

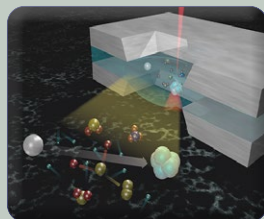
## Introduction of flow cytometric analysis method



Introduction of Real-time  
PCR method



Separation and identification of  
essential oil and triglyceride fatty  
acids in Teucricium polium plant  
by gas chromatography mass  
spectrometry method.



An introduction to In-situ  
Environmental Transmission  
Electron Microscopy equipped  
with a liquid cell



Introduction to fretting fatigue  
or fatigue-wear testing of  
materials under bending cyclic  
loading

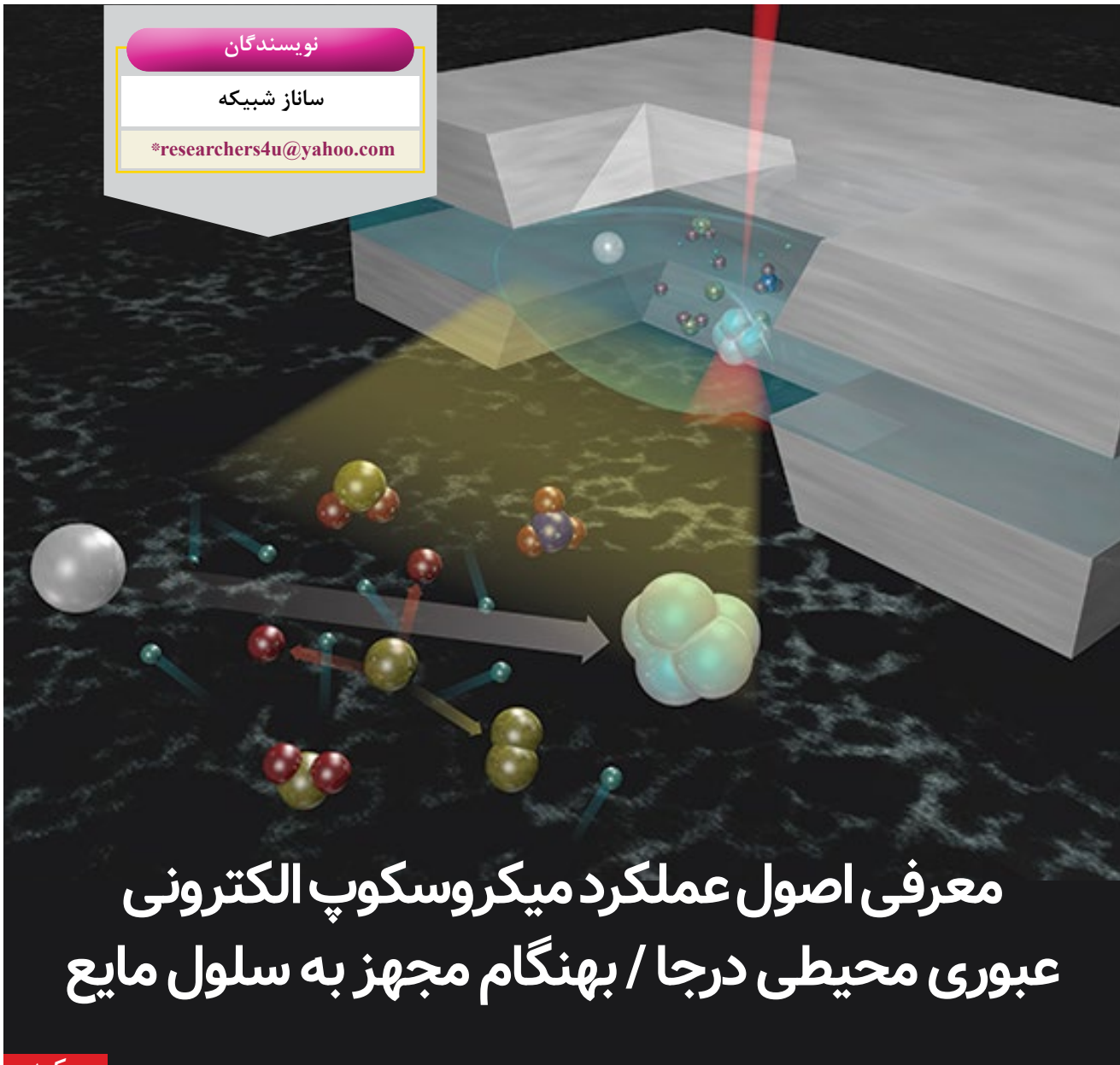


New Applications of Nuclear  
Magnetic Resonance

نویسندگان

ساناز شبیکه

\*researchers4u@yahoo.com



## معرفی اصول عملکرد میکروسکوپ الکترونی عبوری محیطی درجا / بهنگام مجهز به سلول مایع

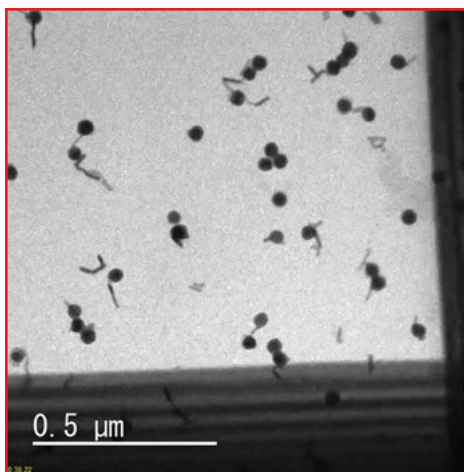
چکیده

تصویربرداری از نمونه‌ها درون محیط مایع با میکروسکوپ الکترونی عبوری محیطی درجا/بهنگام یکی از نیازمندی‌های محققان و دانشمندان فعال در حوزه‌های مختلف آکادمیک و صنعتی به شمار می‌رود. در گذشته، نمونه‌ها به‌منظور بررسی با میکروسکوپ الکترونی عبوری رایج<sup>۲</sup> باید عاری از هر گونه مایعات بوده و پس از خشک شدن کامل، درون دستگاه قرار می‌گرفتند. این امر علاوه‌بر دگرگون نمودن احتمالی ساختار دقیق نمونه‌ها در سطح نانومتر، فرصت بررسی برخی نمونه‌هایی که در شرایط عادی درون محیط طبیعی (به‌خصوص محیط مایع) قرار داشته را نیز از کاربر سلب می‌نمود. همچنین، محققان از دیرباز رویای بررسی درجا/بهنگام نمونه‌ها هم‌زمان را نیز داشته‌اند. با توجه به موارد فوق، میکروسکوپ الکترونی عبوری محیطی درجا/بهنگام مجهز به سلول مایع<sup>۳</sup> برای مشاهده و تصویربرداری از نمونه‌ها تمام نیازمندی‌های مذکور را برآورده ساخته، بدین معنی که کاربران قادرند نمونه‌ها را در محیط مایع به‌صورت درجا/بهنگام بررسی نمایند. در این مقاله ساختار و کاربردهای میکروسکوپ مورد نظر به‌طور تفصیلی شرح داده خواهد شد.

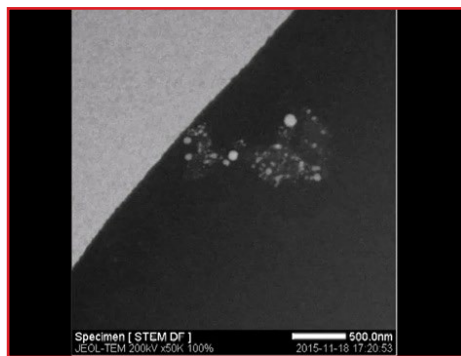
### واژه‌های کلیدی

سلول مایع، میکروسکوپ الکترونی عبوری محیطی درجا/بهنگام  
مجهز به سلول مایع، نگهدارنده نمونه.

مشاهده و تصویربرداری از فرآیندهای فاز مایع در مقیاس نانومتر اطلاعات ارزشمندی را در زمینه درک بهتر و عمیق تر فرآیندهای اساسی در حوزه فیزیک، شیمی و زیست‌شناسی فراهم می‌آورد. از زمان ظهور میکروسکوپ الکترونی عبوری مجهز به سلول مایع یعنی تقریباً ۳۰ سال پیش، محققان قادر بودند پدیده‌هایی نظیر سنتز نانومواد، سلول‌های زیستی زنده، شکل‌گیری سطح مشترک الکترولیت/جامد باتری و خوردگی موضعی را با قدرت تفکیک‌پذیری مکانی و زمانی بی‌نظیری مشاهده نمایند. میکروسکوپ الکترونی عبوری درجا/بهنگام مجهز به سلول مایع در مقایسه با میکروسکوپ‌های الکترونی عبوری مرسوم (CTEM) و دیگر روش‌ها، قابلیت مشاهده فرآیندها را برای تصویربرداری ارائه می‌دهد. به‌عنوان مثال، قرار دادن نمونه‌های زیستی بدون طی کردن فرآیندهای آماده‌سازی مرسوم درون CTEM به دلیل وجود خلاء بالا در مدت چند ثانیه منجر به تخریب کامل آنها می‌شود. حتی در صورت به‌کارگیری میکروسکوپ الکترونی عبوری کرایو برای تصویربرداری ایمن و تعیین ساختار نمونه‌ها، به دلیل عدم حضور نمونه‌ها درون محیط طبیعی خود به احتمال زیاد مواردی همچون تخریب جزئی ساختار نمونه و ایجاد آرتیفکت در طول اجرای فرآیند انجماد به وقوع خواهد پیوست. میکروسکوپ الکترونی عبوری درجا/بهنگام مجهز به سلول مایع علاوه بر فراهم آوردن محیط مایع برای نمونه‌ها درون خلاء بالای TEM، قابلیت مشاهده درجا/بهنگام فرآیندهای به وقوع پیوسته را نیز ارائه می‌دهد. به همین دلیل، این میکروسکوپ به روش محبوبی برای مشاهده واکنش‌های در مقیاس نانومتر مبدل شده‌است. در مقایسه با دیگر روش‌های درجا/بهنگام نظیر میکروسکوپ نیروی اتمی<sup>۴</sup>، میکروسکوپ تونلی روبشی<sup>۵</sup> و روش‌های مختلف اشعه ایکس، میکروسکوپ مذکور علاوه بر ارائه قدرت تفکیک‌پذیری زمانی و مکانی بالا، قابلیت مشاهده مستقیم وقوع هر گونه تغییرات در توزیع ساختاری، ریخت‌شناسی یا عنصری را نیز به‌صورت زنده در مقیاس نانومتر فراهم می‌آورد (شکل‌های ۱ و ۲). وجود روش تصویربرداری درجا/بهنگام از واکنش‌های فاز مایع درون TEM منجر می‌شود محققان به جزئیات بسیار کاربردی در حوزه‌های تحقیقاتی وسیعی (از حوزه الکتروشیمی گرفته تا حوزه زیست‌شناسی سلولی) که پیش از این حصول آنها امکان‌پذیر نبود، دست پیدا کنند [۱].



شکل (۱): رفتار نانوذرات کروی طلا به همراه نانولوله‌های طلا درون محیط آب [۲].



