原位液体室透射电子显微镜技术的发展及应用

陈新^{1,2*}, 李唱¹, 柯凯¹

1. 华东理工大学材料科学与工程学院, 超细材料制备与应用教育部重点实验室, 上海市先进聚合物材料重点实验室, 上海 200237;

2. 中国科学院上海微系统与信息技术研究所, 信息功能材料国家重点实验室, 上海 200050

* 联系人, E-mail: xinchen73@ecust.edu.cn

2016-09-14 收稿, 2016-10-31 修回, 2016-10-31 接受, 2017-01-04 网络版发表

上海市科学技术委员会项目(11nm0507000)、中国科学院上海微系统与信息技术研究所信息功能材料国家重点实验室开放课题(SKL201306)、教育部留学回国人员科研启动基金和上海市重点学科和重点实验室项目(B502, 08DZ2230500)资助

摘要 原位液体室透射电子显微镜技术的发展, 极大地扩展了透射电子显微镜的使用范围, 使之能够以纳米尺度的成像分辨率对液体环境中的样品进行实时动态分析. 本文基于本课题组近年来参与和开展的研究, 综述了原位液体室电子显微镜的研究进展, 包括原位液体室透射电子显微镜实验装置的研制, 及其在纳米材料制备与表征、电化学反应过程、新能源材料与器件、生命科学等领域的应用. 最后, 对原位液体室透射电子显微镜领域的未来发展趋势进行了展望.

关键词 原位液体室透射电子显微镜, 纳米材料, 辐照诱导沉积, 电化学, 锂离子电池

透射电子显微镜由于具有较高的时间和空间分辨率, 已经成为观察材料微观形貌和纳米结构的重要工具^[1]. 为了保护电子枪以及减少电子束的散射作用, 透射电子显微镜通常需要在很高的真空环境下工作. 为了避免湿态样品的蒸汽对真空环境的破坏, 传统的透射电子显微镜往往被局限于用来检测干态样品. 纳米科学的进步涉及各种各样的液体环境, 对发展和使用高分辨手段分析液体样品提出迫切需求. 环境透射电子显微镜通过对电子显微镜系统的真空腔进行改造, 在样品周围形成一个狭小的可通入一定水汽的气氛环境, 利用差分泵抽气系统, 让远离样品的部分保持所需的高真空度^[2,3], 对本领域发展起到了重要作用, 然而通常其允许的气压有限, 难以对充分湿润的样品进行分析. 另一类尝试是选择饱和蒸气压很小的离子液体开展研究, 因其在真空环境中难以汽化, 有可能保持液态在电子显微镜中直接分析, 而不需要进行差分泵抽气处理^[4,5], 能够取得重

要的研究结果, 然而离子液体种类相对较少, 缺乏普遍性. 原位液体室透射电子显微镜技术的发展, 其基本思想是利用两层氮化硅等薄膜窗口衬底组建原位液体样品室, 将液体样品夹在中间进行密封, 既约束液体不向透射电子显微镜真空中泄漏, 又允许电子束穿透进行高分辨成像, 这一努力已经取得良好效果, 引起了国际上的广泛关注, 带来重要的发展机遇^[6~9].

原位液体室透射电子显微镜技术大致分为3种: 薄膜窗口衬底+胶水密封^[6]、金属箱体+薄膜窗口衬底+O型圈密封^[10,11]、石墨烯组装原位液体样品室^[12]. 这3种技术的应用均已产生了重要的科学突破, 其中O型圈密封技术操作相对简易, 并且相对更易实现和推广通电、控温等附加功能, 因此目前这一技术的商业化应用程度最高^[7].

本文基于使用O型圈密封的原位液体室透射电子显微镜技术, 以笔者近年来参与和开展的相关研究结果为基础进行总结, 其中包括已发表的内容和

引用格式: 陈新, 李唱, 柯凯. 原位液体室透射电子显微镜技术的发展及应用. 科学通报, 2017, 62: 2886~2892

Chen X, Li C, Ke K. The development and applications of *in situ* liquid chamber TEM technologies (in Chinese). Chin Sci Bull, 2017, 62: 2886~2892, doi: 10.1360/N972016-01029

一些尚未发表的最新内容. 其中包括不同规格和功能的原位液体样品室的研制, 使用原位液体室透射电子显微镜开展的研究结果, 以及对该领域未来发展方向和趋势的预测和展望.

