貳、研究材料及分析方法

2-1 研究材料

本研究分析之活塞岩芯 MD012380 為法國海洋研究船瑪麗安·杜帆（*Marion Dufresne*）號於 2001 年夏天執行國際海洋古全球變遷計劃（IMAGES）第七航次（WEPAMA, Western Pacific Margins）時，在西太平洋邊緣海所採集的岩芯之一。MD012380 岩芯位於南緯 5.45 度、東經 126.54 度（圖 2-1），落於印尼的斑達海（Banda Sea）內，岩芯的採樣水深為 3232 公尺，總長度 39.90 公尺。岩芯 MD012380 取得後，在瑪麗安·杜帆號研究船上即刻做初步的岩芯分析描述，由觀察的結果（圖 2-2）顯示本岩芯沉積物多為生物源軟泥。

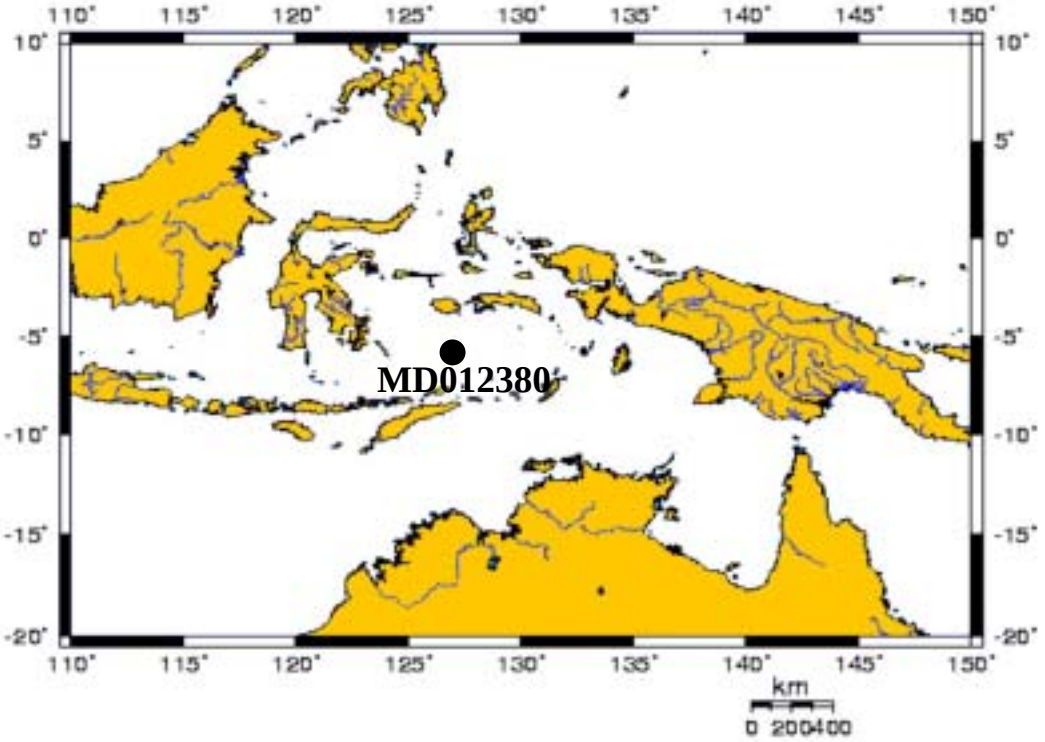


圖 2-1、MD012380 岩芯位置圖

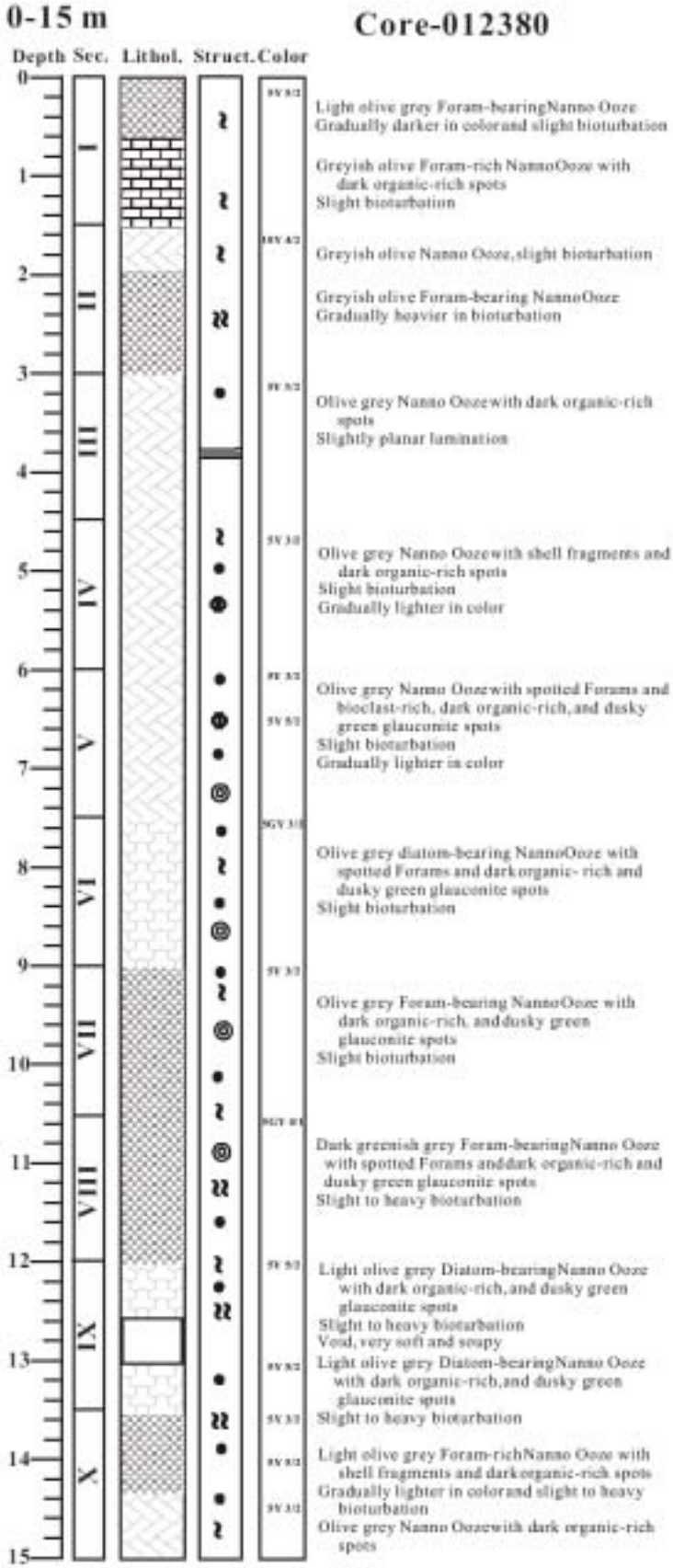


圖 2-2、MD012380 岩芯於瑪麗安·杜帆號研究船上所紀錄的岩芯描述：0-15m

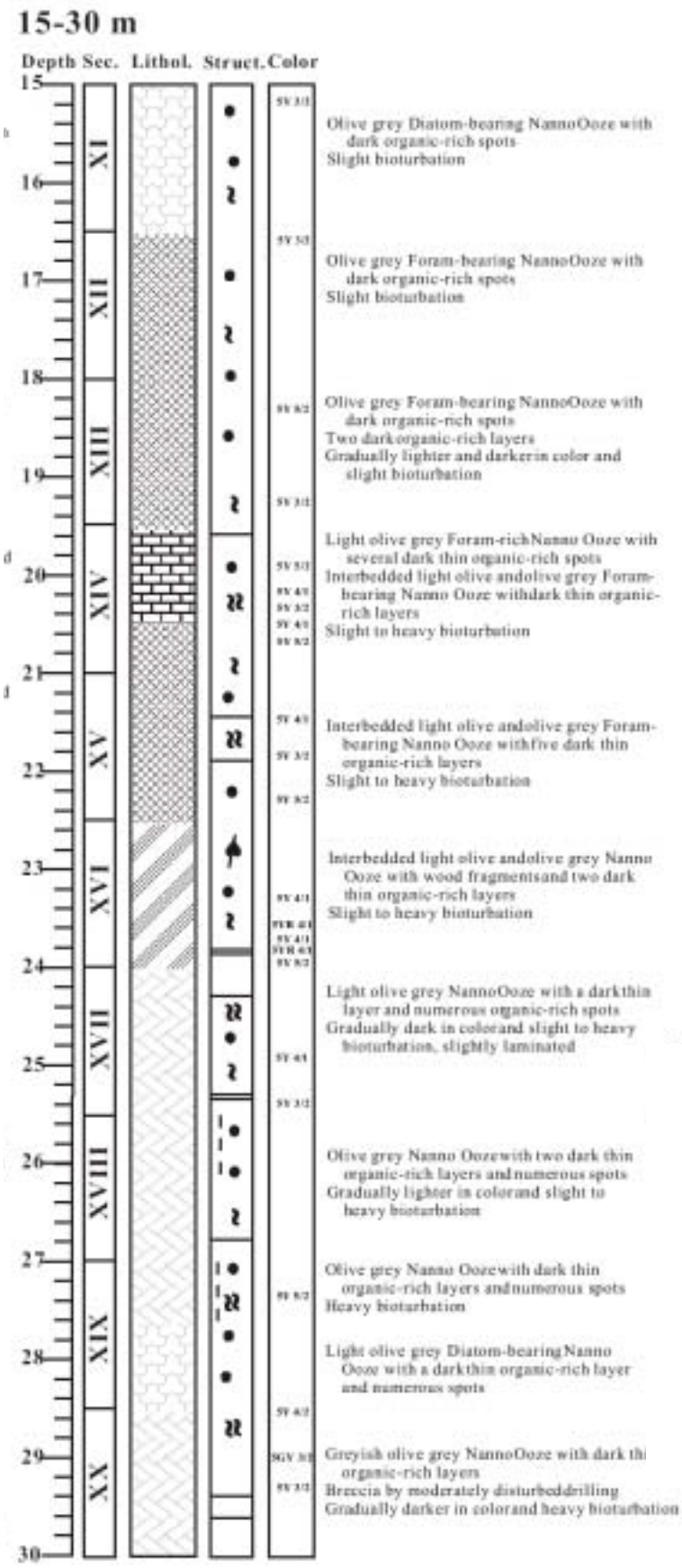
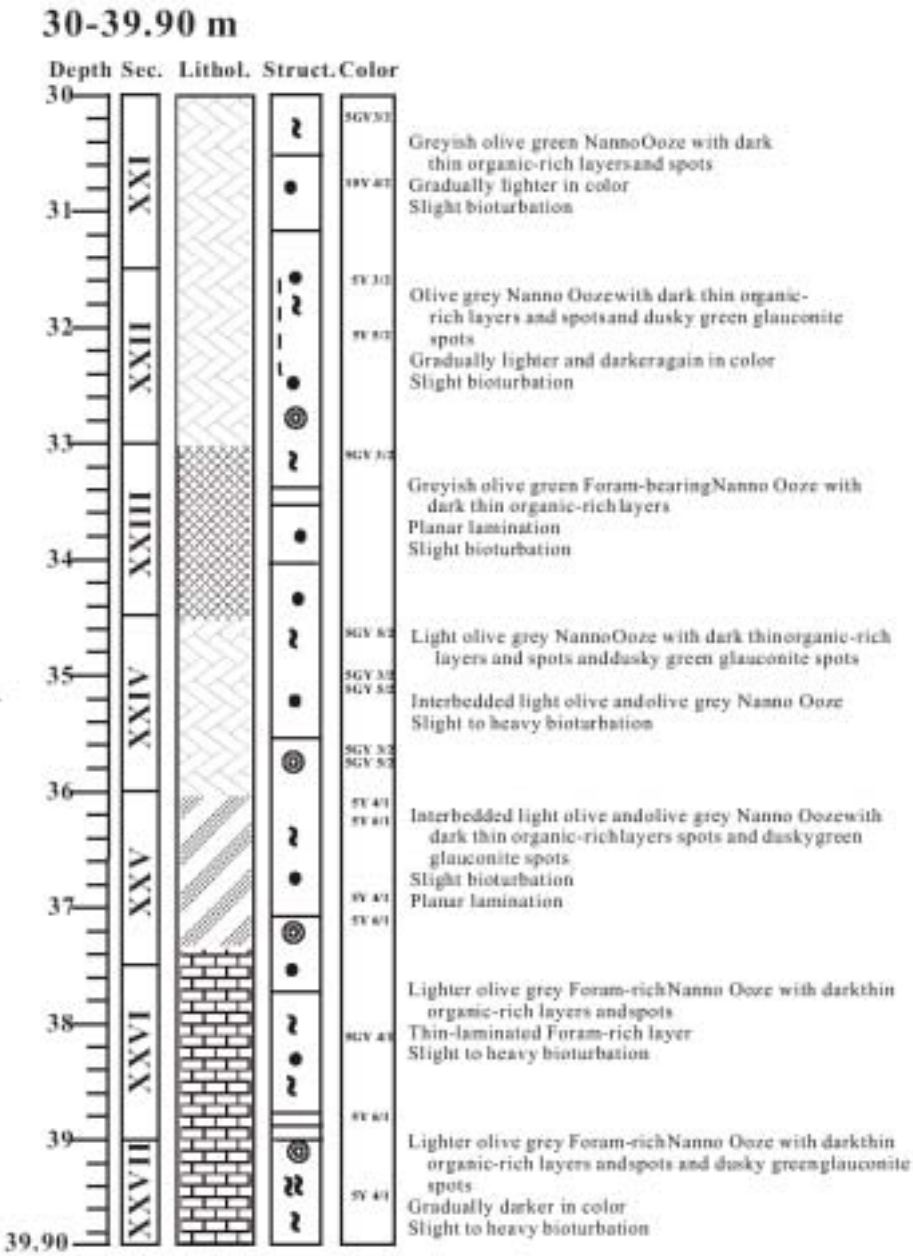