شکل (۲): رفتار نانوذرات الکتروکاتالیست PtCu متصل به غشاء سیلیکون نیتريد<sup>۷</sup> درون محیط الکترولیت اسید پرکلریک<sup>۸</sup> ۰/۱ به‌صورت درجا/بهنگام در سلول مایع مهر و موم شده میکروسکوپ الکترونی عبوری [۳].



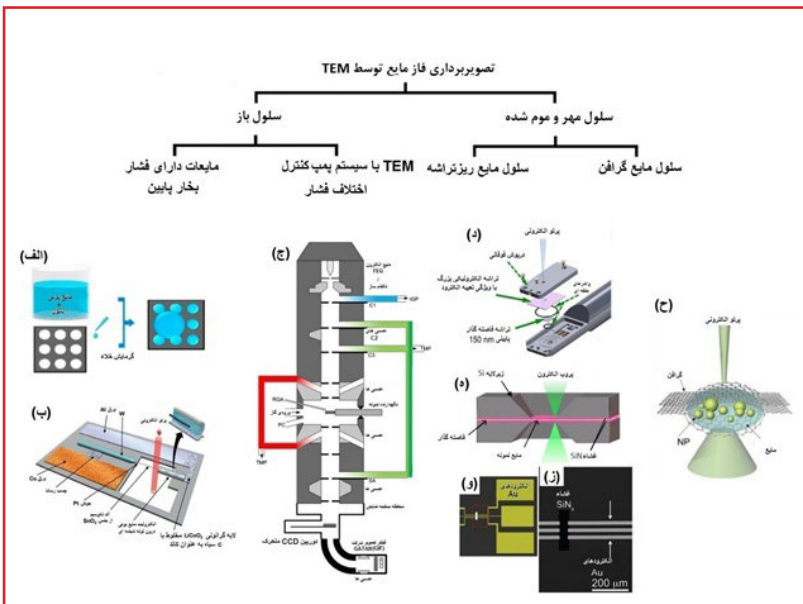
## پیکربندی‌های مختلف TEM برای تصویربرداری از نمونه‌های مایع

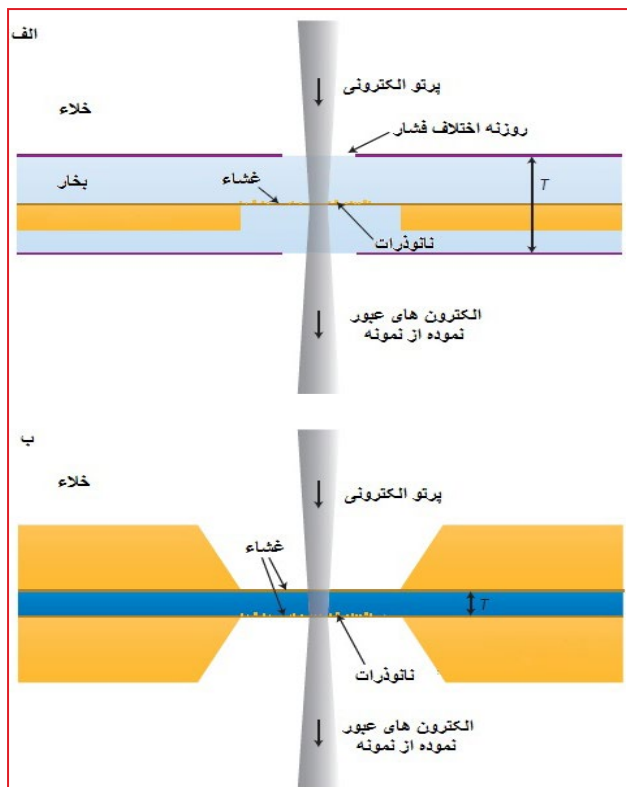
از این نوع مایعات نیز همانند نمونه‌های جامد از طریق تعبیه روی گرید استاندارد مخصوص نمونه و قرار گرفتن درون TEM تصویربرداری می‌شود (شکل (۳-الف)). استفاده از حفره‌هایی در اندازه میکرومتر برای فرآیند ترشوندگی<sup>۱۲</sup> نیز ضمن حصول ضخامت ایده‌آل قطرات مایع یونی مورد نظر برای تصویربرداری است. لازم به ذکر است، روش‌های پیچیده‌تری نیز برای انجام آزمایش‌های درجا/بهنگام با یاسینگ بر نمونه‌هایی از جنس مایع یونی طراحی شده‌اند.

به‌عنوان مثال، همان‌طور که در شکل (۳-ب) مشاهده می‌کنید با استفاده از الکترولیت مایع یونی که رسانایی یونی میان دو الکتروود موجود را فراهم آورده می‌توان یک باتری مینیاتوری ایجاد و درون TEM به‌صورت درجا/بهنگام آن را راه‌اندازی نمود. در صورت اعمال پتانسیل الکتریکی به باتری مورد نظر فرآیندهای شارژ/تخلیه، همانند باتری‌ها در دنیای واقعی اجرا شده و هم‌زمان می‌توان به‌صورت درجا/بهنگام از تغییرات به وقوع پیوسته درون الکتروودها با استفاده از TEM دارای تجهیزات مورد نیاز تصویربرداری کرد. به‌منظور حصول تصاویری با کیفیت بالا، درون TEM جنس الکتروود بکار رفته از نوع نانوسیم انتخاب شده‌است. برای این عملیات به یک نگهدارنده نمونه ویژه با قابلیت اعمال پتانسیل الکتریکی نیاز بوده تا بتوان از بیرون فرآیند بایاس را انجام داد. البته در این روش تنها می‌توان از مایعاتی با فشار بخار پایین استفاده نمود که به‌عنوان یک عیب محسوب می‌شود. بیشتر مایعات قادر به تحمل شرایط خلاء بالا درون TEM نبوده و در بیشتر مواقع به دلیل تغییر اساسی و بنیادین واکنش مورد انتظار نمی‌توان مایعات دارای فشار بخار پایین را جایگزین آنها نمود. برای غلبه بر این چالش، رویکردهای دیگری ارائه شده‌اند که بدون در نظر گرفتن فشار بخار مایعات از آنها تصویربرداری می‌کنند. به‌طور خلاصه میکروسکوپ الکترونی محیطی<sup>۱۳</sup> محفظه نمونه را با استفاده از سیستم پمپ کنترل فشار در فشاری

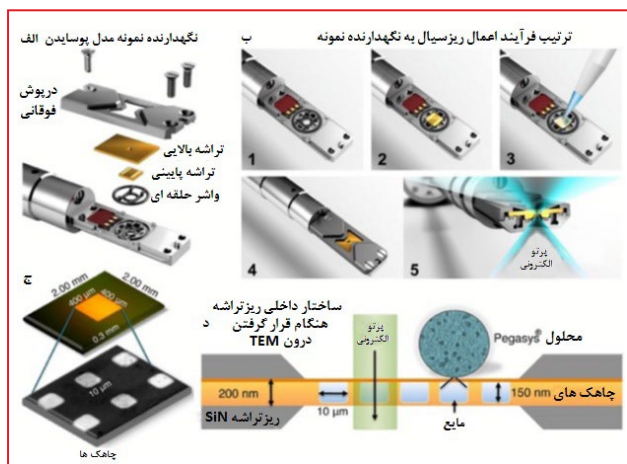
پیش از معرفی و بررسی جامع ساختار میکروسکوپ الکترونی عبوری درجا/بهنگام مجهز به سلول مایع، شرح مختصری از دیگر پیکربندی‌های موجود TEM برای تصویربرداری از نمونه‌های مایع ارائه می‌شود. پرتو الکترون با انرژی بالا در میکروسکوپ الکترونی عبوری از نمونه نازک عبور داده می‌شود که در اثر این امر، مقداری از پرتوی موردنظر به‌صورت الاستیک و غیرالاستیک پراکنده می‌شود. پرتو حاصل را می‌توان از طریق روش‌های مختلف نظیر تعبیه آشکارسازهای میدان تاریک حلقوی زاویه بالا<sup>۱۴</sup> به‌منظور دستیابی به تصاویر حساس به عدد اتمی یا اندازه‌گیری افت انرژی الکترون‌هایی با پراکندگی غیرالاستیک برای دستیابی به طیف مشخصه (طیف‌سنجی افت انرژی الکترون<sup>۱۵</sup>) جمع‌آوری و تحلیل نمود. برای این روش دو نیازمندی ضروری باید مهیا باشد. ابتدا، ستون TEM به‌منظور به حداقل رساندن پراکندگی نامطلوب الکترون و آرایش نمونه باید شرایط خلاء بالا (حداقل  $10^{-5}$  Pa) را حفظ نماید. ثانیاً، ضخامت نمونه‌ها برای تصویربرداری در مقیاس نانومتر باید به اندازه کافی نازک (در حد چند صد نانومتر) باشد. همان‌طور که مشاهده می‌شود، این نیازمندی‌ها برای تصویربرداری از نمونه‌های فاز مایع چالش برانگیز است، زیرا بیشتر مایعات در شرایط خلاء بالا به سرعت تبخیر شده و همچنین دستکاری مایع برای حصول ضخامت به اندازه کافی نازک، امری بسیار دشوار است. البته روش‌های متعددی برای غلبه بر این چالش‌ها وجود دارد (روش‌های اصلی تصویربرداری از نمونه‌های مایع درون TEM در شکل (۳) نمایش داده و با یکدیگر مقایسه شده‌اند). ساده‌ترین روش، استفاده از مایعاتی با فشار بخار پایین است، زیرا این نوع مایعات دارای قابلیت تحمل شرایط خلاء بالا هستند.

شکل (۳): مقایسه روش‌ها و پیکربندی‌های مختلف برای تصویربرداری TEM فاز مایع. (الف): فیلم/ لایه‌های مایع یونی قرار گرفته درون حفره‌های میکرومتری حاصل شده از کشش سطحی مناسب برای تصویربرداری TEM [۴]. (ب): نمایی از طراحی یک باتری مینیاتوری با الکترولیت مبتنی بر مایع یونی برای تصویربرداری درون TEM [۵]. (ج): نمایی از ستون TEM مجهز به سیستم پمپ کنترل اختلاف فشار با سه مرحله مختلف پمپاژ (لوله‌های هر مرحله با رنگ متفاوت در شکل نمایش داده شده‌اند) که دستیابی به محفظه نمونه با فشار بالا را امکان‌پذیر می‌سازد [۶]. (د): تصویری از قسمت نوک نگهدارنده نمونه TEM فاز مایع درجا/بهنگام [۷]. (ه): نمایی از سلول مایع تولید شده از دو تراشه سیلیکون/اسیلیکون نیتريد [۸]. (و): تراشه سیلیکونی با الکتروودهای تعبیه شده در ابعاد میکرون [۹]. (ز): تصویر میکروسکوپ الکترونی روبشی<sup>۱۱</sup> با بزرگنمایی بالا از محدوده مستطیل قرمز رنگ شکل. (و) و (ح): نمایی از سلول مایع برای TEM. نمونه میان دو ورق گرافنی محصور شده‌است [۱۰].





