

专题: 兰州大学物理系 (学院) 建立 80 周年

冷冻透射电子显微镜技术在物理与材料领域的应用*

张泽林^{1)2)#} 普睿^{1)2)#} 康东元^{1)2)#} 易斯洋^{1)2)#} 徐宋毅¹⁾²⁾
武山权^{1)2)†} 雷东升^{1)2)3)4)‡}

1) (兰州大学物理科学与技术学院, 兰州大学电镜中心, 兰州 730000)

2) (兰州大学, 磁学与磁功能材料教育部重点实验室, 兰州 730000)

3) (兰州大学动物医学与生物安全学院, 动物疫病防控全国重点实验室, 兰州 730000)

4) (江苏省人兽共患病学重点实验室 (扬州大学), 扬州 225009)

(2026 年 5 月 11 日收到; 2026 年 6 月 8 日收到修改稿)

冷冻透射电子显微镜 (cryogenic transmission electron microscopy, cryo-TEM) 通过快速玻璃化冷冻技术, 可将样品固定在近原生状态, 并在低温下实现高分辨成像, 从而有效抑制或避免真空干燥、电子束辐照等过程造成的结构损伤. 凭借这一优势, cryo-TEM 不仅在生物、医学等传统领域得到了广泛的应用, 近年来更是在物理、材料、化学、大气等多个学科的结构表征与机理研究中取得了颇多进展. 本文在对 cryo-TEM 技术路线简要介绍的基础上, 聚焦其在物理与材料领域的应用进展展开综述, 依次讨论了其在电子束敏感材料的保护机制与结构解析、空气敏感材料的无氧制样与界面分析、时间分辨 cryo-TEM 的方法学及其在成核和相变研究中的应用、低温环境下功能材料的原位观测, 以及与谱学、衍射和理论计算等技术联用的最新进展. 希望本文能够为 cryo-TEM 在物理与材料领域的更广泛应用提供参考.

关键词: 冷冻透射电子显微镜, 电子束敏感材料, 空气敏感材料, 时间分辨, 低温物理性质

DOI: 10.7498/aps.75.20260668

CSTR: 32037.14.aps.75.20260668

1 引言

透射电子显微镜 (transmission electron microscopy, TEM) 是材料科学与凝聚态物理中获取原子尺度结构信息的核心工具. 借助高能电子与样品的相互作用, 常规 TEM 可实现晶体结构、缺陷与组分的表征. 然而, TEM 在表征敏感体系时存在诸多局限, 包括电子束引发辐解、原子撞离和局部温升, 以及高真空环境下含水或含溶剂样品脱溶

剂导致结构塌陷^[1-3]. 例如锂、钠、钾等碱金属、金属有机框架 (metal-organic frameworks, MOFs)、共价有机框架 (covalent-organic frameworks, COFs)、卤化物钙钛矿、固态电解质界面 (solid-electrolyte interphase, SEI), 以及水凝胶等体系, 在低电子剂量下即会出现有序性丧失或局部相变与分解^[2,4,5], 使得常规 TEM 难以表征其本征结构.

冷冻透射电子显微镜技术 (cryogenic transmission electron microscopy, cryo-TEM) 为上述问题提供了有效解决路径. 该技术通过快速玻璃化

* 国家自然科学基金 (批准号: 32171300) 和江苏省人兽共患病学重点实验室项目 (批准号: R2405) 资助的课题.

同等贡献作者.

† 通信作者. E-mail: wushq2021@lzu.edu.cn

‡ 通信作者. E-mail: leids@lzu.edu.cn

冷冻将样品原位固定,在低温下完成转移与成像,有效抑制了辐照产生的自由基、空位和间隙原子的扩散,阻断了损伤的链式传递过程,大幅提升敏感体系的结构稳定性^[3,5].因此该技术可同时抑制辐照损伤、热效应结构弛豫与真空干燥形变,实现对原生结构的高分辨表征^[1,3,4],其应用领域已从结构生物学逐渐扩展至物理、材料、化学、大气等多个学科,成为表征敏感体系与动态过程的关键手段之一^[6-12].

目前, cryo-TEM 在物理与材料领域的主要研究方向,根据研究对象和体系的不同可分为: 1) 针对电子束敏感材料,实现 MOFs、COFs、有机晶体与钙钛矿的本征结构解析^[2,13]; 2) 针对空气敏感材料,结合样品的无氧低温转移,观测碱金属沉积与电极/电解质界面的真实结构^[14-17]; 3) 引入时间分辨策略,在秒至微秒尺度捕获成核、相变与界面演化等动态过程^[18-20]; 4) 依托低温原位环境,研究铁电相变、超导畴结构与合金低温变形等低温物理行为^[21-24].上述应用过程中, cryo-TEM 逐渐与电子能量损失谱 (electron energy-loss spectroscopy, EELS)、X 射线能谱 (energy-dispersive X-ray spectroscopy, EDS) 等表征技术联用与融合,实现了研究对象形貌、晶体取向、应变、化学信息等多维度信息的同步获取^[14,25-27],拓展了传统结构表征方案的应用范围.

Cryo-TEM 在物理与材料领域的研究实践包含两类不同的技术路线,二者在制样方式、转移路径和科学目标上存在显著差异.一类以快速玻璃化冷冻为核心,旨在保持样品的近原生状态并抑制辐照损伤;另一类依靠侧插式低温样品杆或低温原位样品台对已制备的固态薄片进行原位冷却,以低温为实验变量研究材料的低温物理性质.本文首先对这两类技术路线进行方法学区分,并在此基础上依次介绍 cryo-TEM 在电子束敏感材料、空气敏感材料、时间分辨结构演化、低温物理性质的研究进展,并概述其与谱学、衍射、原位等技术的前沿交叉应用.希望本文能够为 cryo-TEM 更广泛的应用提供参考.

2 Cryo-TEM 技术

对 cryo-TEM 不同技术路线的了解与系统区分,有助于准确理解不同研究中 cryo-TEM 所使用的具体实验方法与适用边界^[28,29].两类主流的技术

路线虽均在低温下成像,但在样品类型、制样策略、转移流程和核心科学目标上存在本质差异.

第 1 类是基于快速玻璃化冷冻的 cryo-TEM 路线.其核心在于通过超快降温使含液相样品中的水或溶剂转变为非晶玻璃态,从而在近原生状态下固定结构.典型操作流程为:将样品溶液滴加至 TEM 载网,用滤纸吸去多余液体形成薄液膜后,快速投入液态乙烷或乙烷-丙烷混合物中实现玻璃化 (plunge freezing),随后全程在液氮温度 (~ 90 K) 下完成转移、保存与低剂量成像^[5].在此过程中,样品避免了冰晶生成和真空干燥引发的结构塌陷.根据样品厚度和体系的不同,衍生技术包括用于制备电子透明薄片的冷冻聚焦离子束 (cryogenic focused ion beam, cryo-FIB) 技术、三维成像的冷冻电子断层扫描 (cryo-electron tomography, cryo-ET) 和结构解析的冷冻三维电子衍射 (cryo-three-dimensional electron diffraction, cryo-3DED) 等^[30-32].该路线的科学目标是最大限度地保存样品在溶液环境中的近原生结构并抑制电子束辐照损伤,适用于 MOFs、COFs、有机晶体、卤化物钙钛矿、水凝胶、含液相电池界面以及需要捕获瞬态中间体的时间分辨研究^[1-3].其主要技术局限包括冷冻速率不足时可能形成冰晶伪影,溶质在冷冻过程中可发生浓度极化或相分离,非晶冰背景引入额外噪声,以及低剂量条件下成像信噪比较低^[33].

第 2 类是基于侧插式低温样品杆或低温原位样品台的低温 TEM 路线.与快速玻璃化路线不同,并非通过超快冷冻来固定近原生含水状态,而是在常温条件下将预先制备好的固态 TEM 样品 (如电解抛光薄片、离子减薄样品或 FIB 薄片) 借助侧插式冷冻杆或液氮冷却台在电镜内冷却至液氮温区 (~ 90 K) 乃至液氢温区 (< 10 K),实现低温观察并降低晶格热振动、抑制辐照损伤或诱发低温相变^[21-23].此外,配合变温调控,可在宽温区内连续观测铁电畴壁的演化、电荷密度波 (charge density wave, CDW) 相变、超导涡旋态和拓扑磁结构 (如斯格明子晶格) 等低温量子现象^[21,23,34,35].该路线的核心科学目标是以低温作为实验变量来研究材料本征的低温物理性质,而非保存含水样品的近原生结构.其主要技术挑战包括低温下样品的热漂移与机械不稳定性、束流局部加热导致的实际温度偏差,以及低温样品台在长时间实验中的污染积累^[36].

表 1 两类 cryo-TEM 技术路线的对比
Table 1. Comparison of two cryo-TEM technical routes.

对比项	快速玻璃化cryo-TEM	侧插式低温样品杆
样品类型	含液相溶液、分散液、可悬浮颗粒	固态样品(薄片或颗粒)
制样与进样	快速投入冷冻(plunge freezing)或高压冷冻, 目标为非晶玻璃态; 全程液氮温度转移	固态样品在手套箱中装载或常规减薄后 安装至冷冻杆; 电镜内冷却
核心科学目标	保存近原生含水结构, 抑制辐照和真空损伤	空气敏感材料: 保护近原生化学状态, 抑制氧化与水解; 低温物性研究: 以低温为实验变量研究相变与物性
典型应用体系	MOFs、COFs、钙钛矿、软物质、瞬态中间体	锂/钠/钾金属及SEI/CEI、固态电解质界面; 铁电畴壁演化、超导/磁畴、CDW相变
主要技术挑战	玻璃化不完全、冰污染、低剂量信噪比低	转移过程中空气/冰污染、样品漂移、 温度标定偏差、局部束流升温

两类技术路线在样品类型、制样方式、转移路径、成像温度和科学目标上的差异, 总结于表 1 和图 1. 需要说明的是, 上述分类旨在提供方法学概念框架, 实际应用中两类路线并非截然分离. 以锂金属和 SEI 为代表的空气敏感材料研究, 采用手套箱内的无氧操作配合冷冻转移杆进行低温成像, 其制样对象主要为固态样品, 不涉及含液相的玻璃化固定. 此类工作在制样路径上与第 1 类路线不同, 属于第 2 类路线中无氧冷冻转移方法的应用^[14,37]; 而部分低温原位研究也可与快速冷冻制样相结合. 后文将电子束敏感材料(第 3 节)和时间分辨演化(第 5 节)归入第 1 类路线的研究范畴; 将空气敏感材料(第 4 节)、低温下功能材料(第 6 节)归入第 2 类路线的研究范畴. 相关技术局限将在相应章节予以说明.

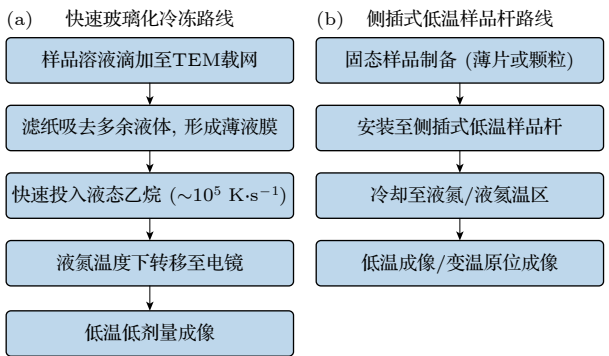


图 1 Cryo-TEM 两类主要技术路线的示意对比 (a) 快速玻璃化冷冻路线; (b) 侧插式低温样品杆路线
Fig. 1. Schematic comparison of two major cryo-TEM technical routes: (a) Vitrification-based cryo-TEM route; (b) side-entry cryo-holder route.

3 电子束敏感材料的结构表征

MOFs、COFs、有机晶体、卤化物钙钛矿和凝胶态固态电解质界面等材料在能源存储、催化转化

和软物质科学中占有重要地位^[1,2,28]. 本节所讨论的工作均以快速玻璃化冷冻为核心制样手段, 属于第 1 类技术路线. 这些材料对电子束高度敏感, 若使用常规 TEM 进行结构表征, 高能电子束将在极短时间内对其造成不可逆的结构损伤, 以至难以获得这些材料的本征结构信息^[38]. 这一问题的物理根源是电子束与样品之间 4 种损伤效应的叠加: 碰撞损伤^[3]、辐解损伤^[38]、热效应、干燥脱水损伤^[2].