圖 2-2(續)、MD012380 岩芯於瑪麗安·杜帆號研究船上所紀錄的岩芯描述：15-30m



General description

The core is 3990 centimeters in length. The sediment compositions are dominated by nanno Oozes with forams and diatoms. The color changes from light olive grey, greyish olive to olive grey with spotted dark and dusky green. The sediments are composed dominantly of clay and silty clay with spotted pyrite, organic and glauconite spots. The age of this core is estimated as younger than 0.46 Ma by nanno-fossil biostratigraphy (NN20).

圖 2-2(續)、MD012380 岩芯於瑪麗安·杜帆號研究船上所紀錄的岩芯描述：30-39.9m

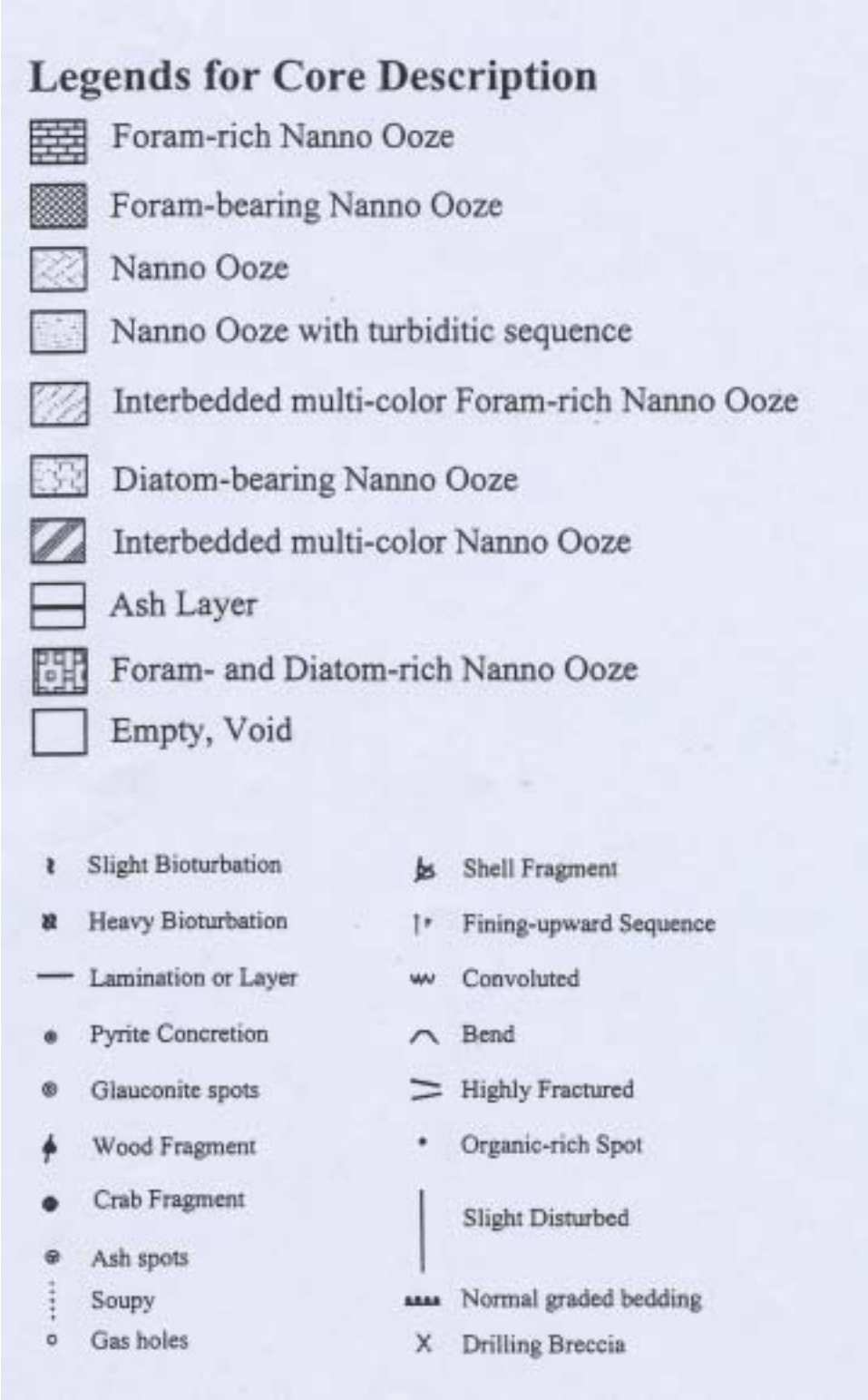


圖 2-2（續）、MD012380 岩芯描述圖例（shipboard Scientist party, IMAGES2001 “WEPAMA” Cruise report）

本研究取岩芯自頂部 2082 公分（約 25 萬年）以上的樣本，主要分析沉積物中氮同位素（$\delta^{15}N$），配合沉積物總有機碳組成（TOC）、總有機碳/總氮比值（C_{org}/N atomic ratio）及有機碳同位素（$\delta^{13}C_{org}$）等指標。所得資料比對氧同位素定年結果為涵蓋至 MIS7 與 8 交界（即 242ka）以來，包含最近 3 次冰期-間冰期的古氣候變化之研究。樣本分析之間距為 20 公分，另於岩芯自頂部 200 公分以來進行 10 公分較高解析度的分析。本研究期望剖析過去 25 萬年來 MD012380 岩芯中氮同位素變動的意義，重建班達海地區在冷期-暖期間古氣候變遷下古海水表層營養鹽利用率的變化，並進一步探討古生物生產力與湧昇流強度的關係，及其與古季風強度變化的相關性。

2-2 實驗分析流程

2-2.1 岩芯標本之乾燥與研磨

本研究所取得之岩芯樣本均先利用冷凍乾燥機進行冷凍乾燥 24 小時，去除沉積物中水分，再利用瑪瑙研缽研磨成粉末狀。以供下列各項指標（氮同位素、總有機碳、有機碳/總氮比、碳同位素）分析。

2-2.2 氮($\delta^{15}N$)、碳（$\delta^{13}C$）同位素分析方法

1. 標本前處理：