1 原位液体样品室装置的研制

本文作者^[11]率先研制成功一种基于金属盒体与O型圈密封的原位液体室通电透射电子显微镜技术. 图1(a), (b)为在普通原位液体样品室的基础上, 附加了通电功能的原位液体室装置^[11]. 通过螺钉上紧实现O型圈与金属盒体以及O型圈与氮化硅窗口衬底之间的良好密封, 用微金属丝将外接导线与在氮化硅窗口上沉积制备的微电极相连接. 通过沉积不同的电极材料和在窗口部分添加不同的电解质溶液, 可以原位观察各种电化学反应的微观过程, 其原位液体室结构示意图如图1(a)所示. 这种原位通电液体室搭载到透射电子显微镜样品杆上的实物照片如图1(b)所示. 目前该领域同行发展了基于金属盒体与O型圈密封的原位液体室通电透射电子显微镜产品, 并已实现商业化^[7].

透射电子显微镜中的样品空间非常狭小, 为了增加原位液体装置的适用性和安全性, 本课题组研制了超薄原位液体样品室, 其示意图和实物照片如图1(c), (d)所示. 利用精密加工的金属盒体将氮化硅窗口衬底夹在中间, 盒体部件间用O型圈密封, 盒体部件和氮化硅窗口衬底之间用胶水密封. 相对于传

统的多个O型圈密封的原位液体样品室, 可以在很大程度上减少原位液体室的厚度, 使之在透射电子显微镜有限的样品空间内更容易添加更多的附加功能, 拓展原位液体室电子显微镜应用范围.

除通电外, 温度控制对原位液体室透射电子显微镜研究也很重要. Xin和Zheng^[13]开发了原位加热的液体室透射电子显微镜技术, 用来进行高温条件下纳米材料生长机理的研究, 但并未包含原位冷却的低温液体室透射电子显微镜. 针对这一现状, 本课题组参与的工作中^[14], 基于使用O型圈密封的原位液体室透射电子显微镜样品台, 增加了升降温和测温功能, 用于开展不同温度下的原位电子显微镜实验.

2 原位液体室透射电子显微镜的应用

2.1 纳米颗粒的原位成像和动态观察

图2(a)显示了用多个O型圈密封的原位液体室透射电子显微镜观察水溶液中的Ag纳米颗粒照片^[15]. 图中可以看到Ag纳米颗粒接近圆形, 其尺寸有一定分布范围, 在5~18 nm之间. 实验中, 纳米颗粒位置随时间未发生变化, 表明颗粒是贴附固定在氮化硅薄膜窗口上的. 背景中的环形结构来自贴附于另一侧窗口上的颗粒. 由于原位液体室窗口只有50 nm厚, 在液体室内部压力作用下容易形成突起, 使两层窗口间的间距增加(可达10 μm), 造成两层窗口的聚焦条件不同, 在一侧聚焦良好时, 另一侧失焦, 形成了

图1 (网络版彩色)O型圈密封原位通电液体室装置结构及其实物照片. (a), (b) 多个O型圈密封的原位通电液体样品室装置^[11]; (c) 超薄原位液体样品室结构示意图; (d) 带有通电功能的超薄原位液体样品室照片

Figure 1 (Color online) Structure and optical photograph of O-ring sealed *in situ* liquid chamber apparatus. (a), (b) Multiple O-ring sealed *in situ* electrical liquid chamber^[11]. (c) Schematic diagram of the ultra-thin *in situ* liquid chamber. (d) Optical photograph of ultra-thin *in situ* liquid chamber with electrical function