Cryo-TEM 凭借玻璃化冷冻技术, 以毫秒级冷却速率将溶剂转为非晶冰, 避免样品脱水、冰晶生成与体积形变, 可真实且完整的保留研究对象在溶液中的结构特征, 消除干燥诱导的结构损伤^[39]. 与此同时, 液氮保护下的低温表征 (~90 —110 K), 不仅可以迅速耗散电子束能量, 控制局部温升, 有效抑制热效应^[40], 而且可降低自由基扩散速率与反应能垒, 阻断辐解链式反应. 此外, 配套的低剂量成像技术与具备高量子检测效率的直接电子探测器 (direct electron detector, DED), 进一步完善了 cryo-TEM 在超低剂量下维持高信噪比的需要. 因此, cryo-TEM 技术可有效避免或减少辐解损伤、热效应、干燥脱水损伤, 大幅提升材料耐受电子束的临界剂量^[29], 使其可在保持样品含水、低温、低剂量的条件下, 精准表征材料的本征结构, 现已成为电子辐照敏感体系结构研究的重要手段之一^[39,41]. MOFs 是辐照敏感材料的典型代表. 其骨架含有大量有机配体和溶剂分子, 在电子束下极易发生辐解和孔道塌陷. Li 等^[13]利用 cryo-TEM 技术解析了多种 MOFs 材料的原子级表面结构, 首次在单个纳米颗粒的原子尺度下直观揭示了框架与客体分子之间的相互作用模式. 他们通过超快玻璃化冷冻固定样品的本征状态, 结合低剂量成像策略, 有效抑制电子束辐照造成的骨架降解与真空环境引发的孔道塌陷, 成功清晰地表征了 MOFs

内部孔道的形貌、尺寸分布以及客体分子在孔道内的空间排布与结合位点. Wu 等^[42]将 cryo-TEM 与图像反卷积算法相结合, 针对 ZIF-8 这类高敏感 MOFs 开展结构解析研究, 在超低电子剂量条件下获得高质量的高分辨图像, 成功确定了 ZIF-8 的精确晶体结构. Xin 等^[32]发展了 cryo-3DED 方法, 将 cryo-TEM 技术与三维电子衍射数据采集相结合, 通过低剂量、快采集模式最大限度减少束流损伤, 在最大限度保持晶体骨架与孔道结构完整性的前提下, 实现了低温下气体分子在 MOF 孔道中吸附位置的原位捕获与精准解析, 明确了气体分子的占位与配位环境, 为理解 MOF 的气体吸附机制提供了直接的原子级结构证据. Chen 等^[43]采用 cryo-TEM 结合微晶电子衍射技术 (microcrystal electron diffraction, MicroED), 聚焦水诱导转化的 ZnMOF-1 体系中的不稳定中间相开展原子级结构解析研究, 依托低温冷冻水合制样与低剂量电子衍射条件有效规避中间相在常规真空环境下的结构失稳, 成功解析了 MOF 水解的关键中间态 ZnMOF-inter 的晶体结构, 明晰了水分子逐步配位至金属中心直至骨架崩塌的水解路径机制, 弥补了传统衍射方法难以表征溶液中不稳定 MOF 瞬态中间相的技术短板, 为理解水敏感 MOF 的水解

稳定性与水诱导结构演化机制提供了结构依据, 见图 2(a). 综上, cryo-TEM 已实现 MOFs 材料原子排布、晶粒形貌、表面缺陷、孔道拓扑及客体分子吸附行为的多尺度一体化表征, 为多孔框架材料微观结构精准解析、构效关系构建及功能化结构设计优化奠定了重要的技术与理论支撑.

COFs 及有机晶体依靠分子间非共价相互作用维系长程有序结构, 这类材料在电子束辐照与真空脱水的双重作用下极易发生结构失稳. Sun 等^[44]借助冷冻电子衍射断层扫描技术 (cryo-electron diffraction tomography, cryo-EDT), 以亚微米级 COF-300 单晶为研究对象, 从原子水平揭示了三维 COF 的动态结构响应行为. 利用低温环境抑制电子束辐解与真空脱水引发的有机组分损失, 成功获得了分辨率优于 0.9 Å 的电子衍射数据, 定位了 COF-300 无客体相框架上所有非氢原子的空间位置, 并观测到水吸附诱导的晶格收缩、离子液体/聚合物吸附诱导的晶格膨胀等客体依赖的动态构象转变特征, 阐明了主-客体间非共价相互作用对框架动态响应行为的调控机制. Li 等^[26]利用改良型冷冻连续旋转电子衍射 (cryo-continuous rotation electron diffraction, cryo-cRED) 技术, 对多晶 COFs 开展从头原子结构解析, 在冷冻保护条

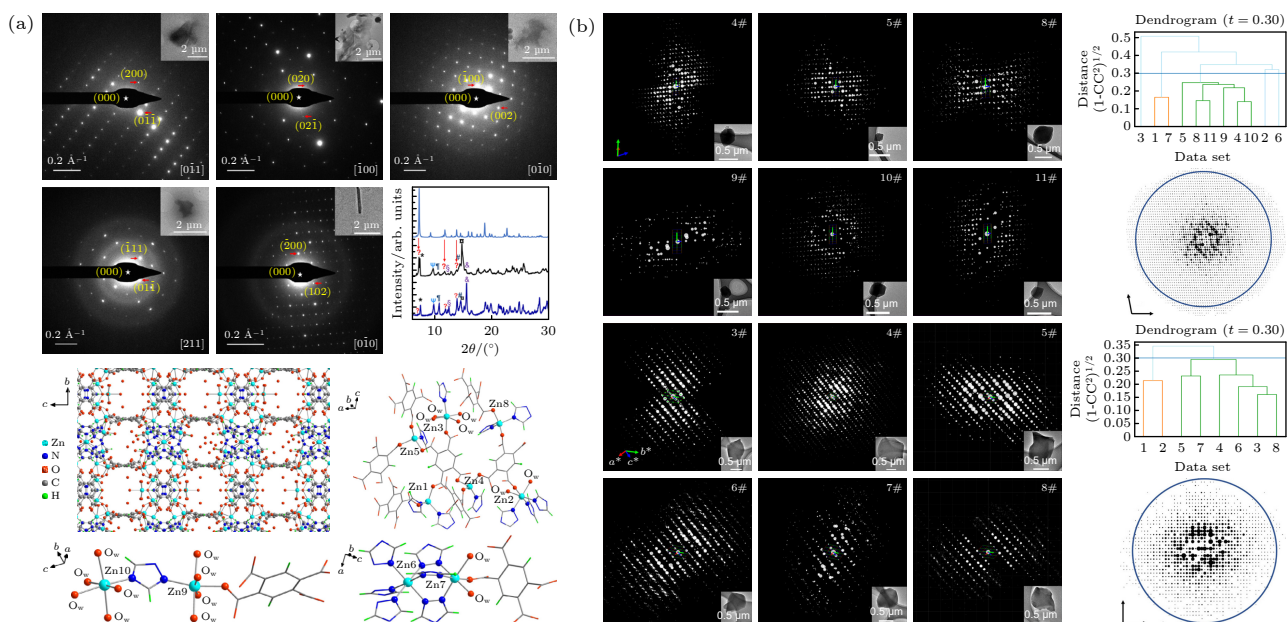


图 2 Cryo-3DED 解析 COFs 和 MOFs 的原子级结构 (a) Zr-MOF 材料的晶体结构, 揭示了其骨架原子排布、孔道拓扑及配位水分子的空间分布特征^[43]; (b) 电子束敏感三维 COFs 的结构解析, 展示了数据筛选与处理过程^[26]

Fig. 2. Atomic-level structure determination of COFs and MOFs by cryo-3D electron diffraction: (a) Crystal structure of Zr-MOF materials, revealing the framework atomic arrangement, pore topology, and spatial distribution characteristics of coordinated water molecules^[43]; (b) structure elucidation of electron beam-sensitive 3D COFs, showing the workflow of data screening and processing^[26].

件下获得分辨率高达 0.79 Å 的原子级结构, 精准表征了多晶 COF 的孔道拓扑构型、骨架连接方式及精细微观结构特征, 推动了多晶 COFs 高分辨结构解析技术的发展, 见图 2(b). 上述研究充分表明, cryo-TEM 技术与三维电子衍射等联用, 可有效解决 COF 及有机晶体对电子束、真空环境敏感表征难题, 实现从静态原子结构到动态构象演化、从重原子骨架到氢原子精细位点的全方位解析, 是非共价型晶态框架材料本征结构表征的重要技术手段之一.

卤化物钙钛矿的有机阳离子和卤素离子在电子束下极易迁移和挥发. Li 等^[45]通过 cryo-TEM, 在原子分辨率下对极端敏感的有机-无机杂化卤化物钙钛矿 MAPbI₃ 进行成像. 该研究测定了低温下 MAPbI₃ 在高分辨透射电子显微镜 (high-resolution transmission electron microscopy, HRTEM) 成像模式下的临界电子剂量 $12 \text{ e}^- \cdot \text{Å}^{-2}$ (1.49 Å 分辨率). 同时, 借助低温保护成功捕捉到传统 XRD 难以表征的纳米尺度降解行为, 包括短时紫外光照后 MAPbI₃ 纳米线表面析出 PbI₂ 纳米颗粒、空气暴露 10 s 后出现的表面粗糙化等现象, 为从原子层面揭示钙钛矿降解路径提供了结构支撑. Fan 等^[46]将冷冻制样方法与冷冻扫描透射电镜技术 (cryogenic scanning transmission electron microscopy, cryo-STEM) 相结合, 聚焦混合卤化物钙钛矿的光照诱导结构演化过程开展研究. 通过迅速冷冻受光照射样品以锁定瞬态离子分布, 结合四维扫描透射电子显微镜 (four-dimensional scanning transmission electron microscopy, 4D-STEM) 与 EELS, 有效捕获了光激发下钙钛矿内部的瞬时结构演变特征, 直接观测到 I 从晶界向晶粒中心迁移的动态过程. 研究发现, 相分离过程在单个晶粒内具有明显的异质性演化特征, 伴随着各向异性应变的积累, 从微观尺度阐明了混合卤化物钙钛矿光照衰减与结构劣化的内在机制, 见图 3(a). Zhu 等^[47]采用 cryo-TEM, 在约 100 K 低温条件下对有机-无机杂化钙钛矿 CH₃NH₃PbI₃ (MAPbI₃) 进行原子级直接表征. EELS 分析证实其有机组分 CH₃CH₃⁺ 在 cryo-TEM 分析过程中得以完整保留, 验证了 cryo-TEM 对该类高度敏感材料的有效保护能力. 基于该低温保护方案, 研究人员成功观测到 MAPbI₃ 晶格中高密度的堆垛层错 (stacking faults) 及表面原子台阶结构, 测得材料临界成像剂量为 70—100 $\text{e}^- \cdot \text{Å}^{-2}$,

为甲铵铅碘钙钛矿的本征缺陷构型与结构稳定性研究提供了直接的原子尺度证据. 现阶段, cryo-TEM 已发展成为解析钙钛矿微观结构、揭示降解内在机理的核心表征手段之一, 可为光电器件性能优化与功能提升提供关键的结构依据^[48].

