

冷冻电镜技术在电子束敏感材料表征中的应用

岳纪玲, 刘凯昂, 关波

(中国科学院化学研究所分析测试中心, 北京 100190)

摘要: 冷冻电镜技术不仅为结构生物学领域的发展带来了革命性的突破, 也日益成为化学材料研究中不可或缺的特征手段, 为电子束敏感材料在原子级微观尺度的研究提供了新的机遇。本文主要介绍了中国科学院化学研究所利用冷冻电镜技术在电子束敏感材料中开展的工作, 总结了晶态多孔框架材料、电池电料、有机晶体材料等典型的电子束敏感材料的高分辨结构表征方法及应用, 最后结合新技术展望了冷冻电镜技术未来的应用前景。

关键词: 冷冻电镜技术; 电子束敏感材料; 高分辨结构表征; 化学材料研究

中图分类号: O657.99

文献标识码: B

Applications of Cryogenic Transmission Electron Microscopy in Electron Beam Sensitive Materials

Yue Jiling, Liu Kaiang, Guan Bo

(Center for Physicochemical Analysis and Measurement, Institute of Chemistry, Chinese Academy of Sciences,
Beijing 100190, China)

Abstract: Cryogenic transmission electron microscopy(cryo-TEM) not only brings a breakthrough to the development in the field of structural biology, but also has also been becoming an indispensable method for research of chemical materials, especially for microstructure determination of electron beam sensitive materials. In this article, we introduced the applications of the cryo-TEM for the characterization of electron beam sensitive materials in Institute of Chemistry, Chinese Academy of Sciences. The high-resolution structural characterization methods and applications of typical electron beam-sensitive materials such as crystalline framework materials, battery materials, and organic crystal materials are summarized. Perspectives in the the future application of cryo-TEM technology were put forward.

Keywords: Cryo-TEM technology; Electron beam sensitive materials; High-resolution structural characterization; Chemical materials research

冷冻透射电镜技术在不需要蛋白结晶的情况下就能够解析原子级结构,为结构生物学领域的发展带来了革命性的突破。2017 年的诺贝尔化学奖授予了雅克·杜波切 (Jacques Dubochet)、约阿希姆·弗兰克 (Joachim Frank)、理查德·亨德森 (Richard Henderson) 三位生物学领域的科学家,以表彰他们发展冷冻电镜技术,并用于解析溶液状态下生物大分子高分辨率结构的突出贡献。

除了在生命科学领域,近年来,冷冻电镜技术在化学、材料、能源领域也解决了一些长期以来悬而未决的问题。2017 年, Li 等^[2]开创性的将冷冻电镜技术应用到材料科学领域,获得首张原子级金属锂枝晶及其表面固态电解质膜的图像,克服了电池材料对电子束辐照敏感且不耐损伤的问题。自此,冷冻电镜技术被越来越广泛的应用于电池材料的研究^[3, 4]。此外,目前前沿的化学材料如金属有机框架、共价有机框架、氢键有机框架材料、钙钛矿、有机晶体等在接触空气或电子束辐照下也会被损伤产生缺陷或者结构完全改变,这极大限制了应用常规电镜对这类材料本征结构的表征。冷冻透射电镜技术通过结合冷冻、低剂量及直接电子探测相机等解决了上述难题,为不耐损伤化学材料的高分辨结构及成分研究提供了机遇。

总之,冷冻电镜技术的发展不仅为结构生物学领域的发展带来了革命性的改变,也为化学、材料、能源等领域中具有挑战性的问题提供了解决方案。中国科学院化学研究所依据化学领域分子材料的研究需求配置了一台用于化学领域研究的冷冻透射电镜 Themis 300, 该冷冻电镜于 2020 年 1 月正式运行,已用于化学领域的诸多研究,研究对象涵盖了典型的分子材料体系,基于冷冻、低剂量、直接电子相机等技术,获得了多种电子束敏感材料的高分辨结构表征。本文将介绍总结中科院化学所应用冷冻电镜技术在电子束敏感材料中的典型应用案例。