前處理的目的是將沈積物中的碳酸鈣與 HCl 反應，避免之後的實驗流程中因碳酸鈣反應產生的二氧化碳過量導致石英管破裂（發生於以真空萃取冷凝氣體收集法收集氣體時）或干擾質譜儀的測量，實驗步驟如下。

（1）計算可產生足夠供實驗分析的氣體之沉積物標本，（真空冷凝純化氣體收集：約需 10μmole N_2；自動分析系統：約需 1μmole N_2），MD012380 岩芯經計算約各需 400 及 40 毫克冷凍乾燥並研磨後之沉積物標本

（2）取冷凍乾燥並研磨成粉末狀的沉積物標本，秤重後放入離心管中

（3）加入約 50ml 之 2N 鹽酸於沉積物標本中，靜置約 3 小時使之充分去除標本中的碳酸鈣

（4）將離心管中的鹽酸倒掉後以二次蒸餾水（DDW）中和鹽酸及離心，此步驟至少需重複五次

（5）去除鹽酸後的沉積物標本以 50℃烘乾後再次磨勻以備進行下列之氮、碳同位素分析

本論文中沉積物標本穩定氮、碳同位素分析測定工作均借用台灣大學地質科學系陳于高教授負責管理的儀器設備（元素分析儀、質譜儀）進行氣體收集及分析測量。而部分標本之氮同位素分析於本論文工作發展之初，因自動分析系統（元素分析儀接質譜儀自動分析）尚未建立完備，故利用真空管路進行標本中所含氣體的收集（真空萃取冷凝氣體收集系統），取得欲分析氣體標本後再進行氣相質譜儀的氮同位素分析。此些標本所進行的氣體收集實驗工作亦利用陳于高教授實驗室之真空收集系統進行。

前處理方式討論：

根據 Lohse 等人（2000）的研究指出沉積物標本若以硫酸去除無機的碳酸鈣將可能影響氮同位素值，然而若沉積物中碳酸鈣含量過多卻可能造成石英管破裂導致實驗失敗或產生過多二氧化碳干擾氮同位素訊號，因此本研究為了解去酸與否及以不同的酸化後去除 HCl 方式（離心、抽濾）所可能造成的氮同位素值分析差異，因此利用實驗室未知氮同位素值的沉積物標本測試上述三種處理方式之氮同位素值，所得結果列於表 2-1 中。

根據表 2-1 可知標本酸化與否對沉積物的氮同位素值影響不大（未酸化標本之 $\delta^{15}N$=3.99±0.10‰；酸化後以離心方式去 HCl 之 $\delta^{15}N$=4.06±0.07‰），惟酸化後以抽濾方式去 HCl 之方法誤差較大（$\delta^{15}N$=3.74±0.22‰）。由於標本酸化後亦可從

事有機碳同位素的分析，因此本實驗選擇以酸化過的沉積物標本進行氮同位素分析。而酸化過後的沉積物樣本又以離心方式去 HCl 所得之氮同位素值較穩定，於是本研究之沉積物皆採取酸化後以離心去 HCl 方式前處理。

表 2-1、沉積物標本以不同方法前處理之氮同位素值比較

處理方式 / $\delta^{15}N$	未酸化（‰）	酸化後以離心方式去 HCl（‰）	酸化後以抽濾方式去 HCl（‰）
	3.93	4.03	3.82
	3.95	4.14	3.44
	3.94	3.97	3.76
	4.13	4.08	3.97
平均	3.99	4.06	3.74
標準差（1σ）	0.10	0.07	0.22