水凝胶及各类软物质材料的微观网络形貌高度依赖溶剂分子支撑, 常规干燥处理与电子束辐照均会造成严重的结构畸变与失真. Kochovski 等^[49]将 cryo-TEM 技术应用于聚离子液体自组装纳米颗粒与蛋白质超分子结构的表征研究中, 利用 cryo-TEM 的低温玻璃化制样策略, 有效规避了传统制样过程中的干燥与染色步骤对聚离子液体纳米颗粒形貌及组装聚集态造成的结构干扰, 同时实现了蛋白质超分子组装体在溶液环境中接近天然状态的高保真原位成像, 清晰分辨多级组装单元的空间排布方式. 该工作为从微观形貌层面阐释聚离子液体纳米颗粒的成型机理, 以及借助冷冻单颗粒分析技术获取人造蛋白微管的高分辨率三维结构提供了直观的结构表征依据. Sonani 等^[50]将 cryo-TEM 应用于超分子凝胶的原子级结构解析, 以二肽 CarbIF 形成的管状胶束为模型体系, 成功获得了近原子分辨率的组装结构, 揭示了分子堆积模式与凝胶化机理. 研究指出, 传统干燥样品电子显微镜及光谱学等方法难以提供真实可靠的原子模型, 而 cryo-TEM 可规避干燥引发的结构畸变, 为关联凝胶微观结构与宏观性能 (如力学行为、物质传输等) 奠定了原子尺度的结构基础, 见图 3(b). Song 等^[51]利用 cryo-TEM 与全原子分子动力学模拟相结合的策略, 对二硫化物水凝胶的自组装过程进行了分子层面解析. 研究者以 cryo-TEM 测定的纤维直径 (5.4 nm) 作为结构约束, 结合全原子模拟, 揭示了凝胶因子 CSSC 采用开放构象、氢键为稳定纤维的关键作用力, 并发现 70% 转化率下的分子间相互作用强度优于完全转化状态. 该工作为活性水凝胶的可控组装设计提供了基于结构与模拟的协同方法. Zhang 等^[52]针对高分子材料在冷冻电镜成像中易受辐照损伤的问题, 提出利用抗坏血酸钠作为自由基清除剂, 显著提升了胶原纤维、纤维素等高羟基高分子的抗电子辐照能力, 为软物质体系的高分辨成像提供了新的技术策略. Cryo-TEM 技术的普及应用, 使软物质微观结构研究由传统间接推演表征, 迈入了原位直接观测的新阶段.

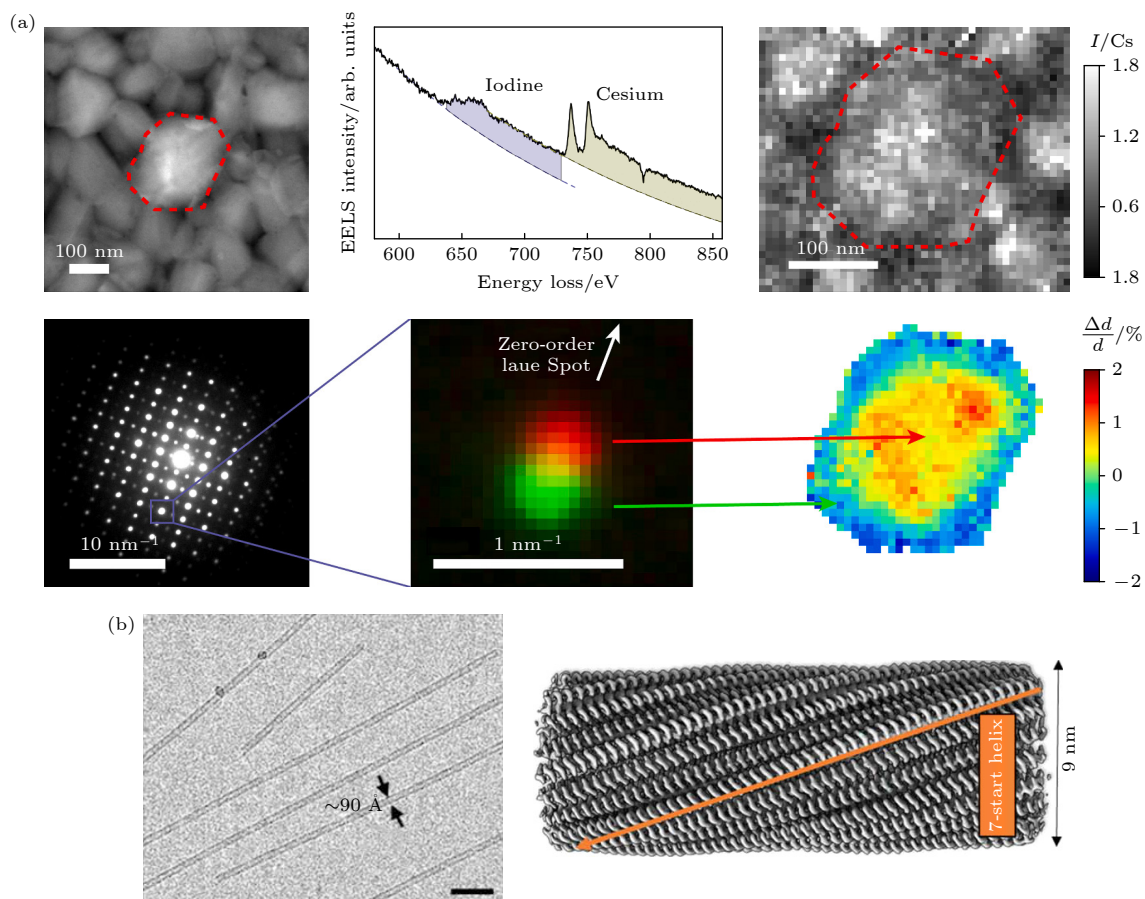


图3 Cryo-TEM表征钙钛矿与软物质的微观结构演化 (a) 光激发混合卤化物钙钛矿的形貌、元素分布与晶格应变, 揭示了光照诱导的结构演化行为^[46]; (b) CarbIF自组装胶束, 左为形貌显微图像, 标尺为50 nm, 右为三维重构的七股螺旋组装模型^[50]

Fig. 3. Microstructural evolution of perovskites and soft materials characterized by cryo-TEM: (a) Morphology, elemental distribution and lattice strain of photoexcited mixed halide perovskites, revealing the light-induced structural evolution behavior^[46]; (b) CarbIF self-assembled micelles. The left panel shows the morphological micrograph, scale bar is 50 nm, the right presents the seven-stranded helical assembly model via three-dimensional reconstruction^[50].

Cryo-TEM 凭借玻璃化制样与低温保护的独特优势, 已在 MOFs、卤化物钙钛矿、COFs、有机晶体和水凝胶等电子束敏感体系中, 实现了微观形貌、原子排布、表面缺陷、孔道拓扑和主客体相互作用的多尺度精细表征。然而, 该技术仍存在诸多局限: 玻璃化冷冻对复杂样品适配性有限, 高黏度、团聚性样品易出现制样不均与轻微结构形变, 重复性有待提升; 非晶冰背景噪声及低温成像的样品台漂移, 会降低图像信噪比与结构解析精度。同时, 超低剂量成像难以兼顾结构完整性与高分辨表征需求, 对多组分复合材料的界面识别、定量分析能力不足, 原位动态外场表征体系尚不完善。尽管存在上述挑战, cryo-TEM 仍是当前解析辐照敏感材料本征结构与动态演化行为的核心表征工具, 能够为能源存储、吸附分离、催化转化、软物质科学等领域的功能材料设计与性能优化, 提供关键的微

观结构依据。

4 空气敏感材料的结构表征

锂、钠、钾等碱金属, 镁、钙等碱土或多价金属, 以及锂金属电池中的固体电解质界面 (solid electrolyte interphase, SEI) 和正极电解质界面 (cathode electrolyte interphase, CEI), 是能源材料领域的重要研究对象。这类材料通常具有较高的化学活性, 暴露于空气容易发生氧化、水解、碳酸盐化、氮化、界面重构或相变, 导致样品在表征前就已经结构变质。同时, 这些材料也具有明显的电子束敏感性, 在常规 TEM 表征过程中可能发生辐照分解、局部加热、轻元素迁移、挥发组分损失或结构非晶化。因此, 这些材料结构的可靠表征, 需要同时解决空气暴露和电子束损伤问题。

Cryo-TEM 为解决上述问题提供了重要手段. 与常规电镜相比, cryo-TEM 并不是简单地降低样品温度, 而是通过快速冷冻、无空气转移、低温保存、低剂量成像等技术流程, 尽量减少环境暴露和电子束辐照对样品结构的影响^[28,33]. 对于空气敏感材料而言, cryo-TEM 的低温和无空气转移能够减少样品与水氧接触, 避免锂金属、钠金属、硫化物固态电解质等材料在制样和转移过程中快速变质, 并可通过低温条件与低电子束损伤, 使得在接近原始状态下观察锂金属、SEI、有机/无机复合界面和金属氢化物等材料的结构成为可能. 此外, 快速冷冻能够捕获某些短寿命中间态或非平衡界面状态, 使研究对象从静态最终产物扩展到形成过程和失效机制^[4,53,54]. 因此, cryo-TEM 已成为传统 X 射线衍射、X 射线光电子能谱、拉曼光谱、核磁共振等表征手段的重要补充. 从制样方法看, 本节主要采用无氧环境下的样品制备、冷冻转移和低温低剂量成像, 在方法学上属于第 2 类技术路线.

锂金属是 cryo-TEM 在空气敏感材料领域中最具代表性的研究对象之一. Li 等^[14]将 cryo-TEM 用于敏感电池材料和界面研究, 发展了无空气暴露的冷冻转移流程, 并在低温低剂量条件下观察到锂金属及其 SEI 的原子尺度结构. 研究表明, 常规 TEM 难以保持锂金属和 SEI 的原始状态, 而冷冻保护能够显著提高锂金属及其界面表征的可靠性. 这一工作为后续锂金属沉积、SEI 结构解析和电池界面研究奠定了方法基础. Wang 等^[37]进一步利用 cryo-TEM 研究电化学沉积锂及其 SEI 的结构, 发现不同电解液体系下沉积锂和 SEI 的纳米结构存在明显差异. 在常规电解液中, SEI 往往表现为无机纳米晶分散在非晶有机基体中的马赛克结构; 而在含氟添加剂或高浓度电解液中, SEI 的无机组分比例和空间分布会发生变化. 该类研究说明, cryo-TEM 不仅能够观察锂金属形貌, 还能够将电解液组成、SEI 纳米结构和锂沉积稳定性联系起来, 为电解液设计和界面调控提供直接结构依据. Yuan 等^[55]通过超快速沉积策略实现了锂金属沉积与 SEI 形成过程的解耦, 并借助 cryo-TEM 观察到锂金属的本征沉积形貌为菱形十二面体. 在常规条件下, 锂沉积与 SEI 形成几乎同时发生, 难以判断枝晶、纤维状、柱状或块状形貌究竟源于锂金属本征晶体生长, 还是由电解液分解和 SEI 诱导. 该研究通过使锂离子还原速率超过 SEI 形成速率,

揭示了更接近锂金属本征的沉积形貌, 并进一步提出脉冲电流策略, 将菱形十二面体锂作为成核种子以促进后续致密锂沉积. 这说明 cryo-TEM 不仅能用于解释结构, 也能反向指导电化学调控策略. 近年来, cryo-TEM 还被用于运行状态下电化学界面的捕获. Han 等^[56]利用 cryo-TEM 研究钠金属 SEI, 见图 4(a), 揭示了不同电解液和添加剂对钠金属界面层结构与循环稳定性的影响. Liu 等^[57]结合 cryo-TEM 多尺度成像与建模研究钾金属/基底相互作用对枝晶生长的影响, 指出基底亲钾性会显著影响钾沉积致密性和枝晶形貌. 综上, cryo-TEM 技术突破了传统电镜表征的局限性, 有效解决了碱金属负极及界面易氧化、易损伤、难以原位观测的难题. 为碱金属电池电解液优化、界面工程改性、沉积行为调控等提供了坚实的结构支撑. 除上述基于无氧冷冻转移的第 2 类技术路线外, 部分工作采用了第 1 类技术路线来捕获电化学界面瞬态. 例如, Wang 等^[58]提出 electrified cryo-TEM 方法, 将薄型电化学装置在持续外加电压的工作状态下快速投入冷冻介质, 从而捕获运行中的非平衡电化学界面. 该方法通过不同时间点的冷冻快照分析 SEI 早期生长动力学, 见图 4(b), 发现不同电解液中 SEI 在扩散限制阶段的传输性质接近, 而反应限制阶段的生长速率差异明显. 这一结果提示, 高性能电解液的优势不一定只来自提高离子扩散能力, 也可能来自降低界面反应活性. 该方法为研究动态电化学界面提供了重要方向. 除锂金属外, 钠和钾等碱金属同样容易在空气中氧化, 适合采用 cryo-TEM 研究.