شکل (۴): پیکربندی‌های موجود برای میکروسکوپ الکترونی عبوری به منظور بررسی نمونه درون محیط مایع. (الف): تصویربرداری TEM با استفاده از محفظه محیط باز دربر گیرنده مایع و بخار. در این پیکربندی، روزنه‌های اختلاف فشار وظیفه جداسازی خلأ TEM از فشار بالای حول نمونه را بر عهده دارند. (ب): تصویربرداری TEM از ناتوذرات درون محفظه کاملاً محصور پر شده از مایع مورد نظر با قابلیت عبور دادن الکترون‌ها [۱۱].



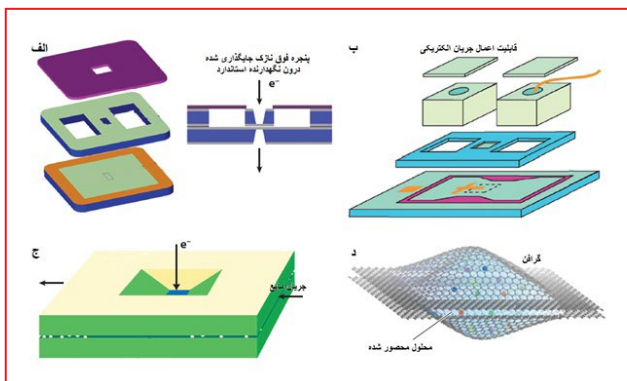
شکل (۵): نمای داخلی از سیستم سلول مایع نصب شده روی نگهدارنده TEM به منظور تصویربرداری از نمونه‌ها درون محیط مایع. (الف): نمایش محفظه ریزسیالی (مدل پوسایدن ۱۸) نگهدارنده نمونه تشکیل شده از واشر حلقه‌ای، تراشه‌های بالایی و پایینی و درپوش فوقانی فلزی مستقر شده توسط ۳ پیچ برنجی. (ب): ابتدا واشر حلقه‌ای درون نگهدارنده قرار گرفته [۱]، سپس تراشه پایینی که توسط نمونه مایع خیس شده [۲-۳] مستقر می‌شود. در این لحظه تراشه بالایی روی کل تجهیزات ذکر شده قرار داده می‌شود [۴] و در پایان نیز کل تجهیزات مورد نظر با استفاده از درپوش فوقانی فلزی پیش از ورود به سیستم خلأ TEM مهر و موم می‌شود [۵]. (ج): تراشه پایینی شامل آرایه‌ای از چاهک‌هایی به اندازه  $(400 \times 400 \mu\text{m})$  بوده که دارای قابلیت عبور الکترون هستند. (د): نمایی از سطح مقطع سیستم مذکور قرار گرفته در مسیر پرتو الکترونی. چاهک‌های یکپارچه  $(10 \times 10 \mu\text{m})$  حک شده درون تراشه‌ها منجر به فراهم آمدن ضخامت مایع به اندازه  $150 \mu\text{m}$  می‌شود [۱۲].

نسبتاً بالاتر از بقیه قسمت‌های میکروسکوپ نگه می‌دارد. پیش‌تر، محققان از این روش به‌طور گسترده برای تصویربرداری از نمونه‌ها درون میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) استفاده می‌کردند. ETEM یک میکروسکوپ الکترونی عبوری خاص است که با استفاده از یک سری از پمپ‌ها و روزنه‌ها به‌طور تدریجی فشار درون ستون را تغییر می‌دهد (شکل ۳-ج). در محفظه نگهداری نمونه این نوع میکروسکوپ‌ها فشار را می‌توان تا  $2000 \text{ Pa}$  بالا برد. البته به دلیل محدودیت‌های سیستم پمپ کنترل اختلاف فشار، فشارهای جوی به‌طور مطلوب قابل دسترسی نیستند (بدین معنی که بیشتر مایعات دارای فشار بخار بالا تبخیر می‌شوند). به همین دلیل در چنین سیستمی نمی‌توان به سادگی از حلال‌هایی نظیر ایزوپروپانول<sup>۱۴</sup>، دی متیل کربنات<sup>۱۵</sup>، یا حتی آب استفاده نمود. در این حالت، هر گونه نمک حل شده درون حلال‌های مورد نظر به دلیل تبخیر سریع آنها رسوب خواهد کرد.

این نوع میکروسکوپ بیشتر برای آزمایش‌های فاز گازی و نمونه‌های زیستی که نیازی به حفظ فشار بالا نداشته کاربرد دارد. یک رویکرد دیگر، سلول محیطی مهر و موم شده نام دارد. در این روش برخلاف رویکرد سلول محیطی باز با سیستم پمپ کنترل اختلاف فشار، فشار در این سلول با محصور ساختن حجمی از نمونه درون غشاهای محافظ کنترل می‌شود. در این صورت می‌توان نمونه را در فشار بسیار بالاتری نسبت به دیگر روش‌ها بررسی کرد. پرتو الکترونی به درون پنجره‌های مستحکم و شفاف عبور دهنده الکترون که در پایین و بالای سلول نمونه محصور شده‌اند استقرار یافته، نفوذ نموده و عملیات تصویربرداری انجام می‌شود. این سلول مهر و موم شده درون نگهدارنده نمونه TEM قرار می‌گیرد، به همین دلیل با ساختار TEM‌های مرسوم سازگاری دارد (مقایسه ساختار داخلی دو رویکرد سلول محیطی مهر و موم شده و سیستم پمپ کنترل اختلاف فشار در شکل (۴) ارائه شده است). از این سلول محیطی مهر و موم شده می‌توان برای تصویربرداری فاز گازی و فاز مایع استفاده نمود. در صورت بکارگیری برای فاز مایع، به سادگی «سلول مایع» نامیده می‌شود.

یک سلول مایع به‌طور معمول تنها چند صد نانومتر ضخامت داشته و توسط دو غشاء شفاف عبور دهنده الکترون نازک اما مستحکم محصور شده است. همان‌طور که در شکل (۳-د) و (۳-ز) مشاهده می‌نمایید، پر کاربردترین و محبوب‌ترین سلول مایع موجود بر پایه ریزتراشه‌های سیلیکونی طراحی شده است. در این سلول می‌توان لایه‌ای نازک از نمونه فاز مایع در حد چند ده نانومتر تا میکرومتر را با استفاده از مواد فاصله‌گذار و واشرهای حلقه‌ای میان دو ریزتراشه محصور کرد. به‌طور مرسوم، لایه‌ای نازک از سیلیکون نیتريد آمورف<sup>۱۷</sup> به‌عنوان پنجره غشاء بکار برده شده که پرتو الکترونی به آن نفوذ کرده و عملیات تصویربرداری انجام می‌شود. به‌منظور درک هر چه بهتر ساختار این نوع سلول‌های مایع، شکل (۵) در قسمت ذیل ارائه شده است.

از همان روزهای نخستین ابداع میکروسکوپ الکترونی عبوری مورد بررسی قرار گرفته بودند. چند دهه میان اولین تلاش‌ها برای تصویربرداری از نمونه‌های خیس با استفاده از فویل‌های آلومینیومی ساندویچ شده نازک تا زمان استفاده از سلول‌های مایع کنونی از جنس  $\text{SiN}_x/\text{Si}$  (شکل‌های (۶-الف) و (۶-ج)) و سلول‌های مایع گرافنی (شکل (۶-د)) وقفه وجود دارد که در طول این مدت، استاندارد پروتکل TEM مربوط به تصویربرداری از نمونه‌های خشک به صورت برون‌جا/دگرجا<sup>۱۹</sup> توسط فرآیند توقف متناوب اعمال می‌شد. البته فرآیندهای پویای مواد در طول واکنش‌ها را نمی‌توان با چنین روشی به دست آورد.



شکل (۶): انواع مختلف سلول‌های مایع گزارش شده در طول سال‌های اخیر. (الف): سلول مایع مستقل دربرگیرنده پنجره غشاء فوق نازک از جنس  $\text{SiN}_x$ . این نوع سلول قابلیت تعبیه شدن درون نگهدارنده نمونه استاندارد میکروسکوپ الکترونی عبوری را داراست [۱۳]. (ب): سلول مایع الکتروشیمیایی اولیه به همراه الکترودهای الگوسازی شده تعبیه شده درون آن [۱۴]. (ج): سلول مایع با قابلیت جریان مایعات میان دو تراشه مورد نظر [۱۵]. (د): سلول مایع گرافنی [۱۶].

در سال ۲۰۰۳، ویلیامسون<sup>۲۰</sup> و همکاران [۱۴] به کارگیری موفقیت‌آمیز ویفرهای<sup>۲۱</sup> سیلیکونی دارای پنجره‌ای با غشاء عبور دهنده الکترون از جنس نیتريد سیلیکون را گزارش کردند. در آن طرح، الکترودهای طلا روی تراشه پایینی لایه‌نشانی شد و پس از قرار دادن یک فاصله‌گذار شیشه‌ای در وسط، تراشه پایینی به تراشه بالایی چسبانده شده بود. در واقع، یک سلول مایع الکتروشیمیایی حاصل شده بود. برای آزمایش‌های با یاسینگ الکتريکی محفظه‌های دیگری نیز به منظور اعمال کنترل‌پذیری مایع به طرح اولیه این سلول افزوده شدند (شکل (۶-ب)). لایه‌نشانی الکتروشیمیایی خوشه‌های مس روی الکترودهای طلا به روش درجا/بهنگام بررسی شد. به دلیل اینکه پرتو الکترونی باید از لایه‌های ضخیم (تشکیل شده از دو غشای نیتريد سیلیکونی هر کدام به ضخامت ۱۰۰ nm، یک الکترودهای طلا به ضخامت ۵۰ nm و لایه مایع با ضخامت برابر با ۱ μm) عبور نماید، لذا قدرت تفکیک پذیری محدودی قابل دستیابی است. ژنگ<sup>۲۲</sup> و همکاران [۱۳] در سال ۲۰۰۹، برای بررسی فرآیند رشد نانوبلور کلئیدی درون میکروسکوپ الکترونی عبوری از سلول‌های مایع مستقل جدید استفاده نموده و به قدرت تفکیک‌پذیری ۱ nm دست پیدا کردند.

