  值<sup>[16, 23]</sup>, Pinnegar 等<sup>[26]</sup>对鳟(*Salmo platycephalus*)以及贡艺等<sup>[27]</sup>对北太平洋柔鱼(*Ommastrephes bartramii*)的研究中, 脂质去除均导致  $\delta^{13}\text{C}$  值显著增加。但有些生物组织中脂质含量极低, 脂质去除前后  $\delta^{13}\text{C}$  值变化不显著<sup>[28]</sup>; Post 等<sup>[16]</sup>对比分析了 16 种水生生物脂质去除前后稳定同位素测定结果, 发现当  $\text{C} : \text{N} > 3.5$  时才需要对肌肉组织进行脂质去除。在本研究中, 脂质去除后的两组样本  $\delta^{13}\text{C}$  值平均提高 1.21‰、1.78‰,  $\text{C} : \text{N}$  平均降低 0.55、1.09, 且  $\text{C} : \text{N}$  与  $\delta^{13}\text{C}$  的差值存在正相关关系, 这表明脂质去除对测定结果有显著影响, 且对于脂质含量较高的肌肉样本, 提取效果更好。

鱼类中脂质主要由组织脂质(磷脂、固醇等)

和贮藏脂质(甘油三酯)组成, 脂质去除主要去除鱼体中可溶于氯仿-甲醇等有机溶剂的贮藏脂质<sup>[29]</sup>, 但在去除脂质的同时与脂质相连的氨基酸也被同时去除了, 造成去除后样本  $\delta^{15}\text{N}$  增加<sup>[28]</sup>。Sotiropoulos 等<sup>[30]</sup>发现鲮(*Cirrhinus molitorella*)等 3 种鱼类在肌肉脂质去除后,  $\delta^{15}\text{N}$  值提高了 0.3‰~0.6‰; Ingram 等<sup>[31]</sup>对白斑鲈(*Lateolabrax japonicus*)、黄鳍海鲷(*Gasterosteus aculeatus*)等多种鱼类脱脂研究发现, 脂质去除后  $\delta^{15}\text{N}$  值平均升高 0.4‰。本研究中组 1、组 2 肌肉样本  $\delta^{15}\text{N}$  值平均提高 0.28‰、0.24‰, 与其他人的研究一致。脂质去除对氮稳定同位素值具有显著的增高效应, 本研究进一步证实了脱脂后的衍生物对同位素特征造成的影响, 建议今后的研究应避免使用脂质去除后的  $\delta^{15}\text{N}$  值确定生物的营养位置。

### 3.2 脂质校正模型

脂质去除包括物理法、化学法、酶法、复合法等传统方法<sup>[32-34]</sup>, 与这些传统方法相比, 脂质校正模型简化了前处理过程, 省时省力。目前脂质校正模型分为线性模型、质量平衡模型和非线性模型三类, 其中线性模型最适于相对较低的 C:N 值(2<C:N<10), 非线性模型适用于较宽的 C:N

值范围(2<C:N<63), 质量平衡模型通常假设组织样本仅由蛋白质和脂质组成, 并且需要估计特定组织的纯蛋白质 C:N 比<sup>[12, 35]</sup>。表 6 列举了目前主要的线性和非线性脂质校正模型, Reum<sup>[21]</sup>研究发现模型 3 对白斑角鲨(*Squalus acanthias*)肌肉组织去除前后  $\delta^{13}\text{C}$  值拟合度最高; 徐亮等<sup>[36]</sup>研究发现模型 1 最适用于鸢乌贼(*Sthenoethis oualaniensis*)脂质校正, 但上述研究均未对不同 C:N 的样本进行分组校正; Post 等<sup>[16]</sup>对 16 种水生生物测定结果进行脂质校正, 结果表明模型 2 的线性校正模型拟合度最高, 但其仅将样本 C:N 的取值划分为 C:N<3.5 以及 C:N>3.5 两个组别, 并未对 C:N>3.5 的组内差异开展研究。为了探究这一内部差异性, 本研究将 C:N>3.5 的样本分为 3.5<C:N≤4.0 及 C:N>4.0 两组, 并选取 4 种常见的线性和非线性模型对脂质去除前后样本进行回归分析。结果表明, 模型 2 (线性模型)对组 1 肌肉样本拟合度最高, AIC 值最小(10.58), 且 C:N 与  $\Delta\delta^{13}\text{C}$  存在显著线性关系(图 2); 模型 4(非线性模型)对组 2 肌肉样本拟合度最高, AIC 值最小(0.31), 因此对于不同水域、不同物种、不同脂肪含量的样本, 所适用的脂质校正模型可能会有所差异。