图2 (a) 使用多个O型圈密封的原位液体室观察液体中的Ag纳米颗粒^[14]; (b) 用超薄原位液体室观察Ag纳米颗粒

Figure 2 (a) Using multiple O-ring sealed *in situ* liquid chamber to observe Ag nanoparticles in the liquid^[14]. (b) Using ultra-thin *in situ* liquid chamber to observe Ag nanoparticles

模糊的环形图样. 生物细胞等领域需要分析微米级厚度的样品, 而窗口之间距离能达到多厚, 就能够对多厚的液体层进行良好分析, 因此这是一个重要的研究方向. 在原位液体室透射电子显微镜分析中, 液体室常常存在气泡^[16], 文献[17]表明气泡的存在可以使观察位置液体层的厚度远小于窗口之间的距离, 有利于减小电子散射效应的影响, 获得高分辨率的图像. 图2(b)是使用超薄结构液体室观察Ag纳米颗粒在液体中情况的比较结果, 显示了良好的空间分辨率, 可以观察到单个Ag纳米晶颗粒内部的细致结构.

对Au纳米颗粒水溶液样品的原位液体室电子显微镜分析中, 还观察到一些纳米颗粒在液体中的动态变化过程^[16]. 除单个颗粒相对位置随时间的变化外, 还可以观察到颗粒团簇随着时间旋转移动, 以及团簇中颗粒间随着时间发生互相融合的现象.

在原位液体室透射电子显微镜分析中, 电子束是否能造成纳米颗粒的改变值得深入研究, 例如贵金属纳米颗粒的氧化刻蚀现象^[18]. 本课题组^[19]对液体中Au/AgCl复合颗粒在电子束照射下的转变进行了实时观察. 在电子束的照射下, Au/AgCl复合立方

体颗粒表面形成孔洞, 并且随着照射时间的延长, 孔洞迅速长大, 最后形成了中空的纳米颗粒结构. 空洞的形成可归因于辐照导致的AgCl分解. 与干态样品不同, 在液体环境下辐照, 能观察到有细小纳米颗粒漂浮扩散到周围的氮化硅窗口表面, 这样的扩散机制对空洞的形成起到了促进作用. 另一方面, 由于有纳米金的保护作用, 复合颗粒形成空洞后, 其外形仍大致保持了立方体形状.

2.2 液相电子束诱导沉积制备

原位液体室透射电子显微镜领域的一个主要研究方向是用电子束诱导生长纳米材料并分析其生长机理^[20]. 研究焦点主要集中在贵金属和金属化合物的生长研究. 本文作者^[21]首次进行了半导体硅材料体系的液相电子束诱导制备, 并开展了系统性研究. 将一定比例的 SiCl_4 和 CH_2Cl_2 的混合溶液放入原位液体样品室中, 利用液相电子束诱导沉积的方式, 采用不同的电子束曝光模式可控制得到不同尺寸的 SiC_x 纳米点和纳米线. 利用定点定时曝光的方式, 获得的 SiC_x 纳米点结构如图3(a)所示, 分析结果表明颗粒尺寸与电子束剂量存在着良好的指数关系, 这一指数关系不随 SiCl_4 和 CH_2Cl_2 混合比例的改变而改变^[21]. 入射电子束照射范围有限, 因此难以解释横向尺寸的长大, 粒子随机行走扩散生长机制又容易形成分枝; 而二次电子的能量分布是在有利于破坏共价键的范围内, 因此可以推测二次电子在材料生长中起到了重要作用. 通过在氮化硅窗口上蒸镀二次电子产生的金薄膜进行比较实验, 得到了明显增高的生长速率, 证实了以上推测^[22]. 图3(b)为线扫描曝光模式下获得的 SiC_x 纳米线结构, 纳米线的粗细也与电子

图3 (a) 利用液相电子束诱导沉积在定点曝光模式下制备 SiC_x 纳米点随时间的生长情况; (b) 利用液相电子束诱导沉积在线扫描曝光模式下制备的 SiC_x 纳米线; (c) (b)中的 SiC_x 纳米线的SEM图片