2. 氮同位素分析

利用自動分析系統與真空萃取冷凝氣體收集系統之氮同位素分析方法皆依據 Minagawa 等人（1984）提出的燃燒法（combustion method）將沉積物中以高溫燃燒後釋放出的氣體收集至質譜儀分析，分析各依以下步驟進行。

A.真空萃取冷凝氣體收集

真空萃取冷凝氣體收集方式為以人工方式，利用真空系統將沉積物標本內所

含的氮在真空狀態下以高溫燃燒後，經過氧化還原反應成 N_2 後純化於玻璃管中，再以質譜儀（Delta Plus, Finnigan MAT, Germany）分析得到沉積物的氮同位素值，其實驗步驟如下。

（1）將長 30 公分、外徑 10mm 之石英玻璃管以 550℃加熱 1 小時，去除附著於管壁上的有機質

（2）將適量的待測標本秤重，混合過量氧化銅（CuO）放入預先處理過之石英管，加入氧化銅的目的為在加熱過程中充作氧化劑以氧化沉積物標本中的氮組成

（3）加入少許銀粉，目的為與標本中所含的氯離子結合成氯化銀（AgCl），避免反應過程中產生氯氣（Cl_2），減低質譜儀中燈絲的壽命

（4）充填適量銅絲，當作還原劑，將沉積物中被氧化的氮成分還原成 N_2 氣體，充填方式如圖 2-3

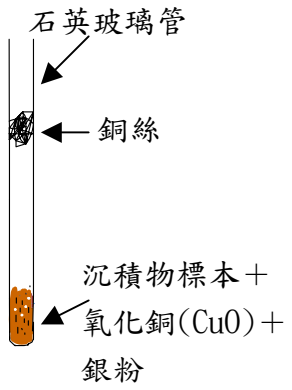


圖 2-3、沉積物標本填充氧化銅銀粉與銅絲方式示意圖

（5）將石英管接於真空系統（圖 2-4A、B、C 處）抽真空至 10^{-3}torr 以下，後以火燄槍封住石英管

（6）真空密封後的石英管放入高溫爐分三階段反應：

step1：升溫至 750℃，反應 30 分鐘

step2：每分鐘 1℃昇溫至 850℃，反應 240 分鐘

step1、2 之升溫過程目的為使標本中的氮與氧化銅進行氧化反應產生 N_2 與 NOx

step3：每分鐘降溫 0.75℃，反應 720 分鐘

step3 之降溫過程目的為將 step2 中 NOx 部分與銅絲反應，使 NOx 還原成 N_2

（7）反應後之石英管連接至真空系統純化氮氣，以下為純化氮氣步驟

（8）將接上石英玻璃管的真空系統抽至真空後（圖 2-4D 處），以斷管器（breaker）打斷石英玻璃管

（9）分別在圖 2-4a、2-4 b 處放上乾冰+異丙醇及液態氮，利用乾冰與液態氮溫度別低於水氣及二氧化碳凝固點的原理，抓住反應產生的水氣及二氧化碳

（10）等待五分鐘後利用液態氮（圖 2-4E 處）將剩餘氣體（氮氣）收集至充填了 silica 乾燥劑之玻璃管內，後以火燄槍將玻璃管封住，所收集的氣體即為純化的氮氣

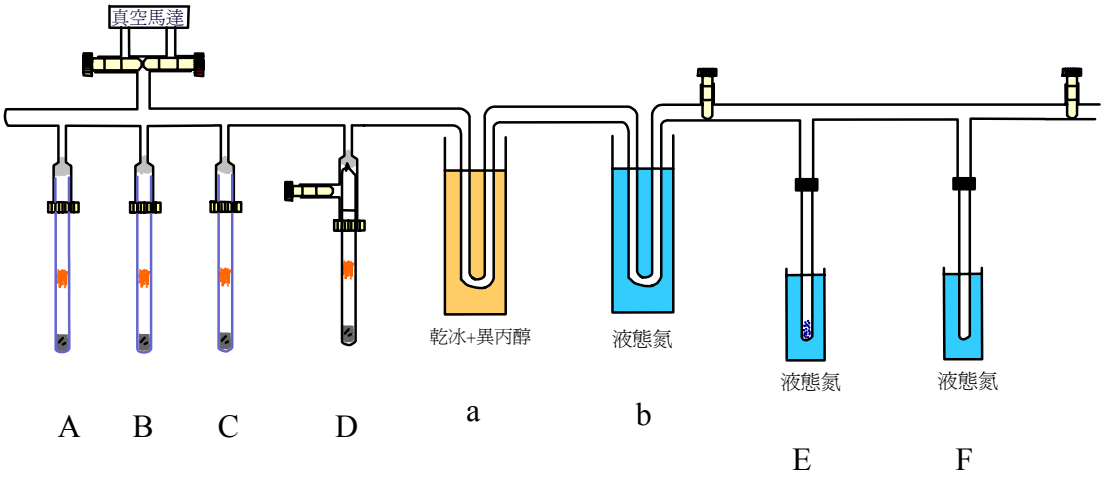


圖 2-4、真空冷凝萃取氣體收集系統簡圖

純化後的氮氣利用台灣大學陳于高老師穩定同位素地化實驗室所管理之 Finnigan MAT DELTA, Germany 質譜儀進行同位素分析。所得之同位素質以下列公式表示：

$$\delta X=(Rsam/Rstd-1)\times 10^3$$

其中：X：^{15}N

R：$^{15}N/^{14}N$

實驗分析的精確度乃利用 2 個沉積物樣品與一個合成的均質有機物標準樣品（L-Hisitdine，分子式 $C_6H_9N_3O_2$，分子量 155）作長期的監測，標準樣品長期監測的 $\delta^{15}N$ 平均值為-5.24±0.26‰（n=54）（如圖 2-5、表 2-2）。其中 2001 年 8 月 15 日至 8 月 23 日實驗係使用具有不同 $\delta^{15}N$ 值的標準樣品，所測得的平均值為-2.68±0.12‰。除了以標準樣品檢測之外，本實驗亦利用實驗室測試用沉積物標本測試，結果求出 $\delta^{15}N$ 值為 3.92±0.18‰（n=12）（表 2-3）。