表 6 前肛鳗不同脂质校正模型的适用性  
Tab. 6 Applicability of different lipid correction models for *Dysomma anguillaris*

序号 number	脂质校正模型 lipid correction model	选取对象 selected object	文献 reference
1	$\Delta\delta^{13}\text{C} = a \times \text{C} : \text{N} + b$	16 种水生生物 16 aquatic organisms	[16]
2	$\Delta\delta^{13}\text{C} = (a \times \text{C} : \text{N} + b) / (\text{C} : \text{N} + c)$	白斑角鲨 <i>Squalus acanthias</i>	[21]
3	$\Delta\delta^{13}\text{C} = (a \times \text{C} : \text{N} + b) / (\text{C} : \text{N} + c)$	75 种动植物及沉积物 75 species of animals, plants and sediments	[20]
4	$\Delta\delta^{13}\text{C} = a \times \delta^{13}\text{C} + b$	鸢乌贼 <i>Sthenoethis oualaniensis</i>	[36]
5	$\Delta\delta^{13}\text{C} = (a \times \text{C} : \text{N} + b) / (\text{C} : \text{N} + c)$	北太平洋柔鱼 <i>Ommastrephes bartramii</i>	[27]
6	$\delta^{13}\text{C}_{\text{protein}} = \delta^{13}\text{C}_{\text{bulk}} + [\Delta\delta^{13}\text{C}_{\text{lipid}} \times (\text{C} : \text{N}_{\text{protein}} - \text{C} : \text{N}_{\text{bulk}})] / \text{C} : \text{N}_{\text{bulk}}$	大西洋深海鱼类 Atlantic deep sea fishes	[37]
7	$\Delta\delta^{13}\text{C} = a \times \text{C} : \text{N} + b$	前肛鳗(3.5<C:N≤4.0) <i>Dysomma anguillaris</i>	本研究 this study
8	$\Delta\delta^{13}\text{C} = a_1 + a_2 \times \ln(\text{C} : \text{N})$	前肛鳗(C:N>4.0) <i>Dysomma anguillaris</i>	本研究 this study

### 3.3 前肛鳗碳氮稳定同位素特征随肛长的变化

体长发育过程中会伴随生物体食性转变<sup>[38]</sup>。张波<sup>[39]</sup>、颜云榕等<sup>[40]</sup>在对东、黄海和北部湾带鱼(*Trichiurus lepturus*)开展食性分析时发现, 带鱼的摄食种类在生长发育过程中发生了转变; 李振华

等<sup>[38]</sup>发现东海中北部小眼绿鳍鱼(*Chelidonichthys spinosus*)个体发育过程中摄食饵料个体逐渐增大, 摄食强度显著增强, 这种食性转变导致生物体不同体长间的稳定同位素比值存在显著差异<sup>[40]</sup>, 宁加佳等<sup>[41]</sup>基于稳定同位素的六指马鲛(*Polynemus*

*sextarius*)食性特征研究发现,南海大鹏湾六指马鲛  $\delta^{13}\text{C}$ 、 $\delta^{15}\text{N}$  与体长存在显著正相关关系。本研究发现脂质去除前  $\delta^{13}\text{C}$  值与肛长无显著线性关系,说明前肛鳗随个体发育未出现明显的摄食转变现象。然而脱脂后的数据结果却显示  $\delta^{13}\text{C}$  值与肛长呈现显著正相关关系,证明前肛鳗在个体发育过程中出现了食物源转变现象,且本研究中前肛鳗  $\delta^{15}\text{N}$  值随体长增长而增大也说明,前肛鳗在个体发育过程中摄食对象向高营养级饵料生物转变。因此,在开展稳定同位素研究中,需要注意生物体中的脂质含量不仅会导致  $\delta^{13}\text{C}$  的测定误差,更可能会引起对摄食生态的误判,这一点需要引起重视。