SEI 是金属负极稳定性的关键界面, 但也是最难准确表征的对象之一. 传统 X 射线光电子能谱 (X-ray photoelectron spectroscopy, XPS)、和核磁共振波谱 (nuclear magnetic resonance spectroscopy, NMR) 等技术能够提供平均化学组成, 却难以直接揭示纳米尺度下晶体/非晶结构、局部异质性和三维形貌. 利用 cryo-TEM 原位固定 SEI 结构并在实空间直接观察, 研究人员实现了对 SEI 厚度、结晶相、孔隙结构和空间分布等重要结构特征的分析. Huang 等^[59]利用 cryo-TEM 观察碳基负极表面 SEI 的形成与演化, 发现 SEI 并非均匀覆盖层, 而是包含不同结构区域和异质组分. 随后, Huang 等^[60]进一步利用 cryo-TEM 研究 SEI 中氟化物在纳米尺度上的分布差异, 指出 SEI 内部存在

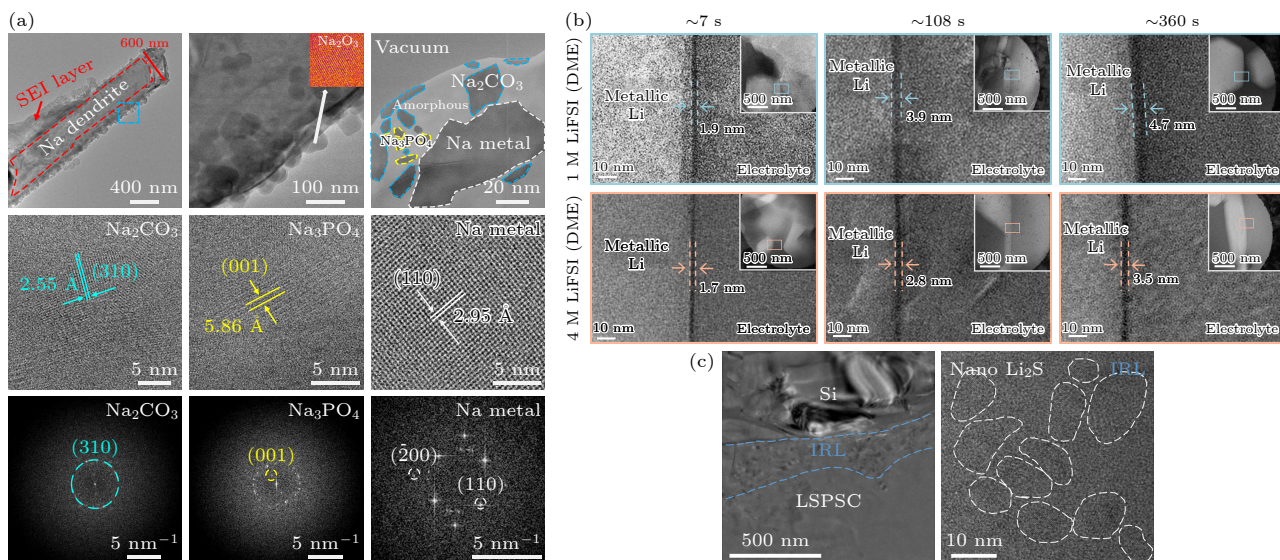


图4 Cryo-TEM观测空气敏感材料的代表性案例 (a) 钠金属枝晶和SEI的cryo-TEM表征^[56]; (b) 1 mol/L LiFSI/DME与4 mol/L LiFSI/DME电解液中沉积锂的电触发cryo-TEM表征^[58]; (c) Si/LSPSC界面的cryo-TEM表征^[30]

Fig. 4. Representative cases of cryo-TEM observations of air-sensitive materials: (a) Cryo-TEM characterization of sodium metal dendrites and SEI^[56]; (b) electro-triggered cryo-TEM characterization of deposited lithium in 1 mol/L LiFSI/DME and 4 mol/L LiFSI/DME electrolytes^[58]; (c) cryo-TEM characterization of the Si/LSPSC interface^[30].

显著氟化物异质性. 这说明, SEI的功能不仅需要考虑平均组分, 还必须考虑组分在空间上的分布方式. Jurng等^[61]利用cryo-TEM研究不同电解液对锂金属SEI纳米结构和电化学性能的影响, 说明电解液组成能够显著改变SEI的厚度、致密性和晶体相分布. Han等^[62]利用cryo-TEM研究锂金属负极三维界面结构, 发现锂剥离后SEI框架可在一定程度上保留下来, 并可能在后续沉积中引导新锂在原有网络中重新生长. 这说明SEI不是简单二维薄膜, 而可能是具有柔性、孔隙和重复利用能力的三维框架, 有助于解释堆压、人工界面和电解液组成对锂金属循环效率的影响. 除了负极SEI, 研究人员对正极CEI也开展了cryo-TEM研究. Zhang等^[63]利用cryo-TEM观察锂电池正极电解质界面, 发现CEI在正极表面并不一定形成连续均匀薄膜, 而可能呈现不均匀分布的表面产物. CEI的连续性、组成和局部结构会影响电解液持续氧化、过渡金属溶出、晶格氧释放和正极表面结构相变. 因此, cryo-TEM对CEI的直接观察有助于避免将电池性能差异简单归因于“界面层厚或薄”, 而是进一步分析其均匀性、致密性和化学稳定性.

全固态电池能够兼具高能量密度和高安全性, 而固-固电极界面的稳定性问题, 仍是制约其性能提升的核心瓶颈. 硫化物、卤化物及氧化物等主流固态电解质普遍存在空气敏感性, 极易发生水解、

氧化和表面污染; 同时, 这类电解质与锂金属、硅负极接触后, 还会发生化学或电化学还原分解^[64-66], 因此cryo-TEM表征非常适合全固态电池的结构研究. Cheng等^[67]利用cryo-TEM研究锂金属与LiPON固态电解质之间的界面, 揭示了Li/LiPON界面处稳定SEI的纳米结构特征. 已有研究发现LiPON电解质对锂金属有良好的界面稳定性, 但其稳定性的微观结构来源并不清楚. Cryo-TEM观察显示, 该界面具有多层马赛克式结构和元素浓度梯度, 有助于解释LiPON对锂金属的稳定作用. Dai等^[68]将cryo-TEM用于石榴石型固态电解质基固态电池界面的原子尺度结构研究, 揭示了富LiF界面层与锂金属和石榴石电解质之间的紧密接触关系. 该界面层有助于均匀锂离子传输并抑制锂枝晶生长. 该研究说明, cryo-TEM不仅能减少束流损伤, 还能帮助理解人工界面层如何调控锂沉积行为. Yao等^[30]利用cryo-FIB和cryo-TEM研究硅负极/硫化物固态电解质界面失效机制, 比较了Si/Li₁₀Si_{0.3}PS_{6.7}Cl_{1.8}和Si/Li₁₀GeP₂S₁₂类界面, 见图4(c). 研究发现, 前者形成较薄且稳定的界面层, 纳米晶分散在非晶基体中; 后者则形成厚达微米尺度的反应层, 主要包含针状和其他反应产物. 更重要的是, 该研究指出容量衰减并不主要来自界面阻抗升高, 而是持续界面反应不断消耗正极活性锂源. 这一结论丰富了固态电池失效主要来自高界面

阻抗的简单理解, 说明 cryo-TEM 能够为固态电池失效机制提供更具体的结构证据.

除锂、钠、钾等单价碱金属外, 镁、钙等多价金属负极也逐渐受到关注. 镁、钙金属具有资源丰富、理论体积容量高和潜在安全优势, 但其电极/电解液界面更加复杂. 与锂金属不同, 镁、钙金属表面形成的钝化层往往阻碍 Mg^{2+} 或 Ca^{2+} 迁移, 导致沉积/剥离可逆性不足. 因此, 解析多价金属负极界面的真实组成和形貌, 是发展镁、钙金属电池的重要基础^[69]. Yang 等^[70] 利用 cryo-TEM 研究镁金属电池中的本征镁沉积形貌, 揭示了镁沉积结构与表面界面状态之间的关系. 这一研究说明金属沉积形貌并非完全由金属本征晶体结构决定, 还受到电解液分解、界面膜形成和传质条件共同影响. 对于钙金属体系, Lin 等^[71] 研究了钙金属负极的动态界面化学, 指出界面层组成和演化对可逆钙沉积具有关键影响. 虽然这类研究不一定全部以 cryo-TEM 为核心手段, 但其强调了多价金属界面表征的重要性, 也为 cryo-TEM 进一步进入镁、钙等空气敏感金属体系提供了应用背景.

金属氢化物和氢敏感金属体系是空气敏感材料中较特殊的一类. 钛、锆、镁基储氢材料以及部分高强合金在吸氢、放氢或腐蚀环境中可能形成氢化物相, 这些氢化物会影响储氢性能、氢脆行为和力学稳定性. 对于这类材料, 表征难点不只在于空气氧化, 还在于制样过程可能引入氢或诱导氢扩散, 从而形成氢化物伪影. Chang 等^[72] 以纯钛和钛合金为例, 证明常规制样可能导致氢吸收和氢化物形成, 而 cryo-FIB 制样能够显著降低样品制备引起的氢污染和氢化物伪影. 因此, 在金属氢化物研究中, cryo-TEM 和冷冻 FIB 的关键价值更多体现在防止制样伪影和保持氢相关结构分布上. 相比锂金属和 SEI 研究, 金属氢化物方向的 cryo-TEM 应用仍相对有限, 但在储氢材料、氢脆机理和环境敏感合金研究中具有较大发展空间.

综上, cryo-TEM 为空气敏感材料研究提供了接近原始状态的高分辨表征方法, 为沉积形貌、晶体结构、玻璃态中间体、枝晶界面、三维框架、局部化学组成、固固界面内部真实结构等的研究提供了有力支撑. 但需要指出的是, 空气敏感材料的冷冻制样流程复杂, 对手套箱、冷冻转移杆、cryo-FIB 和低温样品台的配合要求较高, 操作过程中仍可能出现冰污染、空气泄漏、溶剂残留或结构扰动, 而

冷冻固定本身也可能引入伪影, 例如冷冻过程中电解液局部浓缩改变界面状态. 此外, 低剂量成像虽然可以降低束流损伤, 但也会降低信噪比, 给轻元素识别、非晶相分析和谱学定量带来困难. 因此, cryo-TEM 结果需要与电化学测试、XPS、NMR、同步辐射表征、理论计算和多尺度模拟等研究方法相互印证.

5 结构演化的时间分辨表征

物质在非平衡态下的结构演化, 例如成核初期的原子聚集、电化学界面的形成、矿物结晶中的相选择, 以及软物质的自组装路径, 决定了其最终结构与性能. 对这些演化过程的深入了解, 需要有能够捕获瞬态构型的实验手段. 本节所讨论的时间分辨 cryo-TEM 方法属于第 1 类技术路线, 即通过快速玻璃化冷冻将不同反应时刻的瞬态构型固定, 随后进行低温低剂量成像^[4,5]. 基于这一原理, 研究者发展了多类将时间变量引入 cryo-TEM 实验的方法, 实现从秒到天量级的时间窗口内, 追踪研究对象的结构演化.

根据引入时间变量的方式, 现有方法主要分为 3 类. 1) 离线取样冷冻, 在反应启动后按预设时间点取样并快速冷冻, 以获得不同时刻的结构信息, 代表性工作包括矿物成核^[73,74] 和金属电沉积^[15]. 2) 将反应触发与冷冻操作在同一装置内进行, 尽量压缩两者的时间间隔, 目前电化学触发^[27,75]、微流控混合^[5,20] 和光触发^[76,77] 等手段可将冷冻延迟控制在数毫秒至 ~ 1.5 s. 3) 电子束同时作为激励源与探针, 利用累积电子剂量等效替代反应时间, 实现结构演化过程的连续观测^[78-80].

在第 1 类方法中, 启动反应后在不同预设时间点取样并快速冷冻, 获得一系列时间序列快照. 这类方法的时间分辨率受取样操作速度制约, 通常为秒级, 适用于秒及更长时间尺度的反应. 其优势在于, 反应在冷冻时刻被中止后, 可在同一样品上综合使用电子衍射、cryo-ET 和谱学分析, 获取该时刻的完整结构信息.