سلول‌های مایع ذکر شده قادر هستند تقریباً همه نوع مایع را بدون در نظر گرفتن فشار بخار آنها محصور نمایند. البته فناوری ریزساخت اجازه افزودن قابلیت‌های دیگری نظیر جاری نمودن مایع، کنترل دما (گرمایش و سرمایش) و اعمال بایاس الکتريکی با استفاده از الکترودهای استاندارد را نیز به این سلول فراهم می‌آورد. یکی از گونه‌های متعدد سلول مایع «سلول مایع گرافنی» نام داشته که از سال ۲۰۱۲ به بعد مورد استفاده قرار گرفته است. با استناد به نتایج آزمایش‌های مختلف می‌توان اینگونه بیان کرد که استفاده از گرافن یا لایه‌های کربنی آمورف با ضخامت ۳ nm برای حفاظت از نمونه‌های حساس همچون سلول‌های زیستی و بلورهای مایع در برابر شرایط خلاء فوق‌العاده بالا درون TEM بسیار موثر واقع می‌شود. سلول مایع گرافنی در مقایسه با سلول مایع مبتنی بر ریزتراشه به دلیل وجود پراکندگی کمتر از پنجره و همچنین دستیابی به ضخامت نازک‌تری از مایع بکار رفته، معمولاً قدرت تفکیک‌پذیری بهتری را ارائه می‌کند. لازم به ذکر است، این نوع سلول مایع به نگهدارنده نمونه ویژه گران قیمت نیز نیازمند نیست؛ البته این روش دارای محدودیت‌هایی است. نخست، به دلیل دشواری کار با گرافن، محصور ساختن نمونه مایع در میان آن باید با دقت فوق‌العاده بالایی انجام پذیرد. دوم، در مقایسه با سلول مایع مبتنی بر ریزتراشه که قادر به ارائه ظرفیت نانولیتتر به‌منظور اعمال نمونه بوده، مقدار مجاز نمونه که درون سلول مایع گرافنی می‌توان محصور شود تنها کمتر از ۰/۰۱ پیکولیتتر است. سوم، برخلاف سلول مایع مبتنی بر ریزتراشه، فناوری ریزساخت در این نوع از سلول‌های مایع قابل استفاده نیست. به عبارت دیگر، قابلیت‌هایی نظیر گردش مایع یا اعمال بایاسینگ الکتريکی در سلول مایع گرافنی در دسترس نیست. بررسی فرآیندهای پویا در صورت عدم وجود قابلیت گردش مایع و همچنین حجم کم مایع میان غشاهای گرافنی بسیار دشوار خواهد بود. به همین دلیل تمرکز اصلی این مقاله به سمت سلول مایع مبتنی بر ریزتراشه معطوف شده است [۱].

## طراحی و ساخت سلول‌های مایع

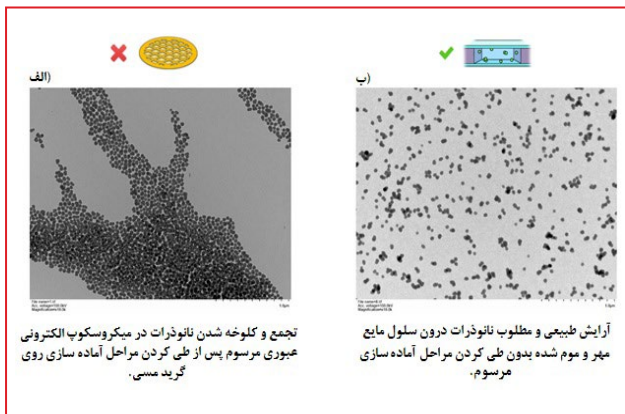
بیشتر مایعات از جمله آب و دیگر حلال‌های آلی دارای فشار بخار بالا بوده، بنابراین با شرایط خلاء بالا درون میکروسکوپ الکترونی عبوری ناسازگار هستند. به همین منظور محققان برای جداسازی آب یا دیگر مایعات دربرگیرنده فشار بخار بالا از محیط خلاء مذکور، استفاده از سلول مایع مهر و موم شده را پیشنهاد می‌کنند. در این سلول، پنجره تصویربرداری علاوه بر اینکه برای عبور دادن پرتو الکترونی به اندازه کافی نازک انتخاب شده، در عین حال باید قدرت مناسبی برای حفظ شرایط خلاء TEM را نیز داشته باشد. این نیازمندی‌های اصلی و ایده بکارگیری سلول دربرگیرنده پنجره محصور شده



و در نهایت لایه مایع ضخیم‌تر شود. تلاش‌های بسیاری در زمینه اندازه‌گیری دقیق ضخامت پنجره تصویربرداری و به حداقل رساندن پدیده خمیدگی غشاء مورد نظر انجام پذیرفته است. به منظور اندازه‌گیری ضخامت پنجره مذکور از روش طیف‌سنجی افت انرژی الکترون (EELS) استفاده شد و براساس نتایج حاصل شده می‌توان اینگونه برداشت کرد که ضخامت مایع در اثر وقوع پدیده خمیدگی غشاء (در صورت وجود پنجره  $50 \times 50 \mu\text{m}$  از جنس غشاء  $\text{SiN}_x$ ) سه برابر می‌شود. راهکارهای موجود برای به حداقل رساندن پدیده خمیدگی عبارتند از:

۱. نازک نمودن بخش‌های کوچکی درون یک غشاء ضخیم‌تر برای ایجاد پنجره طرح‌دار؛
۲. کاهش کل اندازه پنجره مربوطه از جنس غشاء مورد نظر.

به‌طور کلی، در عمل، محلول مایع درون سلول مذکور قرار گرفته و سپس این سلول نیز درون نگهدارنده نمونه استاندارد TEM یا جایگاه مایع تجاری تعبیه می‌شود. پیش از استقرار نهایی درون میکروسکوپ الکترونی عبوری، سلول مایع از نظر نشتی بررسی می‌شود. در آزمایش‌های مربوط به بررسی رشد نانوذرات می‌توان از پرتو الکترونی به‌عنوان منبع تحریک واکنش استفاده کرد. البته هنگام بررسی فرآیند الکتروشیمیایی یا تصویربرداری از دیگر نمونه‌های مایع، اثرات پرتو الکترونی باید کنترل شود. در کل، دستیابی به درک مطلوبی از واکنش‌های پرتو الکترونی-ماده و همچنین بکارگیری و آشنایی کامل با روش‌های تصویربرداری دوز پایین برای آزمایش‌های مربوط به بررسی واکنش‌های دنیای واقعی و بلادرنگ ضروری است. پیش از پرداختن به بخش بعدی، شکل (۷) به‌منظور مقایسه تاثیر بسیار مطلوب بکارگیری سلول مایع مهر و موم شده بر حذف مراحل آماده‌سازی نمونه‌ها (از جمله ثبوت با مواد شیمیایی، انجماد، رنگ‌آمیزی با مواد شیمیایی و فلزات سنگین و آب‌گیری) ارائه شده است [۱۷].



شکل (۷): مقایسه دو روش؛ (الف): به کارگیری مرحله آماده‌سازی نمونه درون میکروسکوپ الکترونی عبوری مرسوم و (ب): حذف مرحله مذکور در میکروسکوپ الکترونی عبوری محیطی درجا/بهنگام مجهز به سلول مایع مهر و موم شده [۱۸].

### چالش‌ها و پیشرفت‌های احتمالی در آینده

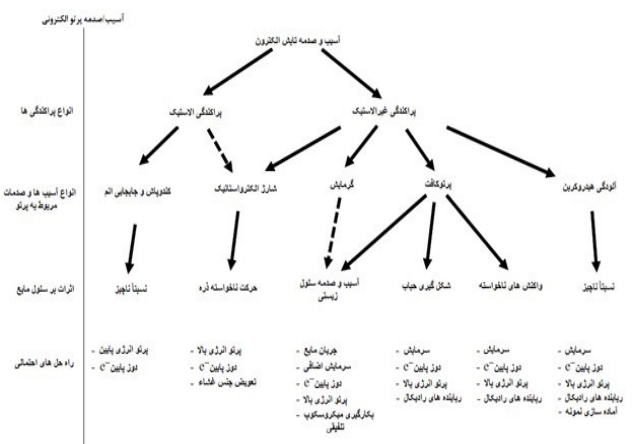
در طراحی این نوع از سلول‌ها برای پنجره از غشاهای بسیار نازک‌تر  $\text{SiN}_x$  ( $25\text{nm}$ ) استفاده شده و همچنین با استفاده از لایه فلزی چسبناک از جنس ایندیم به‌عنوان فاصله‌گذار میان تراشه‌های بالایی و پایینی دسترسی به ضخامت  $100\text{nm}$  برای لایه مایع نیز امکان پذیر شده است. آنها برای اطمینان از مقاوم بودن غشاء نازک در برابر شرایط خلاء، به جای اندازه پنجره پیشین ( $100 \times 100 \mu\text{m}$ ) از یک پنجره مستطیلی شکل بسیار کوچک‌تر به اندازه تقریبی  $50 \mu\text{m}$  استفاده کردند. ظهور چنین سلول‌های مایع با نیتريد سیلیکون بسیار نازک قابلیت بررسی مسیرها و جهت رشد تک نانوذره پلاتینیوم و تشخیص سازواره‌های رشد منحصر بفرد نانوذرات کلئیدی از طریق اتصال یا بهم آمیختگی تکپار را فراهم آورده است. بسیاری از محققان در حوزه شیمی کلئیدی موفق شدند با استفاده از این نوع سلول‌ها به آسانی آزمایش‌های خود را در زمینه بررسی رشد نانوذرات انجام دهند. در صورت تعبیه لوله‌گذاری خارجی و یک پمپ سرنگی تزریقی می‌توان به امکان جاری ساختن مایعات میان دو غشای نیتريد سیلیکون نیز دست پیدا کرد. دی جانگ<sup>۳۳</sup> و همکاران در سال ۲۰۰۹ با استفاده از قابلیت جاری شدن مایعات در سلول مایع مهر و موم شده از سلول‌های زیستی کامل درون مایعات معین تصویربرداری نمودند (شکل ۶-ج). قابلیت جریان یافتن مایعات به‌خصوص برای محققانی ارزشمند بود که قصد بررسی واکنش‌های آنی حاصل از مخلوط کردن حلال‌های مختلف را داشته یا خواستار تزریق عامل واکنشگر به درون مایعی دیگر هستند. البته هنوز چالش‌های زیادی را باید در این زمینه برطرف کرد، برخی از آنها عبارتند از رانش نمونه به دلیل جریان مایع، پارگی غشاء و آلایش احتمالی. در بسیاری از موارد، محیط مایع ساکن نظیر محیط موجود درون سلول مایع مستقل در طول تصویربرداری باید فراهم آورده شود. در سال ۲۰۱۲، سلول مایع گرافنی به‌منظور تصویربرداری با قابلیت تفکیک‌پذیری بالا از فرآیند رشد نانوبلور پلاتینیوم مورد استفاده قرار گرفت. برای ساخت این نوع سلول، قطرات کوچکی از مایعات مختلف بین دو ورق گرافنی محصور می‌شود. از آنجایی که گرافن بسیار نازک بوده و مایعات نیز درون آن نفوذ نمی‌کنند، لذا در صورت تصویربرداری با سلول مایع گرافنی قدرت تفکیک‌پذیری فوق‌العاده بالایی حاصل می‌شود. البته سلول‌های مایع از جنس نیتريد سیلیکون در مقایسه با سلول‌های مایع گرافنی به دلایلی نظیر استحکام مکانیکی بالاتر، خنثی بودن نسبی و کنتراست پایین تصویربرداری هنوز از محبوبیت بیشتری برخوردار هستند. مهمترین مزیت سلول مایع از جنس  $\text{SiN}_x/\text{Si}$ ، فراهم آوردن بستری عالی برای انجام اندازه‌گیری‌های کاربردی در آزمایش‌هایی تحت بایاس الکتریکی، گرمایش و سرمایش است. با این وجود، سلول‌های مایع نیتريد سیلیکونی نیز دارای مسائلی بوده که باید برطرف شوند. به‌عنوان مثال، اختلاف فشار در طول غشاها به سمت بیرون خمیده شده

نیروی کششی<sup>۲۸</sup> می‌توان به اطلاعات بیشتر و حتی قدرت تفکیک‌پذیری بهتری دست یافت [۱].