1 电子束损伤原理

在透射电镜成像中,电子通过热发射或场发射从电子源射出形成电子束,电子束经过各级电磁透镜的会聚、偏转后照射在薄样品上,多数电子穿透样品,与样品相互作用并发生散射,散射角度较小的电子提供样品内部结构和化学性质信息^[6],因此透射电子显微镜是研究材料微观结构的强有力的工具。然而携带物质重要信息的高能电子束会对相当一部分材料结构造成损伤^[7-9]。电子束损伤机理^[10]如图 1 所示,包括撞击、电离、荷电和热效应。电子束损伤过程的一个重要特征是原子位移,单个原子位移可能会在主体材料中引发缺陷,同时导致表面原子的溅射,而且协同原子位移会引起物质的非晶化、相变,及扩散和偏析。

因此,对电子束敏感材料进行近无损高分辨结构成像是电镜领域的一个难题。然而,化

学材料领域中绝大多数材料都对电子束敏感，如晶态多孔框架材料、电池材料、高分子晶体材料和分子筛（沸石）等，获取这些材料的本征结构信息是一种迫切但具有挑战性的应用需求。为解决上述问题，我们通过应用冷冻电镜的多种技术有效地减小电子束对敏感材料的损伤，具体包括：（1）低温条件，液氮降温保持样品在-178℃以下，可有效减少电子束对敏感材料的热损伤，并减弱电离等损伤过程中原子、离子等的迁移速度；（2）低剂量电子辐照：寻找样品、聚焦及图像采集均控制在低的电子剂量，尽量避免电子束辐照样品目标区域。首先，在极低的电子剂量（几个电子/px/s）下寻找样品，可用较大的欠焦量提高图像的“可见度”。然后，采用“定向盲拍”的方法，即在较低的倍数寻找好样品区域后，在附近区域进行聚焦，然后关掉电子束直接放大到拍照倍数进行拍照，根据低倍估计的样品的大小及方向，定向移动样品，待漂移稳定后再次进行拍照，依次移动样品对不同区域进行高分辨图像采集。（3）图像采集应用直接电子探测相机，采集多帧图像，使用多帧叠加成像、图像漂移矫正方法，有效提高了信噪比，获取高质量的高分辨率图像。通过应用以上方法，有效地减弱了电子束对样品的损伤，成功实现了对一系列电子束敏感的材料进行高分辨结构表征，包括金属-有机框架材料、共价有机框架材料、电池材料、有机晶体材料等。