矿物成核是这类方法最早应用的领域之一. 多个课题组对碳酸钙、磷酸钙、铁氧化物和沸石等体系进行了系统研究, 揭示出经由前驱体的多步晶化是矿物体系的重要生长路径. 碳酸钙体系的研究最为充分. Pouget 等^[73] 在反应数分钟至数十分钟

的多个时间点取样冷冻, 结合电子衍射和暗场成像, 捕捉了无定形碳酸钙 (amorphous calcium carbonate, ACC) 颗粒在模板上的演化过程: 6 min 时观察到 ACC 颗粒, 11 min 时 ACC 颗粒进一步增大, 45 min 时已出现晶态球霏石颗粒, 尺寸达数百纳米, 且球霏石可在单个 ACC 颗粒内多处同时成核, 与经典成核理论设想的单一位点图像不同. 磷酸钙体系展示了类似的级联路径. Habraken 等^[31] 结合时间序列取样与 cryo-ET 三维重构, 在从分钟到月的宽时间范围内追踪磷酸钙体系演化全过程, 揭示了预成核团簇、分支网络、球形结节、无定形纳米球和板状晶体的完整路径, 并指出脱水作用是驱动网络坍塌和致密化的关键因素见图 5(a)—(i). 沸石体系中也观测到了类似的经由前驱体颗粒聚集再内部晶化的现象. Kumar 等^[81] 对 MFI(mobil five) 型沸石在室温下进行老化追踪, 通过 cryo-TEM 和小角 X 射线散射发现无定形前驱体颗粒在老化过程中逐渐聚集, 并最终在其内部

形成晶态颗粒. 相比之下, Baumgartner 等^[82] 对磁铁矿的研究则揭示了另一类机制: 其结晶是由约 2 nm 的初级颗粒直接团聚并伴随脱水而实现, 过程中未经过大的无定形前驱体相. 这些工作共同表明, 矿物体系的结晶路径具有显著的多样性, 经典的单步成核模型不足以描述其复杂的物理过程^[5].

Cryo-TEM 技术也被用于纳米团簇自组装和金属电沉积的结构演化研究. Soltis 等^[83] 在加入阳离子后多个时间点取样冷冻, 追踪了 U60 纳米团簇的自组装过程. 二价阳离子诱导形成近球形中空黑莓结构, 尺寸随反应时间增大; 单价阳离子诱导形成尺寸更大的分形网络, K⁺体系的组装速率高于 Na⁺体系. 金属电沉积领域, Wang 等^[15] 系统研究了锂在铜载网上的电沉积过程. 发现在 0.5 mA/cm² 恒流条件下, 5 min 时的锂未呈现晶态特征, 10 min 时出现约 5 nm 小晶畴, 20 min 时晶畴扩展至 50 nm 以上. 反应分子动力学模拟揭示约 700 个锂原子是结晶的临界阈值. Yang 等^[70]

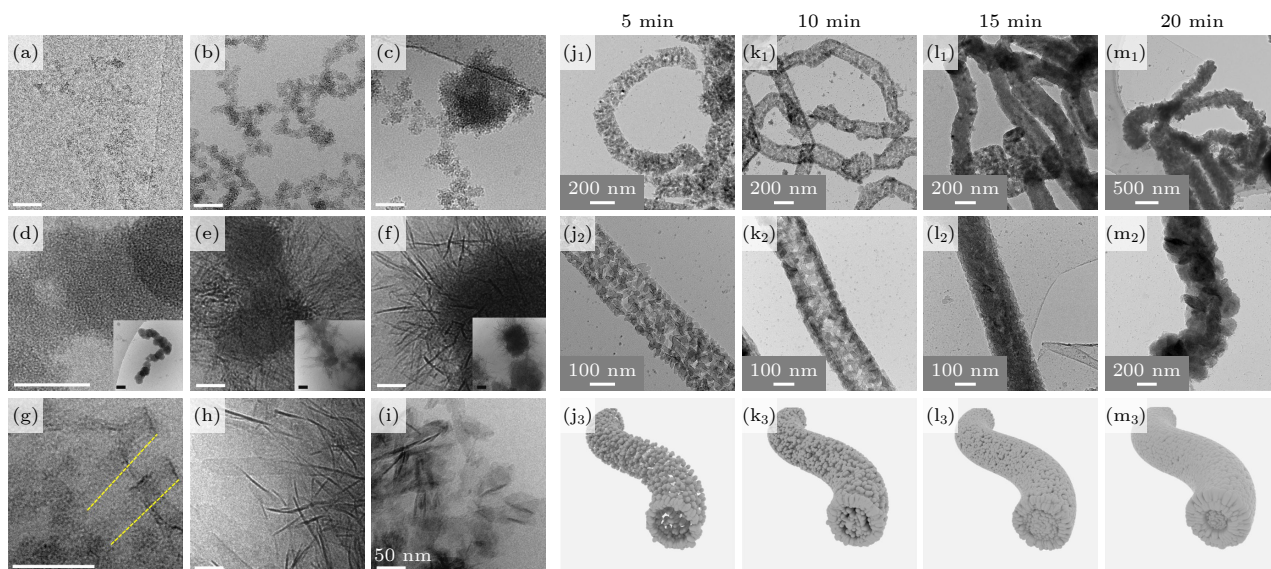


图 5 Cryo-TEM 观测材料结构随时间演化的代表性案例 (a)—(i) 磷酸钙成核与生长的级联路径^[31], (a) 纳米级单元形成的聚合物链 (<2 min); (b) 分支状聚合物组装体 (2—20 min); (c) 球形结节 (10—20 min); (d) 聚集态球体 (15—60 min); (e) 聚集态球体和带状结构 (60—80 min); (f) 带状结构 (80—110 min); (g) 聚合物聚集体的带状直接组装 (60—110 min); (h) 伸长板状结构 (>110 min); (i) 成熟的板状晶体 (1 个月); 标尺为 50 nm, 插图为低倍图像, 标尺为 100 nm. (j)—(m) 镁沉积的时间演化^[70], 其中 (j₁), (j₂) 沉积 5 min; (k₁), (k₂) 沉积 10 min; (l₁), (l₂) 沉积 15 min; (m₁), (m₂) 沉积 20 min; (j₃)—(m₃) 对应沉积阶段须状镁沉积物的生长示意; 电流密度为 0.5 mA/cm², 标尺为 200 nm

Fig. 5. Representative cryo-TEM observations of time-dependent structural evolution in materials. (a)–(i) Cascade pathway of CaP nucleation and growth^[31]: (a) polymeric strands from nanometre-sized units (<2 min); (b) branched polymeric assemblies (2–20 min); (c) nodules (10–20 min); (d) aggregated spheres (15–60 min); (e) aggregated spheres and ribbons (60–80 min); (f) ribbons (80–110 min); (g) direct assembly of ribbons from polymeric aggregates (60–110 min), lines denote alignment of complexes; (h) elongated plates (>110 min); (i) mature plates (1 month); Scale bars: 50 nm, insets are lower magnification images, scale bars are 100 nm. (j)–(m) time-resolved evolution of Mg deposition^[70]: (j₁), (j₂) 5 min deposition; (k₁), (k₂) 10 min deposition; (l₁), (l₂) 15 min deposition; (m₁), (m₂) 20 min deposition; (j₃)–(m₃) schematic illustrations of the whisker-shaped Mg deposits at the corresponding deposition stages; current density is 0.5 mA/cm², scale bars are 200 nm.

利用 cryo-TEM 对镁金属电池中镁沉积的时间演化进行了纳米尺度可视化研究. 在 0.5 mA/cm^2 条件下, 5 min 时沉积物呈细小须状, 10 min 时须状结构明显伸长, 15 min 时须状镁继续生长并出现分支, 20 min 时形成密集的须状网络, 见图 5(j)–(m).

在第 1 类方法的框架下, 也可通过光照触发反应, 并在预设时间点取样冷冻. Fan 等^[46]将 $\text{CsPb}(\text{Br}_{1-x}\text{I}_x)_3$ 薄膜在 0.4 W/cm^2 的 405 nm LED 光照不同时间后快速冷冻, 利用 cryo-STEM-EELS 及 4D-STEM 进行分析. 光照 5 min 后碘从晶界向晶粒中心迁移, 晶粒中心晶格膨胀超过 4%; 暗态静置 2 h 后碘分布恢复均匀, 表明光致相分离可逆. 该结果证实了相分离在运行条件下确实发生. 软物质体系中, Wu 等^[84]在反应 1 min, 6 h 和 1 个月 after 取样冷冻, 追踪了超分子凝胶的形貌演化: 1 min 时形成致密液滴, 6 h 出现缠绕的细纤维, 1 个月 after 完全转变为规整螺旋结构.

当反应本身快到秒甚至毫秒以内时, 第 1 类方法受取样操作速度制约已无法满足要求, 需要将反应触发与冷冻操作在同一装置内直接耦合. 电化学触发-耦合冷冻是应用最广的方案之一. 该方法在电化学反应进行中保持偏压, 将整个电化学池直接投入液态冷冻剂, 反应在冷冻瞬间被中止, 常规非原位制样中因弛豫过快而无法观测的中间态得以保存. Li 等^[27]在 CO_2 电还原运行 10 min 后保持偏压投入液态乙烷, 电流在约 5 ms 内降至检测限以下. cryo-STEM-EELS 在液固界面检测到厚度小于 1 nm 的 Cu^+ 层, 界面处实测 L_3 边位于 931.5 eV (Cu^+ 参考样品为 931.25 eV), 可区别于 Cu^0 和 Cu^{2+} . 上述信号在断电 1 min 后的对照样品中完全消失, 确认其来自亚稳态反应中间体而非人工产物. Dutta 等^[75]改造了被广泛使用的 Vitrobot Mark IV 冷冻制样机, 在电化学反应进行中直接将改良扣式电池投入液氮中冷冻. 从触发到样品完全浸入冷冻剂的转移时间平均为 $\sim 1.5 \text{ s}$. 该装置在锂-铜电池的电流沉积过程中不同时间点触发冷冻, 实现了瞬态捕获, 电池整体冷冻时间约 4.2 s. 结果显示, SEI 生长经历反应控制和扩散控制两个阶段, 两种化学组成不同的 SEI 在反应控制阶段增速相差约 3 倍, 指向降低初始界面反应活性而非改变扩散特性是提升库仑效率的关键.

微流控混合-喷雾法在两路反应液汇合后流经延时通道, 利用通道长度和流速共同决定反应时

间. Mäeots 等^[20]的装置以 β -半乳糖苷酶验证了混合效果, 从混合完成到样品玻璃化的最短时间约 30 ms. 为解决层流展宽问题, Torino 等^[85]提出了一种液滴微流控方案, 将反应液分割为独立液滴, 避免了同一个延时通道内的流速不均. 该方案的芯片停留时间 2–50 ms 可调, 最短反应时间可达 5 ms, 成功捕获了 GroEL 蛋白复合物中 GroEL-ATP 的短寿命构象态. Shaikh 等^[19]用类似装置在最短 9.4 ms 反应时间下捕捉了核糖体亚基组装过程.

在线耦合冷冻同样可利用光作为触发手段, 即光触发-耦合冷冻方法. 样品中预先加入被光敏基团暂时“锁住”的活性分子, 在紫外闪光下光敏基团脱落, 释放活性分子以启动反应, 随后样品在同一装置内被快速冷冻, 时间零点由光脉冲精确决定. Yoder 等^[76]利用该方法释放质子, 在约 70 ms 时间分辨率下驱动 cASIC1 α 蛋白从高 pH 静息态转变为低 pH 脱敏态. Romero 等^[77]开发的 C-SPAM 装置以脱铁铁蛋白进行了结构重建验证, 在快速模式下可实现 1–15 ms 的分辨率.

激光熔融-再玻璃化是目前时间分辨率最高的耦合冷冻方法. 聚焦激光脉冲将已冷冻的样品局部瞬时加热至液态, 反应在短暂存在的液态微环境中进行, 随后样品依靠周围低温环境重新玻璃化. Voss 等^[86]采用 $10 \mu\text{s}$ 激光脉冲以冷冻的脱铁铁蛋白样品进行演示实验, 验证了该方法将时间分辨率从毫秒级提高到微秒级的可行性, 较传统方法提高了约 3 个数量级. 在此基础上, Curtis 等^[87]将 50S 核糖体亚基密封于 SiO_2 膜之间, 采用 10 次 $30 \mu\text{s}$ 激光脉冲 (总辐照时间 $300 \mu\text{s}$) 进行温度跃迁实验, 通过将加热和冷却各控制在数微秒量级, 实现了数百微秒时间窗口内的构象变化追踪. 目前在材料体系中尚无应用报道.