### ◆ آسیب پرتو الکترونی:

این احتمال وجود دارد که پرتو الکترونی در طول فرآیند تصویربرداری درون سلول مایع منجر به وقوع بسیاری آرتیفکت شود. در این بخش براساس تحقیقات انجام پذیرفته توسط اگرتون<sup>۲۹</sup> و همکاران [۲۰] و مطابق با جدول (۱) منشاء این آرتیفکت‌ها که معمولاً به پنج دسته تقسیم شده مورد بررسی قرار می‌گیرد.

جدول (۱): انواع مختلف آسیب‌های پرتو الکترونی و تاثیر آنها بر سلول مایع TEM (خطوط نقطه چین نماینده تاثیر به نسبت ناچیز هستند) [۱].



پراکندگی الاستیک و غیرالاستیک، هر دو منجر به آسیب پرتو الکترونی می‌شوند. پراکندگی الاستیک از تعامل پرتو الکترونی با هسته اتم حاصل می‌شود. در این پراکندگی هیچ نوع تغییری در انرژی الکترون پراکنده شده به وقوع نمی‌پیوندد. در مقابل، پراکندگی غیرالاستیک در اثر برخورد پرتو الکترونی با پوسته الکترونی اتم‌ها حاصل و منجر به وقوع افت انرژی و دستیابی به الکترون‌های ثانویه، انتشار اشعه ایکس و غیره می‌شود. پراکنش و جابجایی اتمی نوعی از آسیب پرتو الکترونی محسوب شده که در اثر پراکندگی الکترون الاستیک با انرژی و زاویه بالا به وقوع می‌پیوندد (این نوع آسیب منجر به جابجایی هسته اتم به موقعیت‌های بین نشینی یا پراکنش اتم‌های سطحی به دور از نمونه می‌شود). از آنجایی که سلول مایع TEM اصولاً دربرگیرنده نمونه‌های مایع بوده، لذا این نوع آسیب در مقایسه با دیگر آسیب از اهمیت زیادی برخوردار نیستند (مگر احتمالاً در زمان تصویربرداری از فرآیند شکل‌گیری بلور درون مایع). برای کاهش میزان این نوع آسیب می‌توان از انرژی پرتو الکترونی یا دوز الکترون پایین‌تری استفاده کرد. شارژ الکترواستاتیک توسط هر دو نوع پراکندگی الاستیک و غیرالاستیک تولید شده، البته پراکندگی غیرالاستیک به دلیل تولید الکترون‌های ثانویه اثر غالب را دارد. شارژ درون سلول مایع روی غشاهای عایق‌کننده SiN جمع می‌شود. وضعیت این نوع شارژ سطحی با افزایش دوز الکترون شکل گرفته در رابط جامد-مایع (که به دلیل پدیده پراکندگی به‌عنوان منبع الکترون ثانویه

چالش‌های اصلی در حوزه سلول مایع TEM عبارتند از:

- ◆ قدرت تفکیک‌پذیری؛
  - ◆ آسیب پرتو الکترونی؛
  - ◆ نماگری/معرف‌گرایی<sup>۲۴</sup> کلی؛
  - ◆ اثر محصورکنندگی سلول مایع TEM بر رسوب ناشی از محلول‌های فوق اشباع.
- در قسمت ذیل هر یک از چالش‌ها و پیشرفت‌های احتمالی در آینده به‌طور خلاصه شرح داده می‌شوند:

### ◆ قدرت تفکیک‌پذیری:

قدرت تفکیک‌پذیری به نسبت پایین سلول مایع به‌صورت عمده به دلیل پراکندگی الکترون از پنجره نیتريد سیلیکون<sup>۲۵</sup> و لایه مایع مورد نظر است. با استفاده از این سلول می‌توان از نمونه‌های مایع با ضخامت چند میکرومتر نیز تصویربرداری نمود، اما قدرت تفکیک‌پذیری به شدت کاهش می‌یابد. دی جانگ و همکاران [۱۹] با انجام بررسی‌های کمی به خوبی ارتباط میان قدرت تفکیک‌پذیری و ضخامت لایه مایع را نمایش داده‌اند. اعمال بیش از اندازه مایع به احتمال زیاد منجر به وقوع پدیده خمیدگی غشاء مورد نظر و در نهایت کاهش قدرت تفکیک‌پذیری می‌شود. از طریق افزایش ضخامت غشاء می‌توان تا حد زیادی از وقوع پدیده خمیدگی به بیرون جلوگیری کرده و همچنین استحکام پنجره را نیز تقویت نمود، اما این افزایش در ضخامت منجر به پراکندگی بیشتر الکترون و در نتیجه کاهش قدرت تفکیک‌پذیری می‌شود. روش دیگر برای غلبه بر این چالش، بکارگیری ستون‌هایی با اندازه میکرومتر برای اتصال پنجره بالایی و پایینی به یکدیگر است. در صورت استفاده از این روش، تراشه بالایی و پایینی باید به‌صورت یک تکه در کارخانه تولید شود و همین امر منجر به افزایش قیمت و همچنین بالا رفتن احتمال شکستن این نوع سلول‌ها می‌شود. یکی از محبوب‌ترین و ساده‌ترین روش‌های کاهش احتمال وقوع پدیده خمیدگی، کاهش دادن اندازه پنجره مورد استفاده است. یکی از روش‌های مناسب تقلیل پراکندگی الکترون پنجره مربوطه، استفاده کردن از مواد جایگزین برای غشاء است. به‌عنوان مثال، سلول‌های دربرگیرنده غشاء گرافنی در مقایسه با سلول‌هایی از جنس SiN قدرت تفکیک‌پذیری به مراتب بهتری را ارائه می‌دهند. اخیراً نیز با موفقیت از دی‌سولفید مولیبدن<sup>۲۶</sup> برای ساخت غشاء سلول مایع استفاده و قدرت تفکیک‌پذیری بسیار مطلوبی به‌منظور بررسی رشد نانوذرات پلاتینیوم<sup>۲۷</sup> حاصل شده‌است. لازم به ذکر است، این غشاها تنها قادر به محصور ساختن مقدار بسیار کمی از نمونه بوده و برای کاربردهایی نظیر بایاسینگ الکتریکی و جریان مایع مناسب نیستند. در صورت استفاده از روش‌های مکمل همانند میکروسکوپ نیروی اتمی (AFM) و میکروسکوپ



و دیگر واکنش‌های ناخواسته می‌شود. براساس نتایج تحقیقات به عمل آمده، در شرایط روشنائی شدید به دلیل وقوع پدیده آب کافت<sup>۳۱</sup> برای آب، اغلب شاهد شکل‌گیری حباب‌ها و رشد آنها خواهیم بود. آزمایش‌های اصولی بسیاری در زمینه شکل‌گیری گاز ناشی از اثر تابش پرتو الکترونی درون سلول مایع انجام پذیرفته‌اند. پرتو الکترونی قادر به القاء واکنش‌های مختلفی است که می‌توان از آن به‌عنوان یک مزیت برای کنترل واکنش‌هایی که در اثر تصویربرداری ایجاد می‌شود، استفاده کرد. لازم به ذکر است که در صورت وقوع کاهش ناخواسته یون‌ها درون محلول مورد نظر، شاهد تبلور نانوذرات ناخواسته خواهیم بود که به‌عنوان یک آرتیفکت مرسوم در نظر گرفته می‌شود. دیگر آرتیفکت‌ها عبارتند از: تغییر شکل ظاهری ذره، تبدیل مایع یونی به ژل و غیره. این آرتیفکت‌ها معمولاً به دلیل شکل‌گیری گونه‌های رادیکالی و الکترون‌های آبی درون محلول مورد استفاده در سلول مایع در اثر تابش پرتو ایجاد می‌شوند. این نوع الکترون‌های آبی و رادیکال‌ها با یون‌های الکترون‌گیر<sup>۳۳</sup> آبی واکنش نشان داده و منجر به القاء یا شتاب واکنش مورد بررسی در طول تصویربرداری می‌شود. علاوه بر روش استفاده از دوز پایین، پدیده پرتو کافت را می‌توان با روش‌های دیگر نظیر کاهش دما و افزودن مولکول‌های رباینده برای تقلیل میزان رادیکال‌ها به حداقل رسانید.

آلودگی هیدروکربن به وجود آمده در اثر پراکندگی غیرالاستیک درون سلول مایع هنوز به‌طور جامع توسط محققان بررسی نشده‌است. دلیل این امر را می‌توان دشواری تمایز اثرات این پدیده از پرتو کافت، به‌ویژه روی سطح درونی که در تماس با مایع مورد استفاده بوده ذکر نمود. البته روش‌هایی به‌منظور حذف آلیش هیدروکربن روی سطح خارجی سلول مایع از جنس SiN در معرض خلاء موجود است که عبارتند از پاکسازی پلاسمایی، رگبار پرتو الکترونی و گرمایش. به‌طور کلی، منشاء بیشتر آرتیفکت‌های قابل مشاهده در طول تصویربرداری از نمونه‌های فاز مایع آسیب پرتو الکترونی حاصل شده از پراکندگی غیرالاستیک است. بهترین روش برای به حداقل رساندن اثرات آنها بر تصویربرداری، استفاده از انرژی پرتو بالا (برای افزایش طول پویا آزاد و کاهش رویدادهای پراکندگی به‌منظور پایین آوردن میزان تولید الکترون‌های ثانویه) و دوز الکترون پایین (برای کاهش کل رویدادهای پراکندگی) است. در صورت امکان برای دستیابی به قابلیت تمایز اثرات القاء شده توسط پرتو الکترونی از اثرات مورد نظر که در نهایت تصویربرداری شده‌است باید آزمایش‌های کنترل مناسب را انجام داد. با توجه به پیشرفت‌های اخیر در حوزه میکروسکوپ الکترونی روبشی<sup>۳۳</sup> دسترسی به کنتراست بهتر تصویر در دوز بسیار پایین امکان‌پذیر است. به‌عنوان مثال، استفاده از رویکردهای زیر نمونه‌برداری امکان دستیابی به تصاویری با قدرت تفکیک‌پذیری بالا در دوز بسیار پایین را فراهم می‌آورد. روش‌های بهینه‌سازی فرآیند جمع‌آوری نظیر نمونه‌برداری منطبق بر ویژگی نیز از طریق کاهش دادن پویا/پیمایش‌های غیرضروری پرتو مورد نظر قادرند برای دستیابی به دوز پرتو کل پایین آسیب پرتو را به حداقل برسانند. پیشرفت‌های بیشتری

عمل نموده) نامطلوب‌تر می‌شود. وجود چنین شارژ سطحی نه تنها منجر به ایجاد تداخل در پرتو الکترونی ورودی شده، بلکه به دلیل نیروی دافعه به وقوع پیوسته، حرکات ناخواسته ذرات نیز افزایش می‌یابد. یکی از راه‌حل‌های پیشنهادی، استفاده از پرتو الکترونی با انرژی بسیار پایین بوده که قدرت کافی برای تولید الکترون‌های ثانویه را نداشته باشد.