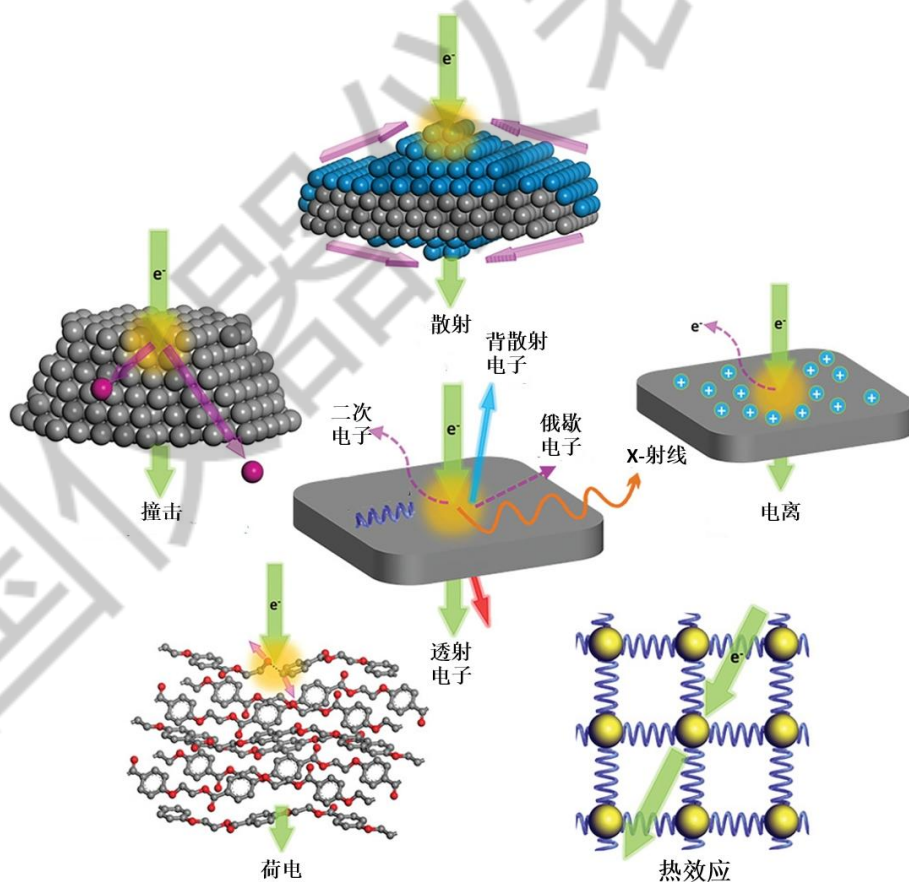


图 1 高能电子束与薄样品之间相互作用示意图及电子损伤机理示意图

Fig. 1 Schematic illustration of the interaction between a high-energy electron beam and a thin specimen and associated mechanisms of electron beam damage^[11]

2 典型应用实例

2.1 晶态多孔框架材料

晶态多孔框架材料易被电子束损伤，主要包括沸石、分子筛等无机晶态多孔材料和金属-有机框架材料(Metal-organic frames, MOFs)、共价有机框架材料(Coalent-organic frames, COFs)、氢键有机框架材料(Hydrogen-bonded organic frameworks, HOFs)等有机晶态多孔材料(Crystalline porous organic framework materials, CPOFs)^[12, 13]。晶态多孔框架材料具有诸多优异性能，在发光、传感、气体存储/分离、催化、质子传导、药物传递和储能等方面具有广泛的应用前景，其拓扑结构丰富、框架结构规整、孔道形状及尺寸可调、位点可修饰、比表面积大^[14]，探究其结构-性能之间的关系一直是研究的热点，但是如何用电镜表征其高分辨结构是一个难题，应用冷冻电镜技术可有效减弱电子束的损伤从而得到多孔框架材料的微观结构。

Hao 等^[15]通过 N,N,N',N'-四(对氨基苯基)对苯二胺(N,N,N',N'-tetrakis(4-aminophenyl)-1,4-benzenediamine,TPDA)及对苯二甲醛(Terephthalaldehyde, PDA)构筑新型 COFs 体系，该体系表现出优异的三态近红外电致变色特性，如图 2 所示，其响应时间可达亚秒级，这是首次基于 COFs 材料电致变色性能建立的用于存储的触发器分子逻辑门，解决了目前电致变色材料存在的保留时间短、响应时间长的问题。应用冷冻电镜技术发现该 COFs 薄膜具有有序的多孔结构，如图 3 (A) 所示，且孔道为 π - π 堆叠结构，如图 3 (B) 所示此结构有利于电荷转移和层间离域，从而使该 COFs 体系具有优异的可逆电致响应变色性能。