Figure 3 (a) SiC_x nanodot growth with time using liquid phase electron beam induced deposition (LP-EBID), under fixed dot exposure mode. (b) SiC_x nanowires prepared with LP-EBID under line scan exposure mode. (c) SEM micrograph of the SiC_x nanowires shown in (b)

剂量有关,通过改变束流强度可以对纳米线的粗细进行有效控制.不仅如此,通过控制电子束强度和扫描速率参数,还可以得到特殊的三维立体结构.图3(c)为液体室打开后对图3(b)中2根 SiC_x 纳米线的扫描电子显微镜(SEM)图片,可以清晰地观察到其三维枝状结构.其中较粗的一根纳米线进一步在聚焦离子束系统中被制备加工成铂纳米电极,得到了可通电测量的纳米器件,显示了原位液体室透射电子显微镜技术在微纳米电子加工领域的应用前景^[23].

2.3 电子显微镜原位电化学观察分析的应用

自原位液体室透射电子显微镜技术兴起之始,金属材料电化学生长机理^[6]等电化学研究工作就受到高度重视.本文作者^[11]选用金属Ni材料为研究对象,利用原位液体通电样品室,在透射电子显微镜中观察到Ni/NiCl₂体系中Ni纳米薄膜的电化学沉积生长和电化学刻蚀过程.在-1 V的固定偏压下,Ni纳米薄膜沿着氮化硅薄膜衬底不断生长,生长速率随着时间和方位各有不同,沿着衬底表面的生长速率远高于垂直于衬底方向的生长速率.如图4(a)所示,由许多小颗粒组成的深色部分为生长中的Ni薄膜^[11].根据不同时间所得的照片进行分析,结果发现薄膜前端先出现新的纳米颗粒,颗粒随时间长大,融入已有薄膜中.在电化学生长过程中,薄膜前端的氮化硅窗口衬底上有一个导电吸附层,能够将电荷由电极传递到薄膜前端,进行电化学反应和纳米颗粒生长.与沉积过程不同,施加+1 V偏压进行电化学刻蚀的过程中,薄膜前沿的刻蚀后退速率与时间的关系表现出一定的滞后性,并且该过程相对于沉积速率更显得各向同性.刻蚀到一定阶段,薄膜特定区域显示了瑞利不稳定性.由于薄膜有通过减小表面积来降低系统能量的趋势,薄膜减薄到一定程度后发生破裂,并形成了许多圆形的微孔.

除金属薄膜外,还在新能源材料与器件研究领域开展探索,将组装完整的锂离子电池在原位液体室中制作完成并进行原位液体电子显微镜观察,如图4(b)所示^[24].该电池以 LiCoO_2 薄膜作为阴极,以载有 $\text{Li}_4\text{Ti}_5\text{O}_{12}$ 的碳薄膜作为阳极,以标准有机锂电电解质材料作为电解质.初期的实验结果表明通过透射电子显微镜原位观察实际的锂离子电池系统是可行的.随后几年,已经可以用原位液体室电子显微镜分析记录Si纳米线和 SnO_2 纳米线电极反应中的脱锂/嵌锂动态过程了^[25,26].

图4 (网络版彩色)原位电子显微镜在电化学研究中的应用. (a) Ni纳米薄膜的电化学生长过程^[11]; (b) 锂离子电池样品的原位液体室电子显微镜照片^[24]

Figure 4 (Color online) Application of *in situ* electron microscopy in electrochemistry. (a) Electrochemical growth process of Ni nano film^[11]. (b) *In situ* liquid chamber transmission electron microscope (TEM) micrograph of a lithium ion battery sample^[24]

2.4 原位电子显微镜在生命科学研究中的应用

原位液体室电子显微镜技术在生命科学领域有广泛的应用^[27].本课题组^[28]用原位液体室透射电子显微镜对大肠杆菌细胞进行了观察研究.大多数大肠杆菌细胞在电子束的照射下保持了形状完整,得到了纳米尺度分辨率的细胞结构图像,并观察到了细胞的菌毛和菌毛在液体中的运动情况,以及液体环境中细胞拟核的形态特征.原位液体室电子显微镜与荧光显微镜关联分析结果显示,经过长时间电子束照射成像过程后,大肠杆菌细胞仍然可以保持良好的生物活性.如图5(a)中箭头所示的细胞,在电子束照射后仍然在荧光显微镜下发出清楚的荧光信号,证实细胞是活的.其周围细胞也能发出荧光,但图像较为模糊,可能是在荧光显微镜下处于不同光学成像深度造成的.