稳定同位素测定是否需要开展脂质去除至今仍有争议,通过本研究进一步证实了脂质去除这一前处理对测定肌肉样本  $\delta^{13}\text{C}$  是必要的,而对  $\delta^{15}\text{N}$  的测定则建议使用未处理样品;脂质去除和脂质校正模型是避免脂质对同位素测定产生影响的两种可靠方法,而脂质数学归一化方法因简化了样品制备,且更好地保持了  $\delta^{15}\text{N}$  分析样品的完整性,相信在今后的研究中会被广泛开发,具有较好的应用前景。稳定同位素分析已经从一项新兴技术迅速转变为生态学家认可的最有价值的工具之一。本研究从高脂肪含量鱼类入手,探讨脂质去除对  $\delta^{13}\text{C}$ 、 $\delta^{15}\text{N}$  测定的影响,对推动稳定同位素技术在我国近海水域生物食性及群落营养结构研究中的应用具有重要的现实意义。

#### 参考文献:

- [1] Ridzuan D S, Rawi C S M, Hamid S A, et al. Determination of food sources and trophic position in Malaysian tropical highland streams using carbon and nitrogen stable isotopes[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2017, 37: 97-104.
- [2] Lin L S. Study on feeding habit and trophic level of redlip croaker in Changjiang estuary[J]. *Marine Fisheries*, 2007, 29(1): 44-48. [林龙山.长江口近海小黄鱼食性及营养级分析[J]. *海洋渔业*, 2007, 29(1): 44-48.]
- [3] Li Z Y, Zuo T, Dai F Q, et al. Trophic level analysis of organisms from Changjiang estuary and adjacent waters of southern Yellow Sea in spring with stable isotope technology[J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2010, 17(1): 103-109. [李忠义, 左涛, 戴芳群, 等. 运用稳定同位素技术研究长江口及南黄海水域春季拖网渔获物的营养级[J]. *中国水产科学*, 2010, 17(1): 103-109.]
- [4] Stowasser G, Atkinson A, McGill R A R, et al. Food web dynamics in the Scotia Sea in summer: A stable isotope study[J]. *Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography*, 2012, 59-60: 208-221.
- [5] Keough J R, Sierszen M E, Hagley C A. Analysis of a Lake Superior coastal food web with stable isotope techniques[J]. *Limnology and Oceanography*, 1996, 41(1): 136-146.
- [6] Post D M. Using stable isotopes to estimate trophic position: Models, methods, and assumptions[J]. *Ecology*, 2002, 83(3): 703-718.
- [7] Zanden M J V, Rasmussen J B. Variation in  $\delta^{15}\text{N}$  and  $\delta^{13}\text{C}$  trophic fractionation: Implications for aquatic food web studies[J]. *Limnology and Oceanography*, 2001, 46(8): 2061-2066.
- [8] Peterson B J, Fry B. Stable isotopes in ecosystem studies[J]. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 1987, 18(1): 293-320.
- [9] Li B, Xu D D, Wu D, et al. Research on carbon sources of river food webs based on the carbon and nitrogen stable isotopic technique[J]. *Journal of Nuclear Agricultural Sciences*, 2017, 31(5): 1029-1035. [李斌, 徐丹丹, 吴迪, 等. 基于 C、N 同位素技术的河流食物网基础碳源研究进展[J]. *核农学报*, 2017, 31(5): 1029-1035.]
- [10] Li Y K. Review on the feeding ecology and migration patterns of sharks using stable isotopes[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2014, 25(9): 2756-2764. [李云凯. 稳定同位素技术在鲨鱼摄食和洄游行为研究中的应用[J]. *应用生态学报*, 2014, 25(9): 2756-2764.]
- [11] Shen Y X. *Aquatic Food Science*[M]. Beijing: China Agriculture Press, 2001. [沈月新. *水产食品学*[M]. 北京: 中国农业出版社, 2001.]
- [12] Sweeting C J, Polunin N V C, Jennings S. Effects of chemical lipid extraction and arithmetic lipid correction on stable isotope ratios of fish tissues[J]. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 2006, 20(4): 595-601.
- [13] Ruiz-Cooley R I, Garcia K Y, Hetherington E D. Effects of lipid removal and preservatives on carbon and nitrogen stable isotope ratios of squid tissues: Implications for ecological studies[J]. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 2011, 407: 101-107.
- [14] Schleichtrien C, Focken U, Becker K. Effect of different lipid extraction methods on  $\delta^{13}\text{C}$  of lipid and lipid-free fractions of fish and different fish feeds[J]. *Isotopes in Environmental and Health Studies*, 2003, 39(2): 135-140.
- [15] Murry B A, Farrell J M, Teece M A, et al. Effect of lipid extraction on the interpretation of fish community trophic relationships determined by stable carbon and nitrogen isotopes[J]. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*,