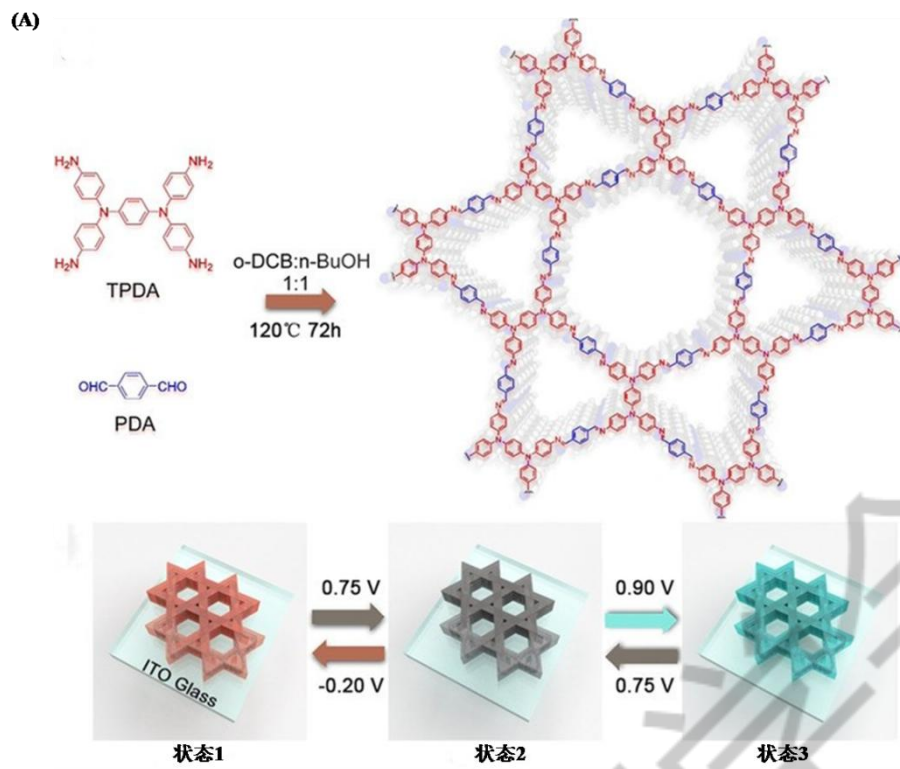


图 2 三态近红外 COFs 材料的化学结构

Fig.2 Chemical structures of the three-state near-infrared COFs

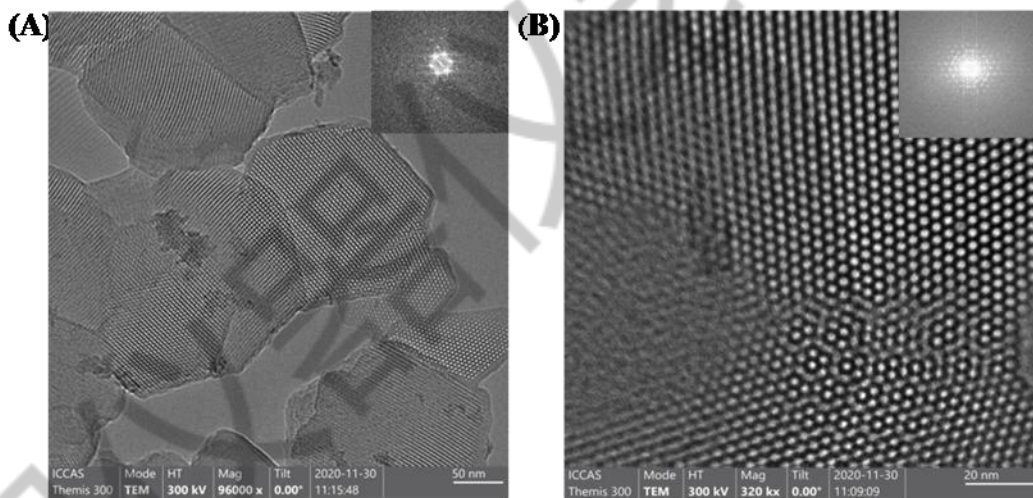


图 3 冷冻电镜表征三态近红外 COFs 的形态和高分辨结构：(A) TEM 和 (B) 高分辨图像

Fig.3 Structural characterization of morphology and structural characterization of the three-state near-infrared COFs via cryo-TEM: (A) TEM and (B) HRTEM images

Cheng 等^[16]利用二氧化碳做致孔剂合成周期性多孔 HOFs 材料（命名为 p-PFC-1）。该 HOFs 材料在空气、室温等温和条件下，无需任何辅助催化剂和光敏剂，其在胺类的光氧化偶联反应中表现出较高催化活性。应用透射电镜获得其内部微观结构是必要表征手段。然

而，由于氢键的弱相互作用，该 HOFs 材料易被电子束辐照解离，无法应用常规透射电镜分析。我们应用冷冻电镜技术确定其结晶度及晶面间距（2.07 nm），如图 4（A）、（B）所示，该结果与 XRD（X-ray diffraction）表征完全一致，从而为确定该材料结构与其构效关系提供必不可少的数据支撑。