لازم به ذکر است که اعمال چنین محدودیتی در انرژی (۱۵۰-۵۰ eV) باعث شده که هیچ یک از الکترون‌ها قدرت کافی برای عبور از نمونه را نداشته و در نتیجه روشی کاربردی محسوب نمی‌شود. یکی از راهکارهای محبوب، استفاده از انرژی بسیار بالا بوده که دارای طول پویا آزاد بیشتری برای پراکندگی است. در صورت استفاده از نمونه نازک به همراه این روش، بیشتر پرتو الکترونی بدون تولید الکترون‌های ثانویه از نمونه مذکور عبور می‌کنند. یکی دیگر از روش‌های کاهش اثر شارژ کلی، استفاده از دوز الکترون پایین است. یکی دیگر از راه‌حل‌های پیشنهادی، استفاده از موادی متفاوت برای ساخت غشاء مورد نظر است. به‌عنوان مثال، براساس گزارش‌های دریافتی بکارگیری گرافن به جای SiN تا حد زیادی آسیب پرتو الکترونی را کاهش داده و امکان استفاده از دوز بالاتر به اندازه یک مرتبه بزرگی برای تصویربرداری از نمونه را نیز فراهم می‌آورد. گرمایش یکی دیگر از انواع آسیب‌های مربوط به پرتو الکترونی بوده، به این صورت که پراکندگی غیرالاستیک الکترون‌ها جزئی از انرژی جنبشی الکترون‌ها را به انرژی گرمایی تبدیل می‌کند. البته به دلیل وجود حجم نسبتاً زیادی از مایع درون سلول مذکور (و در صورت وجود، به کارگیری سیستم جریان مایع) که منجر به تبادل خوب گرمایی شده، آسیب ناشی از گرمایش در سلول مایع مورد استفاده ناچیز در نظر گرفته می‌شود. با این وجود لازم به ذکر است، آسیب ناشی از گرمایش برای نمونه‌هایی از نوع سلول‌های زیستی حساس به گرمایش محلی و محصور شده درون سلول مایع مهر و موم بدون هیچ گونه جریان مایع از اهمیت بالایی برخوردار است. یکی دیگر از عوامل تخریب و تغییر ساختار سلول‌ها و مواد زیستی، پرتو کافت ناشی از پرتو الکترونی است. در طول فرآیند تصویربرداری TEM، پایین نگاه داشتن دوز الکترون برای به حداقل رساندن وقوع آسیب به سلول‌های زیستی ضروری است.

هرمانسدورفر<sup>۳۰</sup> و همکاران [۲۱] در سال ۲۰۱۶ به‌طور جامع مسئله آسیب‌های اصولی وارد آمده بر سلول‌های زیستی را بررسی کردند. براساس نتایج تحقیقات آنها، محدوده دوز پرتو الکترونی در طول فرآیند تصویربرداری نباید از  $10^2 \text{ electrons nm}^{-2}$  تجاوز نماید. دستیابی به کنتراست یا قدرت تفکیک‌پذیری بهینه برای تشخیص صحیح ویژگی‌های زیستی آلی با چنین دوز پایینی تقریباً غیرممکن است. بنابراین، بهترین روش، استفاده از پروتئین نشان‌دار شده با نانوذره و بکارگیری تکمیلی میکروسکوپ الکترونی و نوری در کنار یکدیگر بوده که در دوز بسیار پایین نیز کنتراست مطلوبی را ارائه می‌کند. پرتو کافت مهم‌ترین آسیب پرتو الکترونی در بیشتر آزمایش‌های انجام پذیرفته درون سلول‌های مایع TEM محسوب می‌شود. پرتو کافت منجر به شکل‌گیری حباب، انبساط سلول مایع

## ◆ اثر محصورکنندگی سلول مایع TEM بر رسوب ناشی از محلول‌های فوق اشباع:

وقوع رسوب در شرایط محصورشدگی پدیده‌ای است که در اکثر زمینه‌ها نظیر زمین‌شناسی (به‌عنوان مثال: اثر تبلور نمک در سنگ‌ها) [۲۳]، تحقیقات زیست محیطی (به‌عنوان مثال: پاک‌سازی آلودگی‌ها) [۲۴]، کانی‌سازی زیستی و زیست ریخت [۲۵ و ۲۶] توجه بسیاری از محققان را به خود جلب نموده است. بنابراین، به‌منظور آشکار نمودن جزئیات مربوط به فرآیند تبدیل از محلول یونی به رسوبات جامد (غالباً بلورین)، روش‌های مختلفی از جمله طیف‌سنجی پرتو ایکس<sup>۳۷</sup> و میکروسکوپ الکترونی برای بررسی این پدیده استفاده شده‌است. لازم به ذکر است پیشرفت‌های به وقوع پیوسته در حوزه سلول مایع میکروسکوپ الکترونی عبوری علاوه بر ایجاد قابلیت بررسی درجا/بهنگام فرآیند رشد بلور در مقیاس نانومتر، این پرسش را نیز در ذهن محققان به وجود آورده که اثر محصورشدگی (که در چنین کاربردی اجتناب‌ناپذیر بوده) پویایی تبلور به چه صورت است. به‌منظور شرح واضح‌تر این پدیده، اثر محصورشدگی بر غلظت یون‌های درون محلول مورد نظر هنگام وقوع فرآیند رسوب بررسی می‌شود. در اینجا انتقال یون‌ها به سمت ذره در حال رشد و تاثیر حضور و کاهش ابعاد ذره رسوبی از پیش شکل گرفته بر آن مورد توجه قرار دارد. کاربرد سلول مایع TEM برای تصویربرداری از فرآیند پویایی تجزیه و رسوب ذره در حلال‌های قطبی نظیر آب، اثبات نموده که این رسوبات دربرگیرنده ماهیت آمورف یا بلورین بوده و مسئله اصلی نیز سازواره انتقال یون و تاثیر آن بر ثبات و پایداری رسوبات مذکور است. اهمیت این امر زمانی آشکار شده که برای تعریف مسئله ذکر شده، شرایط مرزی فضایی یا به عبارت دیگر بستر محصور شده مایع توسط غشاهای نازک به‌منظور ساخت نمونه عبور دهنده الکترون در نظر گرفته شود. محققان با توجه به آزمایش‌های پیشین انجام پذیرفته در زمینه رسوبات با استفاده از سلول مایع TEM یک کد نرم‌افزار<sup>۳۸</sup> را با بکارگیری شبیه‌سازی‌های عنصر محدود<sup>۳۹</sup> برای سناریوهای محصورشدگی مختلف برای حل معادله انتقال یون مورد نظر ارائه نمودند [۲۷].

## ◆ دیگر چالش‌ها و پیشرفت‌ها:

علاوه‌بر چالش‌های ذکر شده، مسائل مرسوم دیگری نیز در این زمینه وجود داشته که عبارتند از حباب‌های محبوس شده (که طراحی بهتر سلول آن را برطرف ساخته) و حرکت نمونه در طول فرآیند تصویربرداری که منجر به افت قدرت تفکیک‌پذیری شده و نیازمند پس پردازش به‌منظور ردیابی ذرات منحصربفرد است. در این شرایط برای جلوگیری از تحرک مواد به‌منظور بهینه‌سازی قدرت تفکیک‌پذیری و پایداری تصویر می‌توان از فرآیند تثبیت با عامل دار کردن SiN استفاده کرد. مسئله آخر که باید مورد توجه قرار گیرد، ماهیت فنی دشوار سلول مایع TEM درجا/بهنگام است. البته اخیراً فضای رقابتی محیط تجاری برای نگهدارنده‌های TEM سلول مایع منجر به ساخت سیستم‌های کاربرپسند شده‌است. تاکنون، تصویربرداری در محیط مایع در مقایسه با تصویربرداری از

باید در زمینه روش‌های بهینه‌سازی دوز پایین درون میکروسکوپ الکترونی عبوری صورت گیرد تا اهداف اصلی آزمایش‌های انجام گرفته در TEM فاز مایع درجا/بهنگام بدون وقوع آرتیفکت‌های القاء شده توسط پرتو الکترونی محقق شوند. تنها در این صورت می‌توان به اطلاعاتی دقیق درباره فرآیندهای واقعی به وقوع پیوسته درون سلول‌های زیستی، باتری‌ها و سنتزهای نانوساختاری دست یافت [۱].

## ◆ نامگري/معرف گرايي:

به دلیل امکان استفاده از تنها حجم محدودی از محلول مورد نظر و وجود فضای محصور، علاوه‌بر سازوکارهای آسیب پرتو ذکر شده، این موارد نیز تردید در رابطه با گویایی/نمایندگی نتایج حاصل از TEM سلول مایع را افزایش می‌دهند. به‌عنوان مثال، تحقیقات انجام پذیرفته درباره مواد الکتروود باتری با استفاده از سلول مایع در حال حاضر محدود است. مواد الکتروود مورد نظر معمولاً از طریق ریخته‌گری قطره‌ای پیکولیتری یا توسط جاری ساختن یک سوسپانسیون روی ریزتراشه قرار می‌گیرند. علاوه‌بر پایین بودن نرخ موفقیت روش‌های مذکور، مقدار مواد قرار گرفته روی ریزتراشه مربوطه نیز بسیار کم است. همین امر باعث می‌شود در معرف بودن/نمایندگی این نوع سیستم‌ها برای باتری‌های همتای خود در دنیای واقعی شک و تردید ایجاد شود. به‌منظور بهینه‌سازی مشخصه معرف بودن/نمایندگی، اتصال مقدار بیشتری از مواد مورد نظر به الکتروود از طریق الگوسازی لایه نازک در مقیاس نانو یا جوشکاری نانومتری با استفاده از پرتو یونی متمرکز<sup>۳۴</sup> ضروری است. مواد تشکیل دهنده غشاء نیز مسئله‌ساز بوده و منجر به کاهش مشخصه معرف بودن/نمایندگی سلول مایع می‌شود. دونو<sup>۳۵</sup> و همکاران [۲۲] اثبات نمودند که مواد تشکیل دهنده غشاء مربوطه در فرآیند لایه‌نشانی به کمک پرتو الکترونی تاثیر زیادی بر ساخت/ریخت‌شناسی و اندازه نانوذرات شکل گرفته دارند. در آزمایش مربوط به لایه‌نشانی و عریان‌سازی مس<sup>۳۶</sup>، فرآیند ولت‌سنجی چرخه‌ای در سلول مایع نسبت به ولت‌سنجی چرخه‌ای اجرا شده درون محلول اصلی کاملاً متفاوت بوده و دلیل این امر، نفوذ بازدارنده مایع و ذره درون سلول مایع مورد نظر است. وقوع چنین فرآیند نفوذ بازدارنده‌ای به احتمال زیاد منجر به توزیع غیرمنتظره اندازه و تعداد مواد لایه‌نشانی شده می‌شود. براساس تحقیقات انجام شده، انتشار نانوذرات درون سلول مایع به اندازه ۷ تا ۹ برابر آهسته‌تر از سرعت مورد انتظار برای محلول اصلی مورد نظر گزارش شده‌است. این آهستگی به دلیل افزایش (پنج برابری) گرانیروی مایع رخ می‌دهد. گرانیروی نیز به نوبه خود توسط تشکیل شدن لایه مایع منظم در نتیجه وقوع شارژ روی سطح پنجره‌های از جنس نیتريد سیلیکون حاصل می‌شود. روش‌های موجود برای غلبه بر این چالش عبارتند از حذف شارژ روی غشاء SiN یا بکارگیری موادی متفاوت برای ساخت غشایی که منجر به وقوع شارژ سطحی نشوند [۱].