- 2006, 63: 2167-2172.
- [16] Post D M, Layman C A, Arrington D A, et al. Getting to the fat of the matter: Models, methods and assumptions for dealing with lipids in stable isotope analyses[J]. *Oecologia*, 2007, 152: 179-189.
- [17] Ricca M A, Miles A K, Anthony R G, et al. Effect of lipid extraction on analyses of stable carbon and stable nitrogen isotopes in coastal organisms of the Aleutian archipelago[J]. *Canadian Journal of Zoology*, 2007, 85(1): 40-48.
- [18] Ji W W, Chen X Z, Jiang Y Z, et al. Stable isotope analysis of some representative nektonic organisms in the central and northern part of East China Sea[J]. *Marine Fisheries*, 2011, 33(3): 241-250. [纪炜炜, 陈雪忠, 姜亚洲, 等. 东海中北部游泳动物稳定碳氮同位素研究[J]. *海洋渔业*, 2011, 33(3): 241-250.]
- [19] Cai D L, Li H Y, Tang Q S, et al. Construction of a continuous trophic spectrum for the food web of Yellow Sea and East China Sea: insight from carbon and nitrogen stable isotope results[J]. *Science in China Series C: Life Sciences*, 2005, 35(2): 123-130. [蔡德陵, 李红燕, 唐启升, 等. 黄东海生态系统食物网连续营养谱的建立: 来自碳氮稳定同位素方法的结果[J]. *中国科学 C 辑: 生命科学*, 2005, 35(2): 123-130.]
- [20] McConnaughey T, McRoy C P. Food-web structure and the fractionation of carbon isotopes in the Bering Sea[J]. *Marine Biology*, 1979, 53: 257-262.
- [21] Reum J C P. Lipid correction model of carbon stable isotopes for a cosmopolitan predator, spiny dogfish *Squalus acanthias*[J]. *Journal of Fish Biology*, 2011, 79: 2060-2066.
- [22] Logan J M, Jardine T D, Miller T J, et al. Lipid corrections in carbon and nitrogen stable isotope analyses: Comparison of chemical extraction and modelling methods[J]. *Journal of Animal Ecology*, 2008, 77(4): 838-846.
- [23] DeNiro M J, Epstein S. Mechanism of carbon isotope fractionation associated with lipid synthesis[J]. *Science*, 1977, 197(4300): 261-263.
- [24] Bligh E G, Dyer W J. A rapid method of total lipid extraction and purification[J]. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*, 1959, 37(1): 911-917.
- [25] Smedes F. Determination of total lipid using non-chlorinated solvents[J]. *The Analyst*, 1999, 124(11): 1711-1718.
- [26] Pinnegar J K, Polunin N V C. Differential fractionation of  $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^{15}\text{N}$  among fish tissues: implications for the study of trophic interactions[J]. *Functional Ecology*, 1999, 13: 225-231.
- [27] Gong Y, Chen X J, Gao C X, et al. Effects of lipid extraction on stable carbon and nitrogen isotope analyses of *Ommastrephes bartramii* muscle[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2014, 25(11): 3349-3356. [贡艺, 陈新军, 高春霞, 等. 脂类抽提对北太平洋柔鱼肌肉碳、氮稳定同位素测定结果的影响[J]. *应用生态学报*, 2014, 25(11): 3349-3356.]
- [28] Bodin N, Le Loc'h F, Hily C. Effect of lipid removal on carbon and nitrogen stable isotope ratios in crustacean tissues[J]. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 2007, 341(2): 168-175.
- [29] Wu Y Y, Zhu X J. Review on research progress in the degreasing for fish[J]. *Journal of Nuclear Agricultural Sciences*, 2016, 30(6): 1163-1168. [吴燕燕, 朱小静. 鱼类脱脂方法研究进展[J]. *核农学报*, 2016, 30(6): 1163-1168.]
- [30] Sotiropoulos M A, Tonn W M, Wassenaar L I. Effects of lipid extraction on stable carbon and nitrogen isotope analyses of fish tissues: Potential consequences for food web studies[J]. *Ecology of Freshwater Fish*, 2004, 13(3): 155-160.
- [31] Ingram T, Matthews B, Harrod C, et al. Lipid extraction has little effect on the  $\delta^{15}\text{N}$  of aquatic consumers[J]. *Limnology and Oceanography: Methods*, 2007, 5(10): 338-342.
- [32] Ou Y J, Cai S J, Lin W, et al. Comparison of degreasing methods for fatty red fish surimi[J]. *Food Science*, 2009, 30(24): 179-182. [欧阳杰, 蔡淑君, 林蔚, 等. 多脂红身鱼鱼糜脱脂方法的对比实验研究[J]. *食品科学*, 2009, 30(24): 179-182.]
- [33] Xu Q L, Liu H M, Chen X, et al. Degreasing methods and enzymatic hydrolysis for silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) flesh[J]. *Fisheries Science*, 2006, 25(9): 438-442. [许庆庆, 刘恒明, 陈欣, 等. 酶法制备脱脂鱼蛋白的初步研究[J]. *水产科学*, 2006, 25(9): 438-442.]
- [34] Li Y, Ma L, Zhang Y H. Optimization of ultrasonic emulsification for the degreasing of fish skin[J]. *Food Science*, 2012, 33(24): 127-131. [李晔, 马良, 张宇昊. 正交试验优化鱼皮超声乳化法脱脂工艺[J]. *食品科学*, 2012, 33(24): 127-131.]
- [35] Boecklen W J, Yarnes C T, Cook B A, et al. On the use of stable isotopes in trophic ecology[J]. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 2011, 42(1): 411-440.
- [36] Xu L, Ning J J, Wang X H, et al. Effect of lipid removal on carbon and nitrogen isotopes of *Sthenoethis oualaniensis* from South China Sea[J]. *South China Fisheries Science*, 2018, 14(4): 88-93. [徐亮, 宁加佳, 王雪辉, 等. 脂类去除对南海鳶乌贼肌肉碳、氮稳定同位素分析的影响[J]. *南方水产科学*, 2018, 14(4): 88-93.]
- [37] Hoffman J C, Sutton T T. Lipid correction for carbon stable isotope analysis of deep-sea fishes[J]. *Deep Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers*, 2010, 57(8): 956-964.
- [38] Li Z H, Xu K D, Jiang R J, et al. Diet composition and feeding habits variation with body length of *Chelidonichthys spinosus* in central and northern East China Sea[J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2011, 18(1): 185-193. [李振华, 徐开达, 蒋日进, 等. 东海中北部小眼绿鳍鱼的食物组成及摄食习性的体长变化[J]. *中国水产科学*, 2011, 18(1): 185-193.]