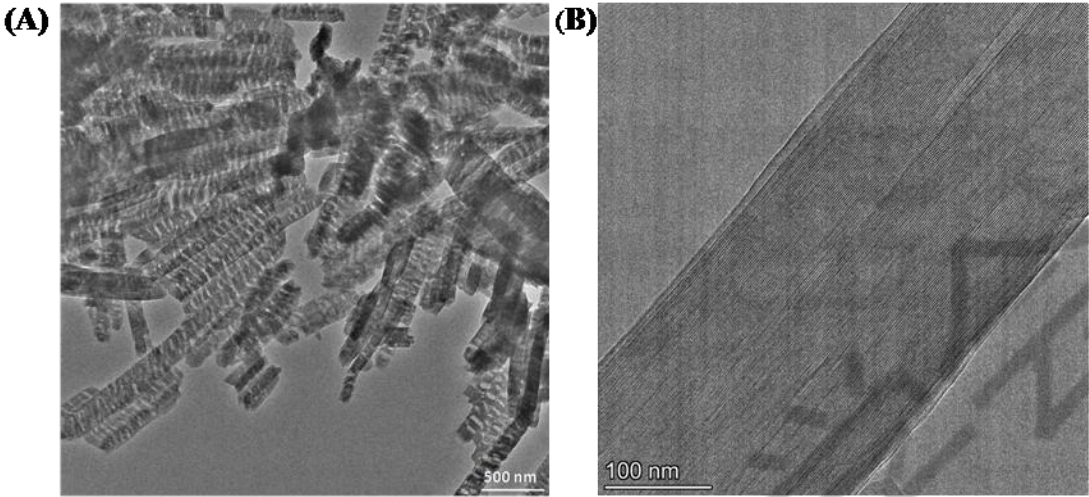


图 4 冷冻电镜表征多孔 HOFs 材料的形态和高分辨结构: (A) TEM 和 (B) 高分辨图像

Fig. 4 Morphology and structural characterization of the porous HOFs: (A) TEM and (B) cryo-HRTEM images

此外，我们应用冷冻电镜技术对多种不同晶体结构的 MOFs 材料获取其结构信息。例如，应用冷冻电镜技术对用于人工突触装置的单层 MOFs 薄膜材料（2D Cu-THPP）的结构进行表征，获得薄膜的微观形貌及晶格常数（晶面间距 1.46nm）^[17]，如图 5（A）（B），该结果与高分辨原子力显微镜一致，为阐明该薄膜模拟人脑学习和记忆的工作机理提供有力证据。

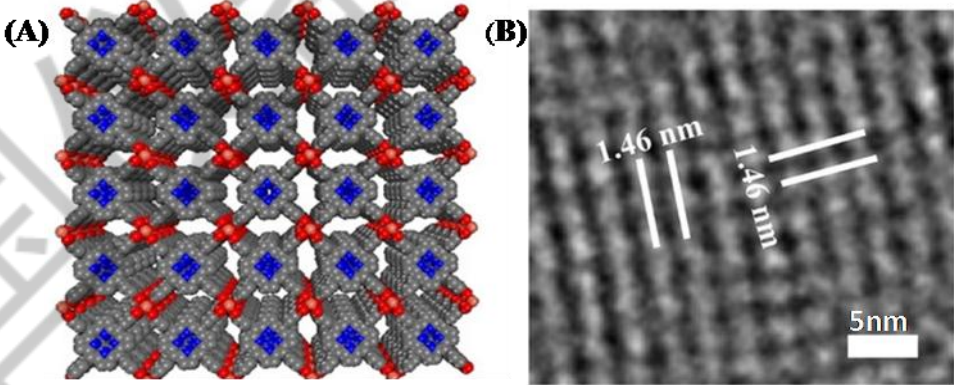


图 5 (A) Cu-THPP MOF 的分子模拟结构; (B) Cu-THPP MOF 的高分辨图像

Fig.5 (A) Simulated Cu-THPP MOF molecular structure; (B) HR cryo-TEM image of Cu-THPP MOF film

2.2 电池材料

电池材料通过电子-离子的可逆电化学反应储存/释放能量，而电子和离子的传输由电池（如正极、负极、电解质、隔膜等）各组件之间的关键界面控制，研究人员需要在纳米及原子尺度深入探索电池的性能，因此获取上述关键界面的纳米结构随电池工作条件变化而如何演变至关重要。然而，电池材料及其纳米界面结构在常规透射电镜的电子束辐照下极易损伤，无法保持电池材料的原始状态，常规的透射电镜很难用于电池材料精细结构的研究，而冷冻电镜技术通过冷冻传输，隔绝空气同时可减弱透射电镜电子束辐照损伤，可以最大程度保留和稳定电池材料的原始结构，获得其纳米至原子尺度的高分辨像^[18-19]。