نظر می‌توان آن را به‌گونه‌ای طراحی نمود که نتایج نهایی حاصل از الکتروند در آزمایش درجا/بهنگام به‌صورت غیرمخرب از تراشه نمونه خارج شده و با استفاده از روش‌های مشخصه‌یابی مکمل غیردرجا مورد بررسی قرار گیرد. در پایان لازم به ذکر است، طراحی نگهدارنده‌های TEM با قابلیت جداسازی نوک حاوی نمونه از دیگر قسمت‌های نگهدارنده برای اجرای هر چه آسان‌تر آزمایش‌های مکمل دیگر الزامی است [۱].

نمونه‌های جامد با استفاده از TEM دارای چالش‌های بسیار محدود کننده‌ای بود و هنوز پتانسیل خوبی برای بهینه‌سازی این روش وجود دارد. به‌عنوان مثال، بیشتر آزمایش‌ها تنها در میدان روشن/تاریک STEM قابل اجرا هستند. اگر سلول‌های مایع به‌گونه بهتری برای کاربردهایی نظیر پراکنش، EELS و توموگرافی طراحی شوند، می‌توان اطلاعات بیشتری را از نمونه استخراج نمود. به‌منظور بهینه‌سازی سلول مایع مورد

## نتیجه‌گیری

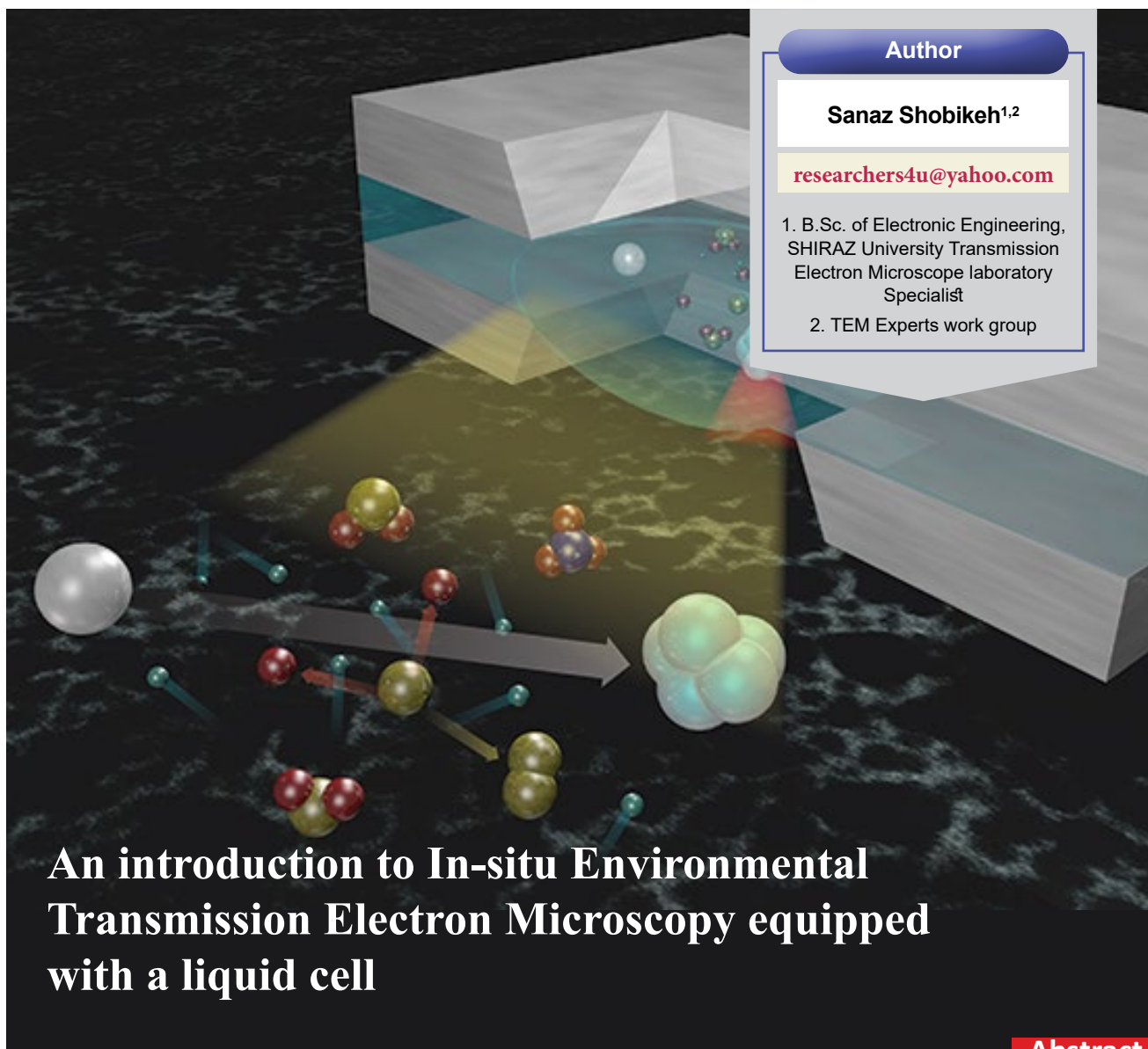
از زمان پیدایش میکروسکوپ الکترونی، تلاش‌های زیادی به‌منظور تسهیل تصویربرداری از محلول‌ها و دیگر نمونه‌ها درون محیط مایع صورت گرفته است. به تدریج میکروسکوپ الکترونی عبوری فاز مایع با ارائه نتایج بسیار نزدیک به واقعیت از نمونه‌های مذکور، به دستگاهی کلیدی در این حوزه تبدیل شد. به همین دلیل میکروسکوپ الکترونی عبوری مجهز به سلول مایع در سال‌های اخیر توجه قابل توجهی را به خود جلب نموده است. باید توجه نمود که میکروسکوپ الکترونی عبوری مرسوم از نمونه‌های بسیار نازک تثبیت یا منجمد شده تصویربرداری می‌کند، اما میکروسکوپ الکترونی عبوری مجهز به سلول مایع به‌منظور درک هر چه بهتر مولکول‌های تحت سیستم مایع و ارائه اطلاعات بیشتر، از یک رویکرد کاملاً متفاوت استفاده می‌کند. طراحان دریافته‌اند که بهترین روش برای دستیابی به قابلیت تصویربرداری از نمونه‌های مایع و در عین حال پیشگیری از تحمیل هزینه‌های اضافی ناشی از دستکاری ساختار کلی میکروسکوپ الکترونی عبوری، استفاده از سلول‌های مایع مهر و موم شده در قسمت نگهدارنده نمونه است. در صورت استفاده از سلول‌های مایع با ساختار نانو قابلیت تصویربرداری از مایعات یا نمونه‌های واقع درون محیط مایع با قدرت تفکیک‌پذیری زیر نانومتر و همچنین بررسی بسیاری از پویایی‌های مواد که پیش‌تر مشاهده آنها با روش‌های مرسوم امکان‌پذیر نبوده فراهم می‌آید. در این شرایط می‌توان تحرک نانوذرات و همچنین جزئیات نامحسوس در مواد و ساختار نمونه‌های زیستی درون محیط مایع را تشخیص داد. با توجه به موارد ذکر شده، انواع زیادی از سلول‌های مذکور موجود هستند که هر کدام مزایا و معایب مربوط به خود را دارند. محققان در حال بهینه‌سازی و دستیابی به نوع ایده‌آل این سلول برای تصویربرداری از همه نمونه‌ها هستند.

## پی‌نوشت

۱. لیسانس الکترونیک، کارشناس آزمایشگاه میکروسکوپ الکترونی عبوری دانشگاه شیراز، عضو کارگروه تخصصی میکروسکوپ الکترونی عبوری
2. Conventional Transmission Electron Microscopy (CTEM)
3. In-situ liquid cell transmission electron microscopy
4. Atomic Force Microscopy (AFM)
5. Scanning tunneling microscopy (STM)
6. Platinum-copper
7. Silicon Nitride (SiNx)
8. Perchloric acid (HClO<sub>4</sub>)
9. High-Angle Annular Dark-Field (HAADF)
10. Electron Energy Loss Spectroscopy (EELS)
11. Scanning Electron Microscopy (SEM)
12. Wetting
13. Environmental Transmission Electron Microscopy (ETEM)
14. Isopropanol
15. Dimethyl carbonate
16. Dichloromethane
17. Amorphous silicon nitride (SiN)
18. Poseidon
19. Ex-situ
20. Williamson
21. Wafers
22. Zheng
23. De Jonge
24. Representativeness
25. Silicon Nitride (SiN)
26. Molybdenum disulphide (MoS<sub>2</sub>)
27. Platinum (Pt)
28. Traction Force Microscopy (TFM)
29. Egerton
30. Hermannsdörfer
31. Hydrolysis
32. Electronegative ions
33. (Scanning)Transmission Electron Microscopy ((S)TEM)
34. Focused Ion Beam (FIB)
35. Donev
36. copper
37. X-Ray
۳۸. نرم‌افزار برنامه‌نویسی و شبیه‌سازی مورد استفاده برای رشته‌های مختلف (MATLAB)
39. Finite Element (FE)