电子束本身既可成像又可驱动反应, 提供了第 3 类将时间变量引入 cryo-TEM 实验的方式. 累积电子剂量等效替代反应时间, 结构演化与成像同步进行, 无须额外的触发或冷冻步骤. Schreiber 等^[78]利用 cryo-TEM 实时记录了 MnPFOM 分子在电子束辐照下的结晶过程: 在 Na^+ 环境中, 分子逐个附着形成晶核, 完整晶核形成约需累积剂量 $5000 \text{ e}^- \cdot \text{\AA}^{-2}$, 形成的二维晶核结构与单晶 X 射线衍射 (100) 晶面匹配; 在 Cs^+ 环境中, 分子先形成无定形聚集体后在其内部晶化, 仅需约 $1200 \text{ e}^- \cdot \text{\AA}^{-2}$.

两种路径所需剂量的差异与各自的成核路径特征相符. 高密度无定形冰在电子束作用下转变为低密度无定形冰, 转变由局部加热和束流诱导分子运动共同驱动^[79]. Cryo-STEM 断层扫描揭示了铁蛋白的两步结晶机制: 先形成低密度无定形集合体, 随后致密化与有序化同时且逐渐发生, 这一转变可在单个无定形聚集体内产生多个有序畴, 最终在集合体内部成核^[80]. 这些成果共同表明, 以电子束剂量为时间变量, 可以在多种体系中追踪结构从无序到有序的演化. 但需要指出, 电子束对材料的辐解与热扰动是需要考虑的因素, 辐照诱导演化路径与自然路径的等效性验证目前尚不充分, 且因体系而异.

上述 3 类将时间变量引入 cryo-TEM 实验的方法, 各自在可达到的时间精度、适用的反应时间范围、适用的材料体系、操作复杂度以及不确定性的来源等方面存在明显差异, 见表 2. 第 1 类方法操作简单, 可在同一时间点联合使用电子衍射、cryo-ET 和谱学分析, 获得完整结构信息, 但时间分辨率受手工取样速度制约, 无法处理亚秒级过程. 第 2 类方法压缩了反应与冷冻固定间的时间间隔与不确定性. 微流控混合-喷雾的最短反应时间约为 30 ms^[20], 液滴微流控方案可压缩至 5 ms^[85]. 电化学触发-耦合冷冻中, 液态乙烷的冷冻延迟约 5 ms^[27], 一体化装置的转移时间约 1.51 s^[75], 较传统拆解电池再冷冻压缩了 3 个数量级. 激光熔融-再玻璃化将时间分辨率推至微秒级, 但目前仅用于蛋白质体系, 对材料体系的适用性尚未验证. 第 3 类方法用累积剂量替代反应时间, 可实现实时连续观测, 但其向材料体系的推广应用目前仍受辐解与热扰动带来的路径不确定性的限制.

需要指出的是, 电子束驱动路径与自然反应路径的等效性在多数材料体系中尚未得到充分验证. Schreiber 等^[78]在 MnPFOM 结晶研究中观察到的两种路径虽与热力学成核势垒定性一致, 但该体系未设置无辐照对照实验, 无法直接判断电子束辐照是否改变了结晶路径的选择. 铁蛋白体系的电子束驱动结晶^[80]同样缺少与热诱导结晶的直接对比. 高密度无定形冰的电子束诱导相变虽已被报道^[79], 但其与纯热效应路径的定量比较尚未建立. 因此, 在将电子束驱动条件下获得的结构演化信息推广至自然反应路径时, 需审慎评估辐照本身对反应进程的潜在影响, 必要时结合非辐照条件下的独立实验或理论计算进行交叉验证.

Cryo-TEM 通过在不同时间点取样冷冻、将反应触发与冷冻直接耦合以及以累积电子剂量驱动反应等方式, 将时间变量引入材料结构表征, 覆盖了从天到微秒的时间窗口, 见表 2, 为理解材料非平衡态下的成核、相变、界面演化和自组装等过程提供了原子尺度的直接观测依据. 未来可将耦合冷冻从蛋白质体系向材料体系迁移, 并在电子束驱动研究中完善辐照诱导演化路径与自然路径的等效性验证.

6 低温环境下功能材料的原位观测

前几节中低温主要发挥保护作用, 维系材料的原生结构状态, 例如第 3 节利用低温抑制电子束辐照损伤, 第 4 节借助低温配合无氧转移避免化学变质, 第 5 节通过快速冷冻将瞬态构型固定下来. 本节所讨论的工作以低温作为核心实验变量, 在制样

表 2 Cryo-TEM 研究材料动态研究的时间尺度与实验方法
Table 2. Time scales and experimental methods for studying material dynamics by cryo-TEM.

将时间变量引入 cryo-TEM 的方式	可达到的时间精度	适用的反应时间范围	典型材料体系
离线取样冷冻	秒级(手工取样)	s—month	矿物成核 ^[31,73,81,82] 、U60 纳米团簇 ^[83] 、金属电沉积 ^[15,70] 、钙钛矿相分离 ^[46] 、超分子凝胶 ^[84]
微流控混合-喷雾	约 30 ms; 液滴微流控可达 5 ms	ms—s	β -半乳糖苷酶 ^[20] 、GroEL 蛋白 ^[85] 、核糖体亚基组装 ^[19]
电化学触发-耦合冷冻	约 5 ms(液态乙烷)、约 1.51 s(一体化装置转移时间)	ms—min	CO ₂ 电还原 Cu ⁺ 中间态 ^[27] 、SEI 动态 ^[75]
光触发-耦合冷冻	约 70 ms(辐照 25 ms+冷冻约 45 ms); 快速模式 1—15 ms	ms—s	cASIC1 α 蛋白 ^[76] 、脱铁铁蛋白 ^[77]
激光熔融-再玻璃化	激光脉宽 10 μ s; 300 μ s 观测窗口(10 次 30 μ s 脉冲累积)	μ s—ms	脱铁铁蛋白 ^[86] 、50S 核糖体亚基 ^[87]
电子束辐照驱动	剂量率因体系而异(例如 $\sim 45 \text{ e}^- \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{\AA}^{-2}$ 及 $\sim 0.1 \text{ e}^- \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{\AA}^{-2}$)	连续实时	MnPFOM 结晶 ^[78] 、无定形冰相变 ^[79] 、铁蛋白结晶 ^[80]

方法上主要属于第 2 类技术路线, 即基于侧插式低温样品杆或低温原位样品台的低温 TEM. 而低温还可作为核心实验变量, 通过调控温度诱发结构相变, 或使低温物理现象得以显现.

许多功能材料在低温环境下会发生结构相变, 影响其性能与稳定性^[88]. Cryo-TEM 依托液氮与液氦低温体系构建可控低温环境, 弥补了常规 TEM 的温度局限^[89], 实现纳米尺度下原位追踪低温相变全过程, 直观呈现相变演化路径与微观结构变化特征, 从而从微观层面阐释研究对象低温相变的内在机理, 是目前研究低温下材料结构相变的重要表征方法^[90].

在各类功能材料体系中, 铁电材料是低温结构相变研究的典型体系, 其自发极化强度随温度变化, 在不同温度区间形成不同铁电相, 各相具有特定的自发极化方向和畴壁类型. 常规表征多利用介电温谱或光学显微获取宏观介电响应与微米级畴形态, 无法在纳米尺度直接跟踪相变过程中的畴壁类型与取向演化. Tyukalova 等^[91]利用 MEMS 变温 cryo-TEM, 在 200—400 K 范围内连续观察了单晶 BaTiO₃ 的铁电畴随温度演化, 记录了四方相中 90°畴壁向 180°畴壁的转变、以及四方-正交相变附近畴壁类型的重新组织. Jiang 等^[21]进一步将温度范围拓展至 98—473 K, 在单次实验中覆盖了 BaTiO₃ 全部 4 个铁电相的畴结构演化. 降温过程中四方相以 90°畴壁为特征, 正交相出现 60°与 120°畴壁构成的锯齿形排列及 90°畴壁, 菱方相则呈现 71°, 109°和 180°畴壁. 升温过程中畴结构完全可逆恢复, 各相变均具有可逆性. 该工作将不同铁电相中观察到的畴壁取向与力学相容条件逐一对应, 为基于 TEM 图像直接判定畴壁类型提供了判据. 综上, 原位 cryo-TEM 通过连续变温条件下的畴结构成像, 建立了铁电材料晶相-畴壁类型-转变温度的对应关系, 为低温铁电相变的微观机制研究提供了实空间表征手段.

除铁电材料的低温相变行为外, cryo-TEM 也被用于电化学界面低温演化机制的研究. SEI 的离子输运特性是决定锂离子电池低温性能的核心因素. 电化学阻抗谱分析表明, Li⁺穿越 SEI 层的扩散是低温充放电的速率决定步骤, 其活化能直接反映界面的离子输运势垒^[22]. 低温不仅降低离子迁移速率, 更改变电解质分解路径, 使 SEI 的化学组分与微观结构发生本质改变, 进而影响离子输运效

率^[22,92]. Weng 等^[22]利用 cryo-TEM 对比了不同温度下 SEI 组分与界面阻抗的关系, 见图 6(a). 室温下, 3 种电解液体系的 SEI 均富含 Li₂O, Li₂CO₃, LiF 等无机组分; 随着温度降至 273.15 K, 各体系 SEI 中无机组分的含量与尺寸明显下降; 至 253.15 K 时, 多数体系 SEI 以有机产物为主, 无机组分大幅减少, 界面阻抗升至 1148—1466 Ω. 而 LiFSI-MTFA/FEC 体系在低温下仍可生成 LiF 与 Li₂O 并保持均匀分布, 界面阻抗仅为 179 Ω, 表现出最优的低温界面稳定性. Tao 等^[92]利用 cryo-TEM 进一步聚焦于富无机 SEI 中 LiF 的聚集态对离子输运的影响. 结果表明, LiF 以两种不同形态分布在 SEI 中. 当 LiF 以小尺寸纳米晶均匀分散时, SEI 整体较薄且结构疏松, Li⁺的扩散活化能仅为 35 kJ/mol; 当 LiF 以大尺寸晶粒聚集形成连续致密层时, SEI 显著增厚, 活化能升高至 42—55 kJ/mol. 该对比表明, 即使 SEI 的化学组分相似, LiF 的聚集形态直接决定界面的离子输运效率. 综上, cryo-TEM 在纳米尺度上建立了低温下 SEI 组分类型、成分分布与界面离子输运势垒之间的对应关系, 为低温电池的界面设计提供了结构依据.

依托低温成像能力, cryo-TEM 还可支撑超导、拓扑磁材料的低温微观机制研究. 超导与拓扑磁材料的低温性能与低温下的微观结构变化密切相关, 电荷密度波、拓扑自旋纹理、晶格重构等低温下形成的周期性结构, 直接决定超导电性与磁有序的形成^[23,34,93]. Cryo-TEM 可在液氦低温环境下实现原子尺度成像, 为这些低温周期性结构的实空间研究提供了直接手段^[23,35,93]. Yu 等^[23]利用低温透射电子显微镜的洛伦兹模式 (cryogenic lorentz transmission electron microscopy, cryo-LTEM) 在实空间直接观测到斯格明子晶体. 在 5 K 低温零场条件下, 自旋呈周期为 90 nm 的螺旋排列. 温度升高至 25 K 并施加 50 mT 外磁场后, 螺旋结构逐渐破碎并经历共存态, 最终转变为六方密排的二维斯格明子晶格. 完整的 *T-B* 相图表明, 斯格明子相的形成严格依赖于温度与磁场的协同作用, 其稳定温区在二维体系中较三维体系大幅拓宽, 根源在于自旋的维度约束改变了不同磁有序态之间的相对稳定性. Wang 等^[93]在液氦温区利用 cryo-LTEM 在实空间直接观测拓扑自旋织构, 尺度约为 100 nm. 该织构在 310 K 出现, 在 100 K 附近的电荷密度波相区间消失, 进入 50 K 以下的超导态后