我们通过冷冻电镜技术对多种电池材料及固体电解质界面（solid-electrolyte interface, SEI）的精细结构进行高分辨表征，为科研人员合理设计电池材料及固体电解质界面提供重要依据。例如，Chen 等^[20]报道了一种具有颗粒间 Li^+ 导电的薄膜固体-聚合物包覆陶瓷氧化物 LLZTO@PAN（ $\text{Li}_{6.4}\text{La}_3\text{Zr}_{1.4}\text{Ta}_{0.6}\text{O}_{12}$ @polyacrylonitrile）电解质，该固态电解质极易电子束敏感，通过应用冷冻电镜技术观察到聚合物层均匀包覆在颗粒表面，包覆厚度约为 7nm，如图 6（A）所示，且获得 LLZTO<211>方向的高分辨像，其晶面间距为 0.53 nm，如图 6（B）所示，从而为该工作探讨陶瓷-聚合物电解质传导 Li^+ 的基本原理提供了重要数据支撑。

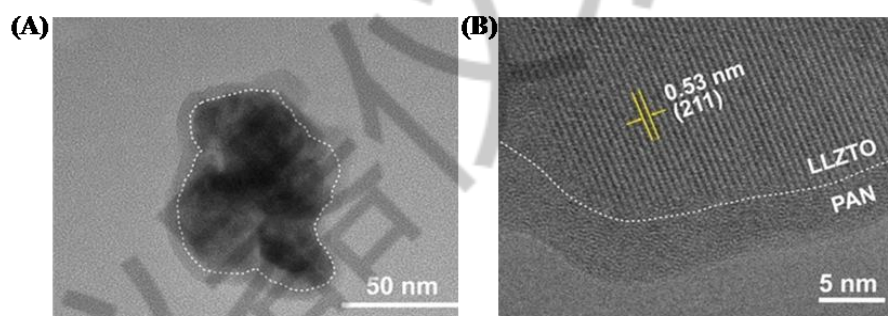


图 6 (A)LLZTO@PAN 粒子的 TEM 图像；(B)利用冷冻电镜从 LLZTO@ PAN 颗粒边缘拍摄的高分辨图像

Fig. 6 (A) TEM image of a LLZTO@PAN particle; (B) High-resolution cryo-TEM image taken from the edge of the LLZTO@ PAN particle

2.3 有机晶体材料

有机晶体材料也极其不耐电子束辐照损伤，我们应用冷冻电镜技术对聚合物材料如超分子自组装材料、液晶材料等进行了表征，为深入研究该类材料的结构与性能关系提供了重要数据支撑。例如，Li 等^[21]应用卟啉分子可控组装得到不同形貌的纳米组装体，如图 7 所示，

不同实验条件下超分子纳米组装体可组装为 0D、1D 和 2D 的纳米球、纳米纤维及纳米片。研究人员发现上述纳米组装体的催化反应活性具有维度依赖性,推测与其分子组装结构密切相关,因此需应用透射电镜表征其内部结构,然而,由于该超分子纳米组装体的卟啉结构单元之间为非共价相互作用,在电子束的辐照下会快速非晶化。冷冻电镜技术以其有效减弱电子束的损伤,可解决以上问题,从而得到上述不同纳米组装体的高分辨像,由图 8 (A) 可以看出 1D 纳米纤维结晶性良好,分子排列整齐,形成相对有序和紧密堆叠的卟啉发色团,因此具有优异的催化性能,但是 0D 纳米球和 2D 纳米片,如图 8 (B)、(C) 所示,其呈现非晶状态导致其催化性能不佳。