3 总结与展望

原位液体室电子显微镜技术为我们在液体环境

图5 (网络版彩色)大肠杆菌细胞的原位液体室透射电子显微镜照片(a)与荧光照片(b)^[28]

Figure 5 (Color online) *In situ* liquid chamber TEM image (a) and fluorescence photograph (b) of *E. coli*^[28]

中开展纳米科学、新能源材料与器件、生命科学等领域研究开辟了一种新方法,突破了传统技术难以对液体中的样品进行高分辨实时分析的局限,取得

了一系列崭新的结果. 目前国内外已经有一些研究机构在开展原位液体室电子显微镜的前沿研究工作,国内目前主要有浙江大学金传洪课题组、东南大学孙立涛课题组、北京工业大学隋曼玲课题组等,未来还会有新的课题组不断加入. 未来原位液体样品室的多功能化会进一步发展,其应用范围也将更加广泛.

传统透射电子显微镜时间分辨率难以突破毫秒量级,但在材料科学、生命科学等领域,快速捕捉纳米尺度的瞬间变化非常重要. 例如,原位液体室透射电子显微镜提供了研究生物分子连续动态结构信息的可能,但要获得生物分子高分辨的连续动态结构信息,电子显微镜的摄像速度必须大于生物分子布朗运动的速度,这就需要通过超快电子显微镜技术^[29]来实现. 目前利用脉冲激光发展的超快电子显微镜技术已经能够用于原位液体室透射电子显微镜研究^[30],然而由于生物材料具有电子显微镜图像衬度相对较弱,以及容易产生辐照损伤等障碍,要使超快原位液体室电子显微镜技术在生物学研究中发挥更大作用还需付出很多努力.

此外,目前市场上原位液体室透射电子显微镜产品价格还比较高,其应用还不够普及. 随着技术的不断进步,伴随着产品价格逐步接近能够被广大研究者接受的水平,相信原位液体室透射电子显微镜研究将逐步普及,并将在各个学科领域发挥更大的作用.

参考文献

- Williams D B, Carter C B. Transmission Electron Microscopy: A Textbook for Materials Science. New York: Springer, 2009
- Gai P L. Development of wet environment TEM (wet-ETEM) for *in situ* studies of liquid-catalyst reactions on the nanoscale. *Microsc Microanal*, 2002, 8: 21–28
- Sharma R. An environmental transmission electron microscope for *in situ* synthesis and characterization of nanomaterials. *J Mater Res*, 2011, 20: 1695–1707
- Huang J Y, Zhong L, Wang C M, et al. *In situ* observation of the electrochemical lithiation of a single SnO₂ nanowire electrode. *Science*, 2010, 330: 1515–1520
- Chen S, Kobayashi K, Kitaura R, et al. Direct HRTEM observation of ultrathin freestanding ionic liquid film on carbon nanotube grid. *ACS Nano*, 2011, 5: 4902–4908
- Williamson M, Tromp R M, Vereecken P M, et al. Dynamic microscopy of nanoscale cluster growth at the solid-liquid interface. *Nat Mater*, 2003, 2: 532–536
- Chen X, Li C, Cao H L. Recent developments of *in situ* wet cell technology for transmission electron microscopies. *Nanoscale*, 2015, 7: 4811–4819
- Ross F M. Opportunities and challenges in liquid cell electron microscopy. *Science*, 2015, 350: 6267