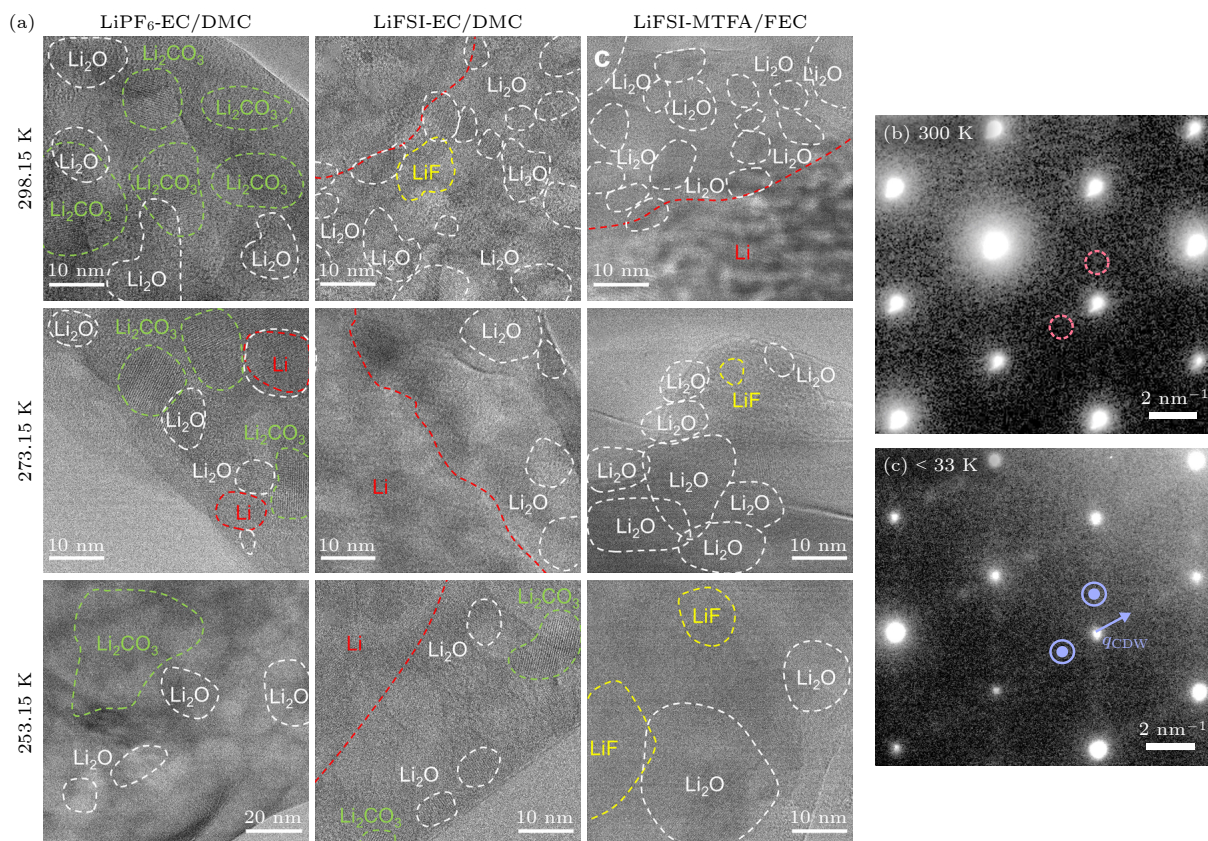


图6 Cryo-TEM观测低温物理性质的代表性案例 (a) 298.15、273.15和253.15 K条件下不同电解液体系中沉积的金属锂表面SEI的cryo-TEM图像^[22]; (b) 300 K下2H-NbSe₂的电子衍射图^[35]; (c) 温度低于33 K时2H-NbSe₂的电子衍射图^[35], 出现超晶格峰(蓝色圆圈), 表明具有3倍超胞的电荷密度波的出现, 1/3倒易晶格单位的波矢用蓝色箭头表示

Fig. 6. Representative cases of cryo-TEM observations of low-temperature physical properties: (a) Cryo-TEM images of the SEI formed on deposited lithium metal in different electrolyte systems at 298.15, 273.15, and 253.15 K^[22]; (b) electron diffraction pattern of 2H-NbSe₂ recorded at 300 K^[35]; (c) electron diffraction pattern of 2H-NbSe₂ recorded at temperatures below 33 K^[35], showing superlattice peaks (blue circles) indicating the emergence of a charge density wave with a tripled supercell, the wave vector of 1/3 reciprocal lattice units is indicated by the blue arrow.

重新出现. 外磁场超过 140 mT 时织构被完全抑制, 证实其磁性起源. 上述温度依赖的演化特征表明, 拓扑自旋织构与电荷密度波相互排斥, 与超导态可以共存. Sung 等^[34]在 23 K 超低温下对 2H-NbSe₂ 实现了原子分辨率成像, 平均漂移速率仅为 0.37 Å/s, 信息传递达 0.95 Å. 在此基础上, Rennich 等^[35]研发了新型液氮温区侧插式低温样品台, 并在约 31 K 液氮温区获得金 (Au) 的原子分辨率 TEM 图像, 证实该装置可实现原子级成像与优异低温稳定性; 在此基础上, 他们利用变温电子衍射表征 2H-NbSe₂, 在 300 K 时观测到六方晶格的布拉格衍射峰, 见图 6(b); 温度降至 33 K 以下后, 在 1/3 倒格矢处出现超结构衍射峰, 见图 6(c), 表明电荷密度波相变诱导了周期性晶格调制.

综上, cryo-TEM 是研究功能材料低温相变、电池界面及拓扑磁性微观机制的关键表征手段, 可

在纳米至原子尺度揭示材料低温下的结构演化规律. 但该技术仍存在多项技术瓶颈, 制约测试精度与应用范围. 低温高真空测试环境中, 镜筒残余水汽易在样品表面结冰造成冰污染, 不仅遮挡微观形貌、产生成像伪影, 额外应力还会诱发晶格畸变, 影响相变分析结果^[36]. 极低温条件下装置的热形变易引发样品漂移, 难以支撑长时间原位高分辨成像^[35]. 温度标定方面, 热电偶测温与样品实际温度存在明显偏差, 易造成临界相变温度数据失准^[94]. 同时低温腔体特殊结构与散射效应改变电子束传播路径, 无法实现常温与低温成像信号等效对比. 此外, 多场耦合加载会扰乱腔内温度场, 加剧电子束散射, 降低成像质量. 上述问题是现阶段限制 cryo-TEM 高精度原位表征的核心因素.

上述研究表明, cryo-TEM 在低温物理性质研究中已从结构表征手段延伸为相变机制的研究平

台. 铁电畴壁连续演化、低温界面组分分布的调控规律和拓扑自旋织构的稳定条件, 均依赖于 cryo-TEM 在低温下的原位高分辨成像能力. 虽然该套研究方案在成像稳定性、变温精度和多场耦合方面仍面临技术挑战, 但 cryo-TEM 将是连接低温物理现象与微观结构机制的重要实验手段.

7 Cryo-TEM 与多维度研究方法的联用

Cryo-TEM 凭借低温玻璃化制样优势, 可在不清洗、染色的条件下获取材料的纳米尺度形貌与原子尺度的结构信息. 然而, 单一 cryo-TEM 难以同步提供元素分布、界面反应机制、力学性质等多维度数据. 将其与谱学表征、多模显微成像、理论计算及数据分析方法联用, 可有效弥补单一表征的不足, 为复杂体系的多维度、跨尺度结构解析提供更为全面的实验支撑.

在化学信息获取方面, cryo-TEM 能够直接获取材料在近原生状态下的纳米形貌与界面结构, 但难以获得元素组成、化学态和分子环境等信息. 将其与 EELS, EDS, XPS 和 NMR 等谱学技术联用, 可从形貌、元素、化学键等多维度对同一样品区域进行表征, 已在电极界面、固态电解质、生物纳米组装体等研究中成为主要表征手段之一, 下文将分别展开介绍.

许多电极材料和电池界面 (如 SEI/CEI) 对空气、水汽和电子束高度敏感, 将 cryo-TEM 与 EELS 或 EDS 联用, 可在获取纳米形貌的同时分析局部元素组成. EELS 更适用于轻元素 (C, O, F 等) 化学价态与低能损激发的近场分析, 而 EDS 则在重元素识别及元素空间分布上更具优势. Zhang 等^[95]在抑制体相 Li-Si 合金化的浅充放电条件下, 利用低剂量 cryo-TEM 与 cryo-EELS, 系统解析了 FEC, ES 和 LiPO_2F_2 三种添加剂在硅负极表面诱导形成的 SEI 纳米结构与化学成分. 发现尽管 FEC 诱导的 SEI 最厚, 却表现出最优的长循环稳定性, 表明 SEI 的化学组成与纳米结构连续性对界面稳定性的影响超过了单纯的最小化厚度. Unabara 等^[96]发展了 cryo-EELS 结合三窗口法与图像漂移校正的低温元素成像方法, 在冷冻溶剂中实现了对 10 nm 二氧化硅纳米颗粒的硅元素成像, 并成功对蛋白包覆二氧化硅颗粒及羟基磷灰石颗粒进行硅、

碳、磷、钙等多元素的同步检测. He 等^[97]将 cryo-TEM, EDS 断层成像与化学力学模拟相结合, 在三维空间上直接观察到硅负极 SEI 向内部的渐进生长, 揭示了脱锂过程中空位凝聚形成的孔隙通道驱动电解液渗透和 SEI 向内扩展的机制, 阐明了 Si 与 SEI 从核壳结构向 “plum-pudding” 结构演变导致容量损失的规律.

此外, 在表面化学态和键合信息方面, XPS 因其对表面化学环境的灵敏度高且对样品损伤较低, 常与 cryo-TEM 联用, 以获取固体材料表面化学成分信息. Wang 等^[98]以 SiO_x/Gr 负极为研究对象, 将 cryo-TEM 与 XPS, DEMS, AFM 联用, 提出草酸锂预锂化与 CO_2 介导 SEI 重建的双功能策略, 证实 CO_2 穿梭至负极界面使 SEI 中无机相含量从 32% 提升至 58%, 抑制 SEI 厚度增长约 80% ($68 \rightarrow 110 \text{ nm}$ vs. $220 \rightarrow 558 \text{ nm}$), 将杨氏模量从 0.65 GPa 提升至 1.4 GPa, 使 100 次循环容量保持率从 52.12% 提升至 84.03%. Sun 等^[99]将 cryo-TEM 与 XPS 联用, 见图 7(a), 解析了钠金属负极在离子液体电解液中形成的 SEI. Cryo-TEM 确认 SEI 中存在 $\alpha\text{-Al}_2\text{O}_3$ 和 NaCl 纳米晶, STEM 元素面扫与 XPS 深度剖析相互印证了该 SEI 的多尺度结构特征. Gomez 等^[100]将 cryo-TEM 与 SSNMR, XPS, XRD, MALDI-MS 等方法联用, 系统表征了溶液法合成的块状 LiPON 固态电解质的无定形结构与化学组成, 提出了一种以 LiO^+Bu 和 DEPA 为前驱体在室温溶液中合成 LiPON 的新方法.

对于液态或半固态体系, NMR 可在近生理条件下原位区分分子的不同存在状态并进行定量分析, 与 cryo-TEM 在形貌观察方面的优势形成互补. Ueda 等^[101]将 cryo-TEM 与 ^1H NMR 联用, 观测到自乳化药物递送系统在脂质消化过程中油滴向囊泡的形貌转变, 同时 NMR 定量给出了油相降解产物分布, 据此阐释了药物过饱和的形成机制.