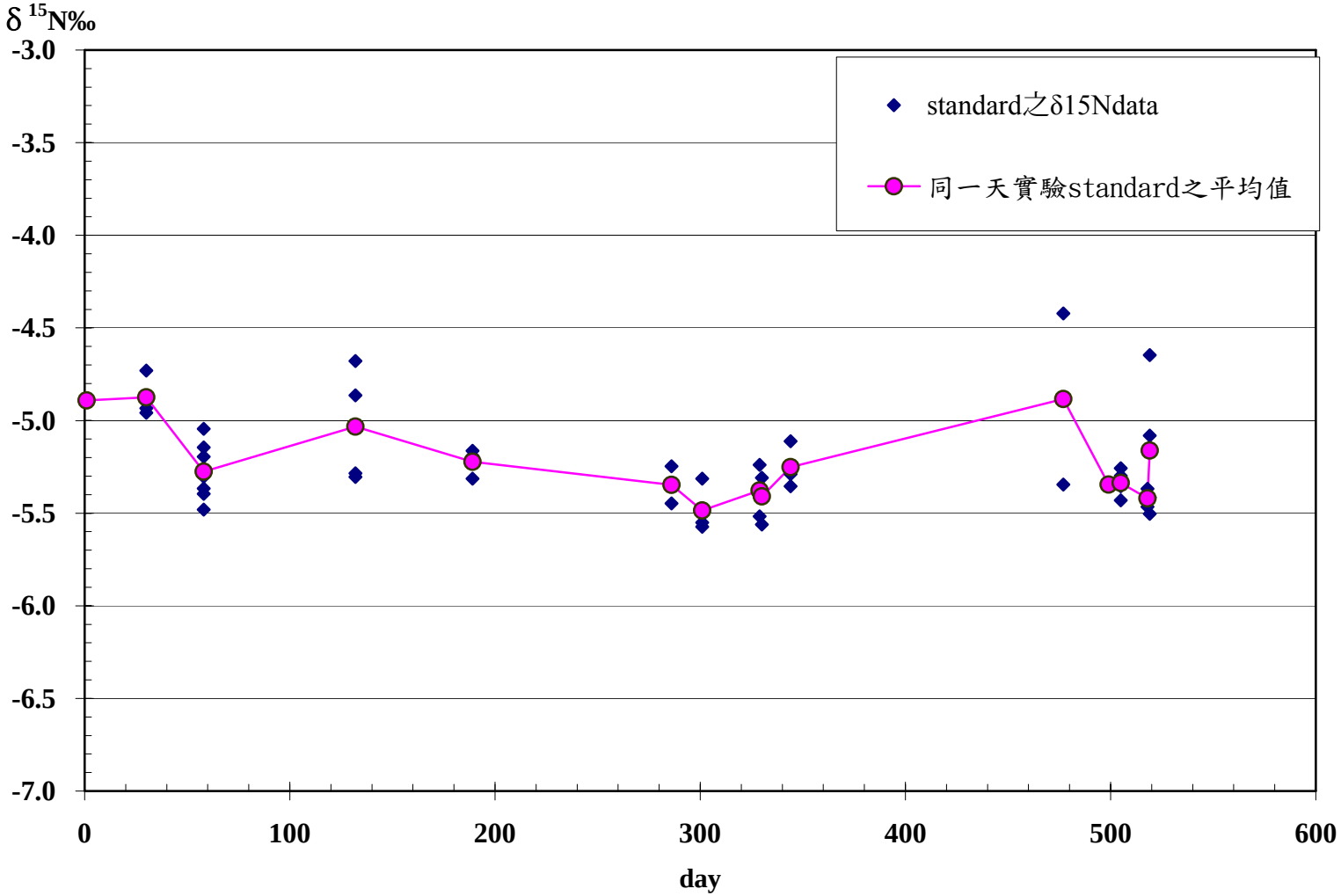


圖 2-5、利用真空冷凝萃取氣體收集系統分析之氮同位素標準樣品(L-Histidine) 隨時間變化圖

表 2-2、利用真空冷凝萃取氣體收集系統分析之氮同位素標準樣品(L-Histidine)隨時間變化

	Standard1（L-Hisitdine）				Standard2（L-Hisitdine）-註		
實驗時間	02/27/01	03/05/01	04/25/01	07/08/01	08/15/01	08/16/01	08/23/02
$\delta^{15}N$ 值	-4.89	-4.96	-5.05	-5.30	-2.53	-2.72	-2.55
		-4.93	-5.20	-5.29	-2.62	-2.69	-2.83
		-4.73	-5.15	-4.86		-2.85	-2.67
			-5.30	-4.68			
			-5.27				
			-5.40				
			-5.48				
			-5.37				
平均	-4.89	-4.87	-5.28	-5.03	-2.57	-2.75	-2.68

Standard1（L-Hisitdine）							
實驗時間	09/03/01	12/09/01	12/24/01	01/21/02	01/22/02	02/05/02	06/18/02
$\delta^{15}N$ 值	-5.19	-5.45	-5.31	-5.24	-5.31	-5.11	-4.42
	-5.31	-5.25	-5.51	-5.52	-5.56	-5.29	-5.35
	-5.16		-5.55		-5.37	-5.36	
			-5.57		-5.39		
平均	-5.22	-5.35	-5.49	-5.39	-5.41	-5.25	-4.88

Standard1（L-Hisitdine）				
實驗時間	07/10/02	07/16/02	07/29/02	07/30/02
$\delta^{15}N$ 值	-5.35	-5.30	-537	-4.65
		-5.26	-5.47	-5.42
		-5.43	-5.43	-5.50
		-5.36		-508
平均	-5.35	-5.34	-5.42	-5.16