- [39] Zhang B. Feeding habits and ontogenetic diet shift of hairtail fish (*Trichiurus lepturus*) in East China Sea and Yellow Sea[J]. Marine Fisheries Research, 2004, 25(2): 6-12. [张波. 东、黄海带鱼的摄食习性及其随发育的变化[J]. 海洋水产研究, 2004, 25(2): 6-12.]
- [40] Yan Y R, Zhang W K, Lu H S, et al. Using stable isotopes to analyze feeding habits and trophic position of hairtail (*Trichiurus lepturus*) from the Beibu Gulf, South China Sea[J]. Oceanologia et Limnologia Sinica, 2012, 43(1): 192-200. [颜云榕, 张武科, 卢伙胜, 等. 应用碳、氮稳定同位素研究北部湾带鱼(*Trichiurus lepturus*)食性及营养级[J]. 海洋与湖沼, 2012, 43(1): 192-200.]
- [41] Ning J J, Du F Y, Wang X H, et al. Feeding habits of sixfinger threafin *Polynemus sextarius* revealed in stable isotope analysis[J]. Oceanologia et Limnologia Sinica, 2015, 46(4): 758-763. [宁加佳, 杜飞雁, 王雪辉, 等. 基于稳定同位素的六指马鲛(*Polynemus sextarius*)食性特征[J]. 海洋与湖沼, 2015, 46(4): 758-763.]