- 9 Nao T, Yang H. Toward ending the guessing game: Study of the formation of nanostructures using *in situ* liquid transmission electron microscopy. *J Phys Chem Lett*, 2015, 6: 5051–5061
- 10 Franks R, Morefield S, Wen J, et al. A study of nanomaterial dispersion in solution by wet-cell transmission electron microscopy. *J Nanosci Nanotechnol*, 2008, 8: 4404–4407
- 11 Chen X, Noh K W, Wen J G, et al. *In situ* electrochemical wet cell TEM characterization of solid-liquid interactions between Ni and aqueous NiCl_2 . *Acta Mater*, 2012, 60: 192–198
- 12 Yuk J M, Park J, Ericus P, et al. High resolution EM of colloidal nanocrystal growth using graphene liquid cells. *Science*, 2012 336: 61
- 13 Xin H L, Zheng H M. *In situ* observation of oscillatory growth of bismuth nanoparticles. *Nano Lett*, 2012, 12: 1470–1474
- 14 Dillon S J, Chen X. Temperature control in environmental cells for TEM. In: Ross F M, ed. *Liquid Cell Electron Microscopy*. Cambridge: Cambridge University Press, 2016
- 15 Chen X, Zhou L H, Wang P, et al. A study of nano materials and their reactions in liquid using *in situ* wet cell TEM technology. *Chin J Chem*, 2012, 30: 2839–2843
- 16 Chen X, Wen J G. *In situ* wet-cell TEM observation of gold nanoparticle motion in an aqueous solution. *Nanoscale Res Lett*, 2012, 7: 598
- 17 Zhu G M, Jiang Y Y, Huang W, et al. Atomic resolution liquid-cell transmission electron microscopy investigations of the dynamics of nanoparticles in ultrathin liquids. *Chem Commun*, 2013, 49: 10944–10946
- 18 Jiang Y Y, Zhu G M, Lin F, et al. *In situ* study of oxidative etching of palladium nanocrystals by liquid cell TEM. *Nano Lett*, 2014, 14: 3761–3765
- 19 Cao H L, Miao X L, Zhu M Q, et al. Ultrasonic synthesis of Au/AgCl hybrid cubes and their evolution under electron beam irradiation. *Nano Brief Rep Rev*, 2015, 10: 1550086
- 20 Zheng H M, Smith R K, Jun Y W, et al. Observation of single colloidal platinum nanocrystal growth trajectories. *Science*, 2009, 324: 1309–1312
- 21 Chen X, Zhou L H, Wang P, et al. Effects associated with nanostructure fabrication using *in situ* liquid cell TEM technology. *Nano Micro Lett*, 2015, 7: 385–391
- 22 Liu Y, Chen X, Noh K, et al. Electron beam induced deposition of silicon nanostructures from a liquid phase precursor. *Nanotechnology*, 2012, 23: 385302
- 23 Chen X, Zhou L H, Wang P, et al. A study of electron beam induced deposition and nano device fabrication using liquid cell TEM technology. *Chin J Chem*, 2014, 32: 399–404
- 24 Noh K W, Sun L, Chen X, et al. *In situ* TEM characterization of electrochemical systems. *Microsc Microanal*, 2011, 17: 1572–1573
- 25 Wang C M, Xu W, Liu J, et al. *In situ* transmission electron microscopy observation of microstructure and phase evolution in a SnO_2 nanowire during lithium intercalation. *Nano Lett*, 2011, 11: 1874–1880
- 26 Gu M, Parent L R, Mehdi B L, et al. Demonstration of an electrochemical liquid cell for operando transmission electron microscopy observation of the lithiation/delithiation behavior of Si nanowire battery anodes. *Nano Lett*, 2013, 13: 6106–6112
- 27 de Jonge N, Ross F M. Electron microscopy of specimens in liquid. *Nat Nanotechnol*, 2011, 6: 695–704
- 28 Wang Y B, Chen X, Cao H L, et al. A structural study of *Escherichia coli* cells using an *in situ* liquid chamber TEM technology. *J Anal Methods Chem*, 2015: 829302
- 29 Kim J S, Lagrange T, Reed B W, et al. Imaging of transient structures using nanosecond *in situ* TEM. *Science*, 2008, 321: 1472–1475
- 30 Evans J E, Browning N D. Enabling direct nanoscale observations of biological reactions with dynamic TEM. *Microscopy*, 2013, 1: 147–156