註：實驗過程使用具不同氮同位素值的標準樣品（L-Hisitdine）--standard1 及 standard2 監控實驗過程誤差。

表 2-3、真空冷凝萃取氣體收集系統實驗室測試用沉積物標本測試結果

標 本	$\delta^{15}N$
test1	3.96
test2	3.93
test3	3.77
test4	4.02
test5	4.13
test6	3.96
test7	3.44
test8	3.89
test9	3.95
test10	3.90
test11	3.97
test12	4.14
平均	3.92
標準差標準差（1σ）	0.18

B.標本自動分析系統

自動分析系統是將沉積物標本經元素分析儀（ThermoQuest CE INSTRUMENT 之 EA 1110 CHNS）高溫燃燒後所產生之氮氣、二氧化碳以攜帶氣體（carrier gas，本分析所使用之氣體為屬惰性氣體之氦氣）自動導入質譜儀（Delta Plus, Finnigan MAT, Germany）進行同位素分析，其步驟如下：

（1） 以錫囊（Tin capsule）將適量經前處理步驟後的沉積物標本包裹（約可產生 3 福特電壓之氮氣或二氧化碳之沉積物）

（2） 將包好的沉積物標本放入元素分析儀的自動旋轉盤內進行氧化還原反應產生氮氣（或二氧化碳），以氦氣導入質譜儀分析

（3） 元素分析儀內填充之氧化還原反應藥品如 2-6 圖，沉積物標本經燃燒後所產生的氣體將依序經由 A→B 兩管進行氧化還原反應。

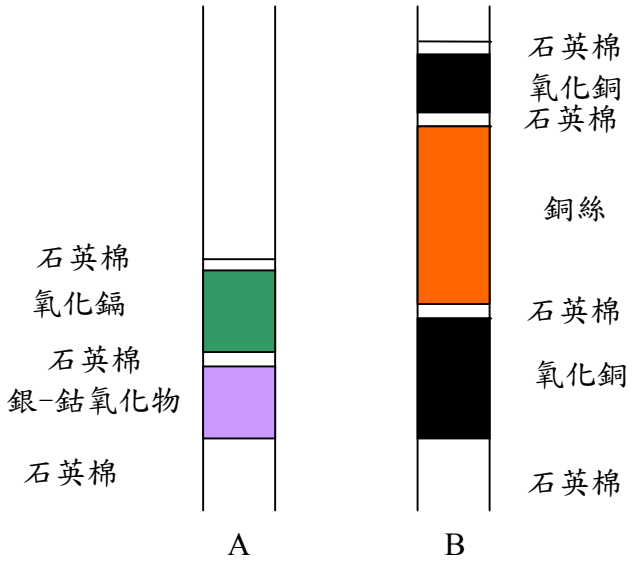


圖 2-6、元素分析儀內填充反應藥品圖

自動化分析系統的標本氮同位素值亦以實驗室合成的均質有機物 L-Hisitdine 監控重複分析誤差以得知實驗分析精確度，結果其氮同位素值平均為 -5.26±0.15‰（表 2-4）。另以 MD012380 岩芯進行重複分析，結果之氮同位素平

均值為 6.99±0.12‰（標本岩芯深度 162cm）及 6.92±0.11‰（標本岩芯深度為 747cm）（詳見表 2-5）。而沉積物有機碳同位素的重複分析誤差則以石墨標準樣品（標準碳同位素值為-15.90±0.30‰）監測，分析結果之碳同位素值為-15.93±0.12‰（表 2-4），本實驗並利用 MD012380 岩芯 747cm 進行重複分析，結果為-21.01±0.13‰。

表 2-4、自動分析系統標準樣品重複分析結果

標本	L-Hisitdine（δ^{15}N）	石墨（δ^{13}C）
No.1	-5.30	-15.82
No.2	-5.38	-16.03
No.3	-5.31	-15.84
No.4	-5.35	-16.11
No.5	-5.03	-15.87
No.6	-5.13	-15.77
No.7	-5.40	-15.92
No.8	-4.97	-15.90
No.9	-5.46	-16.09
No.10	-5.36	
No.11	-5.34	
No.12	-5.33	
No.13	-5.19	
No.14	-5.38	
No.15	-5.23	
平均	-5.26	-15.93
標準差（1σ）	0.15	0.12

表 2-5、MD012380 標本自動分析系統重複分析結果

樣本	162cm	747cm
δ^{15}N 值	6.93 7.14 7.02 6.87	7.04 6.97 6.92 6.77
平均	6.99	6.92
標準差（1σ）	0.12	0.11
樣本	747cm	
δ^{13}C 值	-21.13 -21.04 -21.09 -21.01 -20.79	
平均	-21.01	
標準差（1σ）	0.13	

由於本實驗先後以兩種不同流程進行沉積物之氮同位素分析，故需討論兩不同流程之分析誤差，以扣除因實驗操作產生的誤差。本研究以標準樣品（L-Hisitdine）比對，真空冷凝萃取氣體收集系統之標準樣品平均值為-5.24±0.26‰，自動分析系統的標準樣品平均值為-5.26±0.15‰，兩實驗流程只相差0.02‰，此差值落於誤差範圍內，因此認為兩分析方式之結果一致，所求得的氮同位素值可交互使用進行討論。

2-2.3 總有機碳測定

本實驗的有機碳含量分析為利用 HORIBA 公司出品之 EMIA-320V 型的碳/硫分析儀測量（C/S Analyzer）。其偵測原理為以紅外線吸收法檢測待測樣品在高週波燃燒爐內，於純氧環境下燃燒所產生的二氧化碳氣體濃度，換算成樣品中的碳含量。儀器使用前需先暖機 2 小時，並且排氣 30 分鐘，以去除管線內的殘留物。

1.標準樣品檢量線的建立：

實驗前先用已知碳含量之不同的標準樣品（AR4016：%C=2.10 ± 0.05；AR4012：%C=11.97 ± 0.30；AR4019：%C=0.10 ± 0.01）得一校正曲線之後，並將標準樣品當作未知標本所測得之值皆落於誤差範圍之內後，待測樣品即可利用此校正曲線推算測量結果。