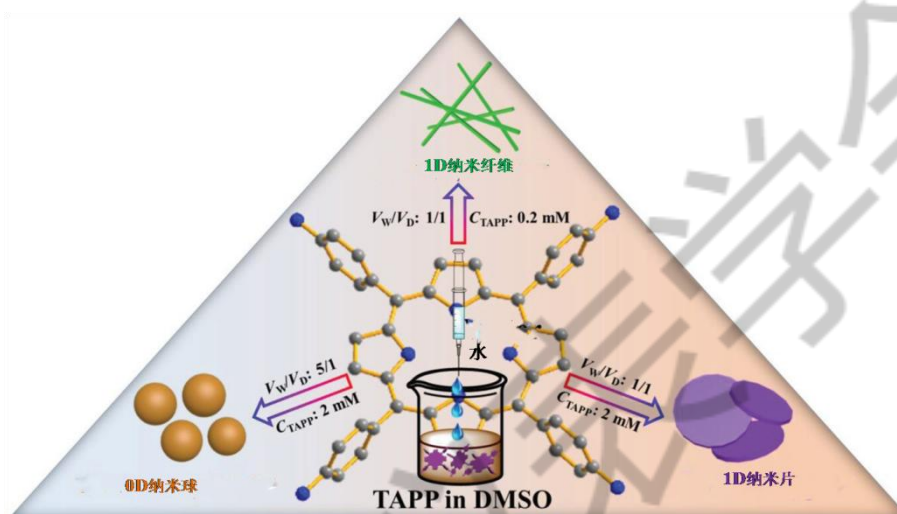


图 7 通过简单的一锅再沉淀法可控制的卟啉 0D、1D 和 2D 超分子纳米组装体

Fig. 7 schematic illustration showing the controllable fabrication of 0D, 1D, and 2D supramolecular nanoassemblies of a porphyrin by means of a simple one-pot reprecipitation method.

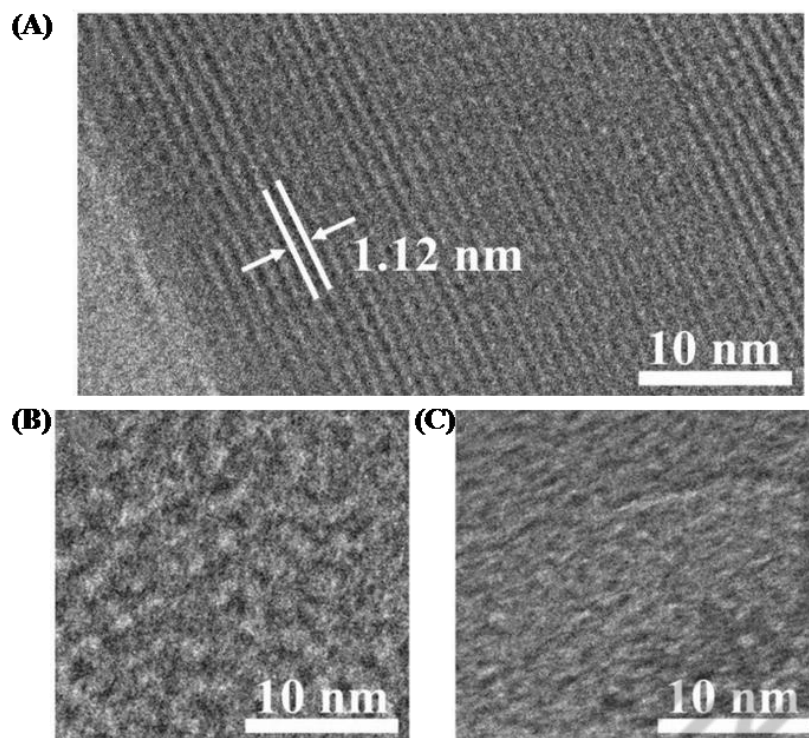


图 8 通过冷冻电镜获取的高分辨图像：(A)自组装纳米纤维；(B)纳米球；(C)纳米片

Fig. 8 HRTEM images of (A) the asassembled nanofibers; (B)nanospheres; (C)nanosheets measured via cryo-TEM

3 小结

本文综述了中科院化学所应用冷冻透射电镜技术获取一系列不耐损伤化学材料：COFs、HOFs、MOFs、电池材料、有机晶体体系的高分辨结构。随着直接电子相机技术、漂移校正算法、iDPC-STEM 技术（Integrated differential phase contrast-scanning transmission electron microscopy）的发展，以及像素探测器（Pixelated electron detector）快速数据存储分析能力的提升，能够进一步降低对表征电子束敏感材料的电子剂量，得到原子级的结构和成分信息。冷冻电镜技术的发展和进步将进一步为构筑具有新型优异性能的新材料、新体系提供前所未有的、关键的表征数据。

参考文献:

- [1] Cheng Y.Single-Particle Cryo-EM at Crystallographic Resolution[J]. Cell, 2015,161(3): 450-457.
- [2] Li Y Z L Y B, Pei A,et al.Atomic structure of sensitive batterymaterials and interfaces revealedby cryo-electron microscopy[J]. Science, 2017,358(6362): 506-510.
- [3] Fang C C, Li J X, Zhang M H, et al.Quantifying inactive lithium in lithium metal batteries[J].