## Effects of lipid removal on the stable isotopes of *Dysomma anguillaris* in the offshore waters of southern Zhejiang

YANG Rui<sup>1</sup>, TIAN Siqian<sup>1,2,3</sup>, GAO Chunxia<sup>1,2,3,4</sup>, DAI Libin<sup>1</sup>, WANG Shicong<sup>1</sup>

1. College of Marine Sciences, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China;
2. National Engineering Research Center for Oceanic Fisheries, Shanghai 201306, China;
3. The Key Laboratory of Sustainable Exploitation of Oceanic Fisheries Resources, Ministry of Education, Shanghai 201306, China;
4. Scientific Observing and Experimental Station of Oceanic Fishery Resources, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Shanghai 201306, China

**Abstract:** Carbon and nitrogen stable isotope technology is an important tool for delineating the nutritional positions and structure of ecosystem food webs. Muscles are commonly used to determine stable isotopes, but changes in the muscle lipid contents affect the results. To investigate this effect, this study selected 45 samples of *Dysomma anguillaris* from the offshore waters of southern Zhejiang and divided them into two groups,  $3.5 < C:N \leq 4.0$  (group 1) and  $C:N > 4.0$  (group 2). Changes in the carbon-nitrogen stable isotope ratios before and after lipid removal and the best lipid correction model were selected from multiple regression models. Pearson correlation analysis revealed significant positive correlations of  $\delta^{13}C$  (stable isotope of carbon),  $\delta^{15}N$  (stable isotope of nitrogen), and C:N before and after lipid removal in group 1 ( $P < 0.05$ ). C:N and  $\Delta\delta^{13}C$  were also positively correlated ( $P < 0.05$ ).  $\delta^{15}N$  before and after lipid removal in group 2 was significantly positively correlated ( $P < 0.05$ ),  $\delta^{13}C$  and C:N were not correlated ( $P < 0.05$ ), but C:N and  $\Delta\delta^{13}C$  were positively correlated ( $P < 0.05$ ). According to AIC (Akaike information criterion), the linear model has the best fitting degree for the samples with C : N in the range of 3.5 to 4.0, and the fitting equation is  $\Delta\delta^{13}C = 1.30 \times (C : N) - 3.69$ . The nonlinear model has the highest fitting degree for samples with C : N more than 4.0, and the fitting equation is  $\Delta\delta^{13}C = -5.71 + 5.12 \times \ln(C : N)$ . This study found that the lipid contents significantly affect the determination of carbon stable isotopes. Pretreatment by lipid removal is required for isotopic analysis, especially for muscle samples with high lipid contents. The lipid normalization model simplifies sample processing and has wide-ranging applicability. It is important to select the correct model for different species in diverse locations with varying fat contents.

**Key words:** isotope;  $\delta^{13}C$ ;  $\delta^{15}N$ ; *Dysomma anguillaris*; lipid removal; offshore water of southern Zhejiang; East China Sea

**Corresponding author:** GAO Chunxia. E-mail: cxgao@shou.edu.cn