2.沉積物中總有機碳含量（Total Organic Carbon, TOC）測定

MD012380 岩芯標本的總碳量及總有機碳含量是依據張等（1991）的研究方法測量，測量步驟如下。

（1） 取已冷凍乾燥並以瑪瑙研缽磨勻之待測樣品約 1g 置入 100ml 玻璃燒杯中

（2） 將放置樣品的玻璃燒杯及 2 杯裝有 60ml 12N HCl 的 100ml 燒杯放入密封盒內密封靜置反應 48 小時，以利用發煙鹽酸的酸薰方式去除沉積物標本中所含的碳酸鈣

（3） 將反應後的標本以低溫烘乾（50℃），將標本中殘餘的 HCl 去除，避免減短碳/硫分析儀的壽命

（4） 取約 600mg 的標本至入坩鍋中秤重，並在電腦中輸入標本淨重

（5） 以助燃劑（銅粒）覆蓋待測樣本表面，使標本燃燒完全

（6） 將裝有待測樣品與助燃劑的坩鍋送入碳/硫分析儀分析

（7） 讀取到的測值即為樣本的有機碳含量。

為了解碳/硫分析儀的精確度，本研究以標準樣品 AR4016（C%=2.10±0.05）重複分析之精確度為±0.10%（±2σ，n=20）。此外，實驗的過程中每隔 20 個標本穿插一次背景值之空白分析，分析結果的變動範圍為-0.002~+0.002 %C。MD012380 岩芯於分析沉積物總有機碳時，其重複分析精確度則可達±0.17% C（±2σ，n=20），上述結果列於表 2-6。

表 2-6、MD012380 岩芯之碳含量實驗重複分析結果：

（a）標準樣品 AR4016 之 C%、（b）TOC%

（a）

標準樣品 AR4016（C%）			
2.090	2.01	2.10	2.09
2.069	2.18	2.11	2.13
2.057	2.23	2.06	2.06
2.078	2.12	2.11	2.13
2.060	2.13	2.08	2.14
平均	2.10		
標準差（1σ）	0.05		

（b）

標本	262cm（TOC%）	462cm（TOC%）
No.1	1.13	1.16
No.2	1.00	1.14
No.3	0.99	1.05
No.4	0.95	1.03
No.5	0.89	1.07
平均	0.99	1.09
標準差（1σ）	0.09	0.06

2-2.4 沉積物之碳/氮比值（C_{org}/N atomic ratio）

本研究之沉積物碳/氮比是利用元素分析儀（EA 1110 CHNS, ThermoQuest CE INSTRUMENT）將標本以高溫（1400℃）燃燒後以紅外線偵測器測量氮氣、二氧化碳濃度而換算出樣品中的 C_{org} 及 N 含量，分析步驟如下：

1.標準樣品檢量線的建立：

實驗前先用已知碳、氮含量之不同的標準樣品（L-Cistina：C=29.99%、N=11.66%，C/N =3.001；BBOT：C=72.53%、N=6.51%，C/N =12.998）求得一碳組成斜率不小於 0.9999、氮組成斜率不小於 0.999 的校正曲線，並將標準樣品當作未知標本所測得之值皆落於誤差範圍之內後，待測樣品即可利用此校正曲線推算測量結果。且於每測完 10 個沉積物標本後，加入一標準樣品測試以確定校正曲線是否繼續適用，若不適用則需重新進行校正。

2.沉積物樣品分析

（1） 以錫囊包裹適量沉積物標本（約 20mg）

（2） 將包好的沉積物標本放入元素分析儀的自動旋轉盤內則可自動進行氧化還原反應產生氣體來分析

（3） 將機器測得之總有機碳含量值除以總氮含量值即可求得沉積物總有機碳/總氮比

C_{org}/N 分析的實驗分析誤差是以已知 C、N 含量之 L-Cistina（$C_6H_{12}N_2O_4S_2$，C=29.99%、N=11.66%，C/N atomic ratio=3.00）標準樣品進行重複分析；其碳、氮含量分別為 30.71±1.68（n=14）與 11.55±0.28（n=14），碳/氮比（C_{org}/N atomic ratio）為 3.10±0.13。另以 MD012380 岩芯之 12、122、1862cm 沉積物標本進行重複分析，而其結果之百分誤差皆小於 3%，重複分析結果列於表 2-7。

表 2-7、MD012380 岩芯 C_{org}/N atomic ratio 重複分析結果：(a)標準樣品 L-Cistina 重複分析結果、(b) 岩芯 12cm、122cm、282cm 重複分析結果

(a)

L-Cistina	N wt.%	C wt.%	C/N atomic ratio
1	11.57	29.78	3.00
2	11.64	31.21	3.13
3	11.65	30.78	3.08
4	12.03	33.36	3.24
5	11.52	32.08	3.25
6	11.70	33.45	3.34
7	11.70	33.30	3.32
8	11.18	29.81	3.11
9	11.70	30.11	3.00
10	10.76	27.82	3.02
11	11.61	29.81	3.00
12	11.58	28.96	2.92
13	11.51	29.87	3.03
14	11.51	29.58	3.00
平均	11.55	30.71	3.10
標準差（1σ）	0.28	1.68	0.13

(b)

岩芯深度	12cm			122cm			1862cm		
	N%	C%	C/N atomic ratio	N%	C%	C/N atomic ratio	N%	C%	C/N atomic ratio
	0.24	1.45	7.12	0.14	1.18	9.76	0.14	1.04	7.60
	0.25	1.47	6.94	0.14	1.07	9.20	0.13	1.05	8.17
	0.24	1.47	7.12	0.13	1.06	9.26	0.13	1.02	8.14
平均	0.24	1.46	7.06	0.14	1.11	9.41	0.13	1.04	7.97
標準差(1σ)	0.01	0.01	0.11	0.00	0.06	0.31	0.01	0.02	0.32