Summary for “原位液体室透射电子显微镜技术的发展及应用”

The development and applications of *in situ* liquid chamber TEM technologies

CHEN Xin^{1,2*}, LI Chang¹ & KE Kai¹

¹ Shanghai Key Laboratory of Advanced Polymeric Materials, Key Laboratory for Ultrafine Materials of Ministry of Education, School of Materials Science and Engineering, East China University of Science and Technology, Shanghai 200237, China;

² State Key Laboratory of Functional Materials for Informatics, Shanghai Institute of Microsystem and Information Technology, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200050, China

* Corresponding author, E-mail: xinchen73@ecust.edu.cn

Transmission electron microscopy (TEM), with the high spatial and temporal resolution, is widely used in nano material characterizations. Due to the vacuum compatibility issue, traditional TEM is mostly used for solid and dry samples. The progress of nano science involves a wide range of liquid environments, and the development of *in situ* liquid chamber TEM technologies has made it possible for real time dynamic analysis on samples in liquid environments, with nanometer scale imaging resolutions, and greatly expanded the application ranges of TEM. This field has now brought much attention internationally, and is currently growing with a very rapid speed.

In this paper, we review the progress about *in situ* liquid chamber TEM that our group has participated in and/or carried out in the recent years. It includes the development of the *in situ* liquid chamber TEM experiment apparatus, and its applications in the fields of nano-material preparations and characterizations, electrochemical reaction processes, new energy materials and devices, and life sciences. At last, the future development trend of *in situ* liquid chamber TEM is prospected.

Firstly, some *in situ* liquid chamber TEM experiment apparatuses have been developed. These *in situ* chambers are home-made, based on metal cages and O-ring seals, which allow silicon nitride window substrates to be quickly assembled together, with liquid samples sealed inside. Besides simple imaging, electrochemical and heating-cooling functions have been incorporated into the setups, allowing for more advanced analyses.

Using these *in situ* TEM apparatus, several nano material and reaction systems have been monitored. A silver particle aqueous solution sample has been characterized. The particles were observed to be about 5–18 nm, attached to the Si₃N₄ windows, and could not be able to move freely in the liquid. Fine structures within single particles could be clearly seen. Bubbles commonly exist in an *in situ* liquid chamber, which are important for effectively reducing the local liquid layer thickness and enhancing the imaging resolution. In Au particle aqueous solution sample, particle and particle cluster motions have been further observed. The results show that particles in a cluster gradually fused together with time. For Au/AgCl composite nanocube sample, more dramatic electron beam effect has been seen, and the nanocubes were transformed quickly into hollow structures.

By means of a liquid phase electron beam induced deposition (LP-EBID) approach, Si and SiC_x nano structures have been made with *in situ* liquid chamber TEM. Nano dots, nano lines and three-dimensional nano structures can be controllably made by adjusting the electron beam exposure conditions. Secondary electron effects are attributed to the nano structural growth mechanism.

Choosing Ni/NiCl₂ system, both electrochemical deposition and etching of the nickel nano films have been observed by applying electric biases of different polarities to the nickel electrodes in the *in situ* chamber. Instead of extensional growth on existing crystals, it is more commonly observed that new nickel nano particles grow out in front of the existing film first and then merge into the film. During electrochemical etching, holes form in the Ni films due to Rayleigh instability.

The structures of *E. coli* cells in aqueous solutions have been studied. Most of the cells remain intact under the electron beam irradiation, Pili motions have been observed in the TEM imaging. Fluorescent imaging data confirm that the cells can keep alive after long time electron beam irradiation during the experiment.

In situ liquid chamber TEM has opened up a new way for conducting research in nano science, new energy materials and devices, life sciences, involving liquid environments. In the future, it is expected that advanced functions of the *in situ* liquid chamber TEM will be further developed, and the application scope will be further expanded.

***in situ* liquid chamber TEM, nanomaterials, irradiation induced deposition, electrochemistry, lithium ion batteries**

doi: 10.1360/N972016-01029