- [1] Liquid cell transmission electron microscopy and its applications, by: Shengda Pu, Chen Gong and Alex W. Robertson.
- [2] [https://nl.pinterest.com/pin/439171401138113733/?amp\\_client\\_id=CLIENT\\_ID\(&mweb\\_unauth\\_id=&simplified=true](https://nl.pinterest.com/pin/439171401138113733/?amp_client_id=CLIENT_ID(&mweb_unauth_id=&simplified=true).
- [3] Importance and Challenges of Electrochemical in Situ Liquid Cell Electron Microscopy for Energy Conversion Research, by: Nejc Hodnik, Gerhard Dehm, Karl J. J. Mayrhofer
- [4] Fabrication of thin TEM sample of ionic liquid for high-resolution ELNES measurements, by: Miyata T, Mizoguchi T. 2017. Ultramicroscopy 178, 81-87.
- [5] In situ transmission electron microscopy and spectroscopy studies of interfaces in Li ion batteries: challenges and opportunities, by: Wang CM et al. 2010. J. Mater. Res. 25, 1541-1547.
- [6] Aberration corrected and monochromated environmental transmission electron microscopy: challenges and prospects for materials science, by: Hansen TW, Wagner JB, Dunin-Borkowski RE. 2010. Mater. Sci. Technol. 26, 1338-1344.
- [7] Observation and quantification of nanoscale processes in lithium batteries by operando electrochemical (S)TEM, by: Mehdi BL et al. 2015. Nano Lett. 15, 2168-2173.
- [8] Atomic-scale imaging and spectroscopy for in situ liquid scanning transmission electron microscopy, by: Jung-hann KL, Evans JE, Aguiar JA, Arslan I, Browning ND. 2012. Microsc. Microanal. 18, 621-627.
- [9] Direct visualization of initial SEI morphology and growth kinetics during lithium deposition by in situ electrochemical transmission electron microscopy, by: Sacci RL, Dudney NJ, More KL, Parent LR, Arslan I, Browning ND, Unocic RR. 2014. Chem. Commun. 50, 2104-2107.
- [10] Anisotropic lithiation onset in silicon nanoparticle anode revealed by in situ graphene liquid cell electron microscopy, by: Yuk JM, Seo HK, Choi JW, Lee JY. 2014. ACS Nano 8, 7478-7485.
- [11] Electron microscopy of specimens in liquid, by: Niels de Jonge and Frances M. Ross.
- [12] Real-time observation of protein aggregates in pharmaceutical formulations using liquid cell electron microscopy, by: Lynn M. DiMemmo, A. Cameron Varanob, Jonathan Haulenbeeka, Yanping Liangb, Kaya Patelb, Madeline J. Dukesc, Songyan Zhengd, Mario Huberta, Steven P. Piccolia, and Deborah F. Kellyb.
- [13] Observation of single colloidal platinum nanocrystal growth trajectories, by: Zheng HM, Smith RK, Jun YW, Kisielowski C, Dahmen U, Alivisatos AP. 2009. Science 324:1309-12.
- [14] Dynamic microscopy of nanoscale cluster growth at the solid-liquid interface., by: Williamson MJ, Tromp RM, Vereecken PM, Hull R, Ross FM. 2003. Nat. Mater. 2:532-36.
- [15] Electron microscopy of whole cells in liquid with nanometer resolution, by: de Jonge N, Peckys DB, Kremers GJ, Piston DW. 2009. PNAS 106:2159-64.
- [16] High-resolution EM of colloidal nanocrystal growth using graphene liquid cells, by: Yuk JM, Park J, Ercius P, Kim K, Hellebusch DJ, et al. 2012. Science 336:61-64.
- [17] Liquid Cell Transmission Electron Microscopy, by: Hong-Gang Liao and Haimei Zheng.
- [18] [www.biotech.com](http://www.biotech.com).
- [19] Nanometer-resolution electron microscopy through micrometers-thick water layers, by: de Jonge N, Poirier-Demers N, Demers H, Peckys DB, Drouin D. 2010. Ultramicroscopy 110, 1114-1119.
- [20] Radiation damage in the TEM and SEM, by: Egerton RF, Li P, Malac M. 2004. Micron 35, 399-409.
- [21] The effect of electron beam irradiation in environmental scanning transmission electron microscopy of whole cells in liquid, by: Hermannsdörfer J, Tinnemann V, Peckys DB, de Jonge N. 2016. Microsc. Microanal. 22, 656-665.
- [22] Substrate effects on the electron-beam-induced deposition of platinum from a liquid precursor, by: Donev EU, Schardein G, Wright JC, Hastings JT. 2011. Nanoscale 3, 2709-2717.
- [23] The Pressure Induced by Salt Crystallization in Confinement, by: Desarnaud, J.; Bonn, D.; Shahidzadeh, N. Sci. Rep. 2017, 6, 30856.
- [24] Pore-Size-Dependent Calcium Carbonate Precipitation Controlled by Surface Chemistry, by: Stack, A.G.; Fernandez-Martinez, A.; Allard, L.F.; Bañuelos, J.L.; Rother, G.; Anovitz, L.M.; Cole, D.R.; Waychunas, G.A., Environ. Sci. Technol. 2014, 48, 6177-6183.
- [25] Self-organization in precipitation reactions far from the equilibrium, by: Nakouzi, E.; Steinbock, O., Sci. Adv. 2016, 2, e1601144.
- [26] Precipitation of Calcium Carbonate in Confinement, by: Loste, E.; Park, R.J.; Warren, J.; Meldrum, F.C., Adv. Funct. Mater. 2004, 14, 1211-1220.
- [27] Liquid Cell Transmission Electron Microscopy and the Impact of Confinement on the Precipitation from Supersaturated Solutions, by: Roland Kröger \* and Andreas Verch



## Author

Sanaz Shobikeh<sup>1,2</sup>[researchers4u@yahoo.com](mailto:researchers4u@yahoo.com)

1. B.Sc. of Electronic Engineering,  
SHIRAZ University Transmission  
Electron Microscope laboratory  
Specialist

2. TEM Experts work group

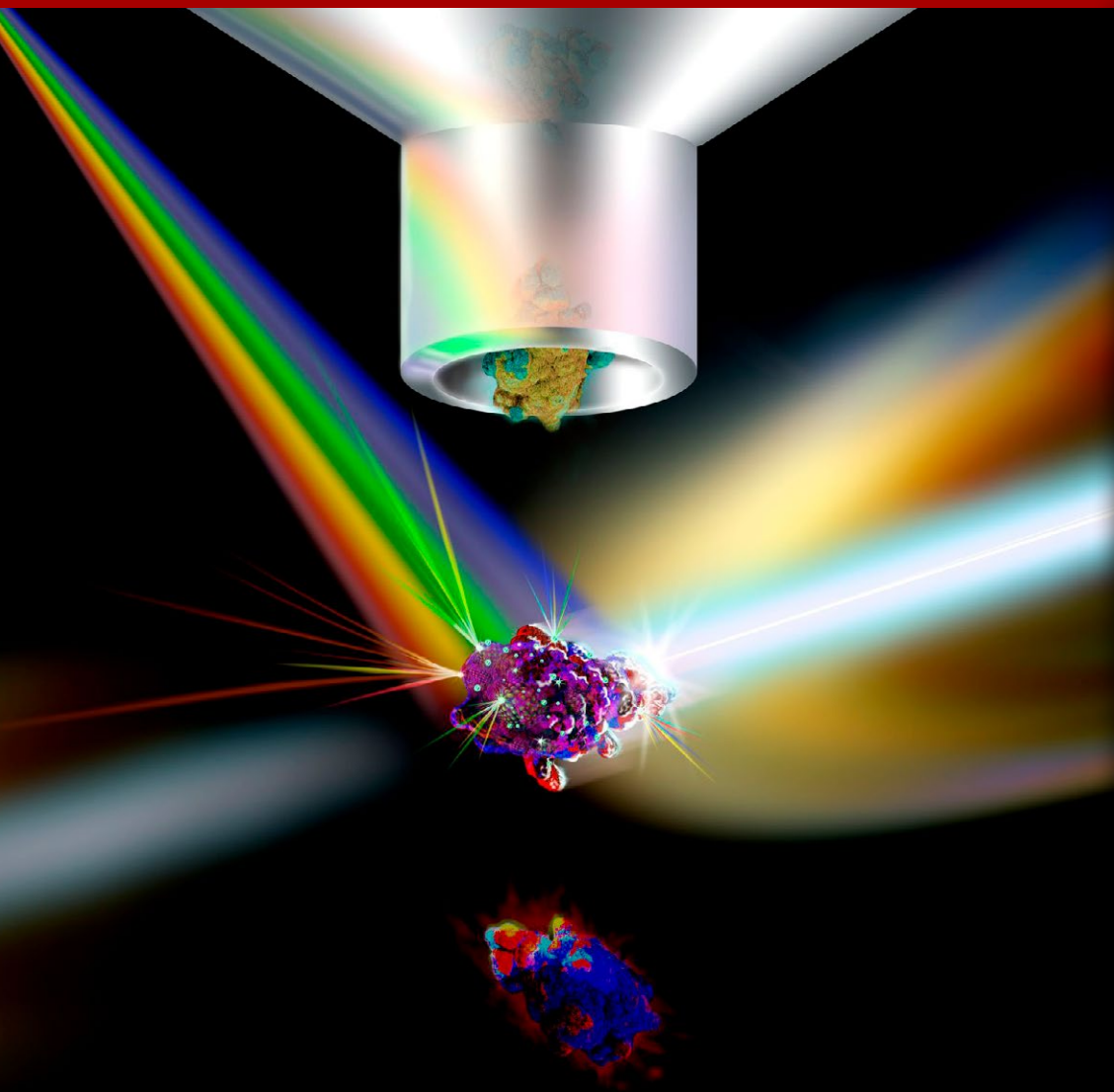
## An introduction to In-situ Environmental Transmission Electron Microscopy equipped with a liquid cell

### Abstract

Today one of the essential requirements for various academic and industrial research fields is to achieve the ability of imaging specific specimens inside different kind of liquid or gaseous environments using an In Situ Transmission Electron Microscopy equipped with a special holder that contains a liquid or gas cell infrastructure. In the past, in order to place the samples inside Transmission Electron Microscope holder the most important rule was to completely dehydrate them so there were no complications with vacuum system and no damage come to the samples. As we all know, most of the samples in the real world are exposed to different liquids and gases, so if the samples are dehydrated and viewed under vacuum condition inside Conventional Transmission Electron Microscope, then we failed to recreate their natural environment and most assuredly lose valuable information. Every material has a distinct reaction to different types of liquid and in order to analyze them precisely, they should be studied in their natural environment. To gain the much needed real-time information about the samples inside liquid environment, In-situ Environmental Transmission Electron Microscope equipped with liquid-controlled environment is used. Imaging samples using this device can provide unique insights into their structures and reactions. In this article, we comprehensively introduce In-situ Environmental Transmission Electron Microscope equipped with liquid-controlled environment.

### Keywords

Liquid Cell; In-situ liquid cell transmission electron microscopy; Specimen holder.

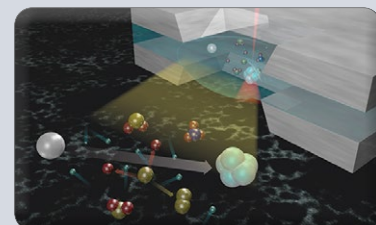


## معرفی روش آنالیز فلوسایتومتری

به اشتراک گذاری تجربیات کارشناسان آزمایشگاهها؛ برنامه زنده  
اینترنتی شبکه آزمایشگاهی



معرفی روش واکنش زنجیره‌ای پلیمرز  
هم‌زمان



معرفی اصول عملکرد میکروسکوپ الکترونی  
عبوری محیطی درجا / بهنگام مجهز به سلول مایع



معرفی آزمون خستگی فرتینگ یا خستگی -  
سایشی مواد با بارگذاری خمشی متناوب



جداسازی و شناسایی اجزاء تشکیل دهنده  
اسانس و اسیدهای چرب تری گلیسریدی  
در گیاه کلپوره به روش کروماتوگرافی گازی -  
طیف‌سنجی جرمی



کاربردهای جدید رزونانس مغناطیس هسته