- Nature, 2019,572(7770): 511-515.
- [4] Zachman M J, Tu Z Y, Choudhury S, et al.Cryo-STEM mapping of solid-liquid interfaces and dendrites in lithium-metal batteries[J]. Nature, 2018,560(7718): 345-349.
- [5] Spence J C H.Outrunning damage: Electrons vs X-rays-timescales and mechanisms[J]. Structural Dynamics, 2017,4(4): 044027.
- [6] Williams D B C C B. Transmission electron microscopy A textbook for materials science[M].Place:Springer Science, Published2009:
- [7] Garcia A, Raya A M, Mariscal M M, et al.Analysis of electron beam damage of exfoliated MoS(2) sheets and quantitative HAADF-STEM imaging[J]. Ultramicroscopy, 2014,14633-38.
- [8] Susi T K, J; Arenal, R; Kurasch, S; Jiang, H; Skakalova, V; Stephan, O; Krasheninnikov, AV; Kauppinen, EI; Kaiser, U; Meyer, JC.<Atomistic Description of Electron Beam.pdf>[J]. Acs Nano, 2012,6(10): 8837–8846.
- [9] Ugurlu O, Haus J, Gunawan A A, et al.Radiolysis to knock-on damage transition in zeolites under electron beam irradiation[J]. Physical Review B, 2011,83(11).
- [10] Chen Q, Dwyer C, Sheng G, et al.Imaging Beam-Sensitive Materials by Electron Microscopy[J]. Advanced Materials, 2020,32(16): e1907619.
- [11] Chen Q, Dwyer C, Sheng G, et al.Imaging Beam-Sensitive Materials by Electron Microscopy[J]. Adv. Mater., 2020,32(16): e1907619.
- [12] He Y, Xiang S,Chen B.A microporous hydrogen-bonded organic framework for highly selective C2H2/C2H4 separation at ambient temperature[J]. Journal of the American Chemical Society, 2011,133(37): 14570-14573.
- [13] Lv H W, Sa R J, Li P Y, et al.Metalloporphyrin-based covalent organic frameworks composed of the electron donor-acceptor dyads for visible-light-driven selective CO2 reduction[J]. Science China Chemistry, 2020,63(9): 1289-1294.
- [14] Xu X,Yan B.The postsynthetic renaissance of luminescent lanthanide ions on crystalline porous organic framework materials[J]. CrystEngComm, 2022,24(33): 5821-5837.
- [15] Hao Q, Li Z J, Bai B, et al.A Covalent Organic Framework Film for Three-State Near-Infrared Electrochromism and a Molecular Logic Gate[J]. Angewandte Chemie International Edition, 2021,60(22): 12498-12503.
- [16] Cheng X Y, Zhang J L, Sha Y F, et al.Periodically nanoporous hydrogen-bonded organic

- frameworks for high performance photocatalysis[J]. *Nanoscale*, 2022,14(27): 9762-9770.
- [17] Liu Y, Wei Y, Liu M, et al. Two-Dimensional Metal-Organic Framework Film for Realizing Optoelectronic Synaptic Plasticity[J]. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2021,60(32): 17440-17445.
- [18] Li Y Z, Li Y B, Pei A L, et al. Atomic structure of sensitive battery materials and Interfaces revealed by cryo-electron microscopy[J]. *Science*, 2017,358(6362): 506-510.
- [19] Li Y, Huang W, Li Y, et al. Opportunities for Cryogenic Electron Microscopy in Materials Science and Nanoscience[J]. *Acs Nano*, 2020,14(8): 9263-9276.
- [20] Chen W P, Duan H, Shi J L, et al. Bridging Interparticle Li⁺ Conduction in a Soft Ceramic Oxide Electrolyte[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2021,143(15): 5717-5726.
- [21] Li P, Xu G, Wang N, et al. 0D, 1D, and 2D Supramolecular Nanoassemblies of a Porphyrin: Controllable Assembly, and Dimensionality-Dependent Catalytic Performances[J]. *Adv. Funct. Mater.*, 2021,31(18).