在成像技术方面, 传统 cryo-TEM 采用欠焦成像以增强衬度, 但衬度传递函数 (contrast transfer function, CTF) 在此条件下产生振荡和零交叉点, 导致部分频率信息丢失, 需要后续校正. 积分差分相位衬度扫描透射电子显微镜 (integrated differential phase contrast-STEM, iDPC-STEM) 在正焦条件下成像, CTF 在整个频率范围内连续且无零交叉点与衬度反转, 从根本上避免了信号振荡与信息丢失, 无需后续的 CTF 校正步骤. 因此

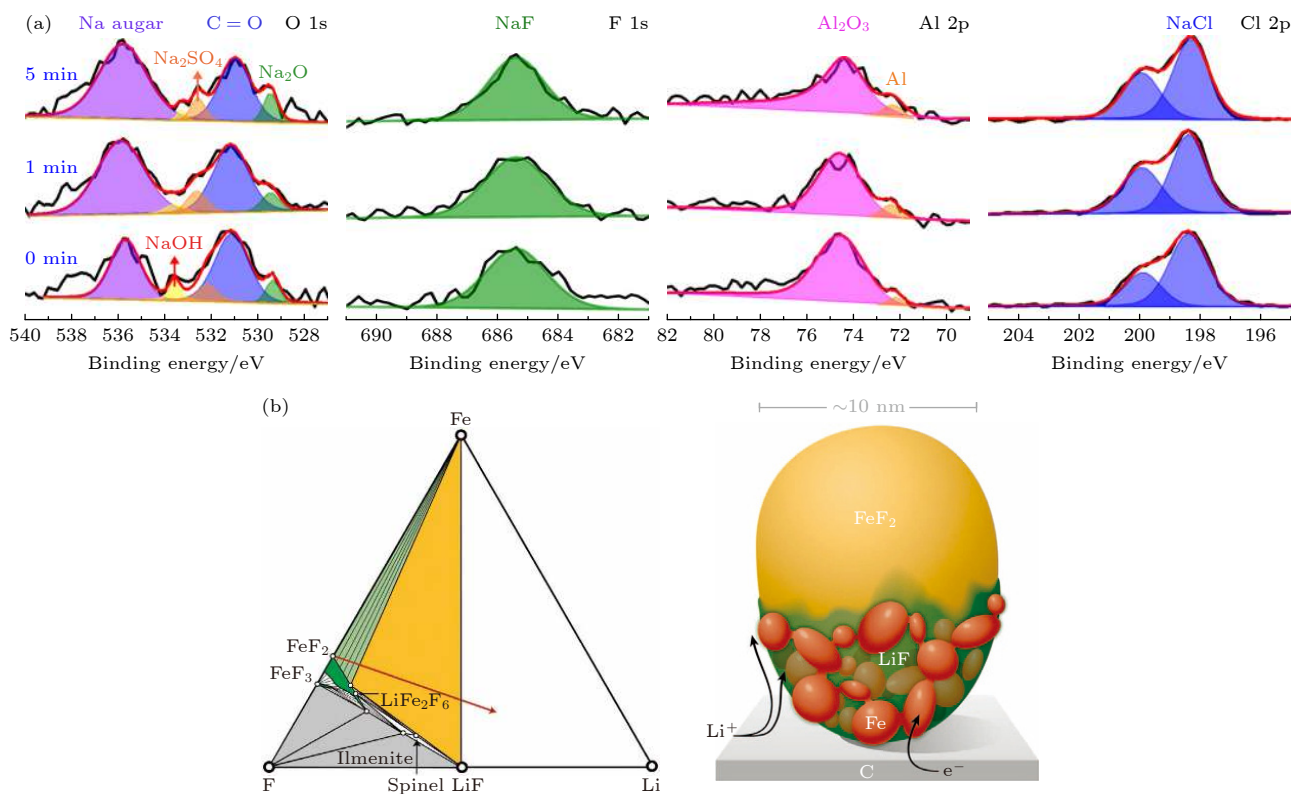
iDPC-STEM 可直接获得完整包含低频与高频信息, 更适用于厚样品、复杂细胞内环境以及轻重原子共存的辐照敏感样品的成像重构. Lazić 等^[102]以钥孔海螺血蓝蛋白 (6.5 Å) 和烟草花叶病毒 (3.5 Å) 为模型样品, 证明 iDPC-STEM 可用于对低剂量、辐射敏感的玻璃化生物样品进行近原子分辨率结构解析. 在材料领域, Yücelen 等^[103]利用 iDPC-STEM, 在 GaN 晶体 ([1011] 和 [1120] 取向) 中实现了轻元素 N 与重元素 Ga 的亚埃级 (63 pm) 同时成像, 解决了传统 cryo-TEM 轻元素对比度不足的问题, 同时借助 CTF 校正和强度定量分析, 验证了成像准确性.

此外, Cryo-TEM/ET 在玻璃化生物样品成像中另一个困难是目标定位. 样品在非晶冰中衬度极低, 寻找感兴趣区域往往需要通过低倍电子束搜索, 既低效又引入预辐照损伤. Sartori 等^[104]将 cryo-TEM/ET 与荧光光学显微镜 (fluorescence light microscope, FLM) 联用, 发展了冷冻关联显微成像方法. 该团队设计了一种专用的冷冻光镜样品台, 能够在液氮温度下对已玻璃化的荧光标记样品进行成像, 并将 FLM 获取的目标坐标传递至电镜. 该方法使样品的荧光筛选在冷冻光镜下完成, 大幅降低用于定位感兴趣区域的电子剂量, 减少了

预辐照损伤.

在力学性质表征方面, cryo-TEM 难以提供直接的力学性质与表面拓扑信息, 而 AFM 则可通过力-距离曲线测量颗粒的刚度与弹性, 通过高度剖面分析表面粗糙度与分子组装厚度, 恰好弥补了这一不足, 实现形貌与力学性能的同步表征. 基于此, Zhang 等^[105]以 SiO 基负极为研究对象, 将 cryo-TEM 与 AFM、拉曼光谱及 2D 建模仿真联用, 揭示了界面碳包覆网络的完整性通过促进 SEI 中 Li₂O 无机内层的形成与应力耗散, 线性降低了离子扩散激活能和电极残余应力, 从而提升了快充循环稳定性. Presutti 等^[106]以脂质 (DOPC/DOPG/DOPE) 与 PBD-b-PEO 嵌段共聚物为研究对象, 将 cryo-TEM 与 AFM, Langmuir-Blodgett 膜技术、电学测量及停流渗透性分析联用, 系统比较了两种分子量聚合物形成的杂化膜在膜厚、力学形变、单层压缩性与水/溶质渗透性上的差异, 发现 PBD₁₁-PEO₈ 杂化膜在保持与纯脂质膜相似物理性质的同时可承受更高的跨膜电势.

与理论计算模拟联用方面, cryo-TEM 与理论计算模拟联用, 能够将实验获得的形貌与结构信息, 与原子尺度的热力学、动力学计算相互补充, 从而在实验现象与理论机制之间建立联系. 根据所



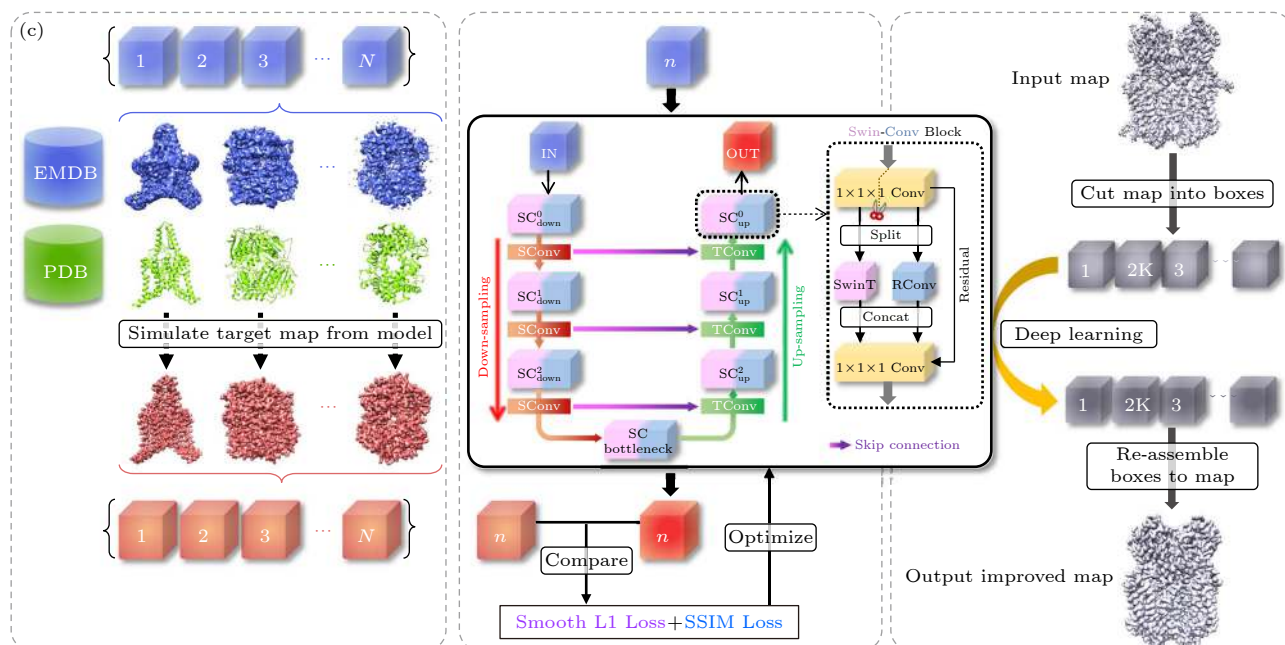


图7 Cryo-TEM联用的代表案例 (a) 钠金属负极在缓冲Na-Cl-IL电解液中循环后SEI的XPS深度剖析, 检测Na, F, Al, Cl元素的化学态^[99]; (b) 基于已知结构与候选结构的广泛第一性原理计算绘制的Fe-F-Li三元相图及反应前沿以“逐层”方式在单个颗粒内扩散的示意图, 以及电子与传输的可能路径^[111]; (c) EMReady的深度学习中处理框架, 包括从实验与模拟密度图中切取配对训练数据, 以局部与非局部联合损失训练SCUNet网络, 网络采用U-Net结构并以并行Swin Transformer与残差卷积作为基本单元, 以及逐盒推理后拼接为完整输出图的过程^[113]

Fig. 7. Representative cases of cryo-TEM combination: (a) XPS depth profiling of the SEI formed on a sodium metal anode after cycling in a buffered Na-Cl-IL electrolyte, showing the chemical states of Na, F, Al, and Cl elements^[99]; (b) Fe-F-Li ternary phase diagram constructed based on extensive first-principles calculations of known and candidate structures, along with a schematic illustration of reaction fronts propagating in a “layer-by-layer” manner within a single particle, as well as possible pathways for electrons and transport^[111]; (c) EMReady’s deep learning post-processing framework, including the extraction of paired training data from experimental and simulated density maps, training of a SCUNet network with a combination of local and non-local losses, where the network adopts a U-Net architecture with parallel Swin Transformer and residual convolution as basic building blocks, and the process of patch-wise inference followed by stitching into a complete output image^[113].

关注问题的空间尺度和物理内涵, 常用的计算方法包括DFT(density functional theory)、分子动力学模拟、相场模拟与数值建模仿真等. 其中, DFT计算能够从原子尺度揭示电化学反应的热力学与动力学信息, 与cryo-TEM的实验表征形成互补, 实现“实验结构-理论机制”的直接关联. Huang等^[107]将原位冷冻透射电镜与DFT计算结合, 实时观测单根SnO₂纳米线电极的电化学嵌锂过程, DFT计算揭示Li⁺在Li₂O中的迁移能垒与嵌锂体积膨胀, 与实验测得的反应前沿位移和形貌演变相互印证. Jabbari等^[108]借助cryo-TEM与DFT、从头算分子动力学(AIMD)模拟联用, 在锂金属与聚氧化乙烯电解质界面中原位构建高离子电导的稳定SEI层, DFT计算SEI中各晶粒间的晶界能量, 揭示不同无机纳米晶(Li₂O, LiF, Li₃N, Li₃P)与锂金属的界面稳定性差异. Alvarado等^[109]将cryo-TEM与DFT及力场分子动力学计算结合, 通过

模拟阴离子在正负极表面的分解路径与反应能量, 揭示双盐醚类电解质对锂沉积形貌、SEI组成与界面反应的调控机制. 分子动力学模拟能够在原子尺度再现电解质的溶剂化结构与离子聚集行为, 与cryo-TEM实验表征形成互补. Xie等^[110]将cryo-TEM, 4D-STEM与分子动力学模拟联用, 在低温条件下直接观测液态有机电解质中由高LiPF₆浓度诱导的液-液相分离, 结合深度学习对4D-STEM数据进行相分类, 并利用分子动力学模拟进一步揭示了高盐浓度区域中Li⁺-(PF₆⁻)_n ($n > 2$) 结构单元是短程有序形成的. 相场模拟与数值建模仿真可从反应动力学和传输行为角度补充实验观察, 与cryo-TEM表征形成互补. Wang等^[111]将原位TEM的STEM模式与EELS, DFT计算及相场模拟结合, 实时追踪FeF₂纳米颗粒中锂离子传输与电化学反应, 相场模拟重现了实验观察到的spinodal分解形貌, 完善了对电极转化反应机理的

理解, 见图 7(b).

近年来, 人工智能 (artificial intelligence, AI) 与深度学习技术的快速发展, 为 cryo-TEM 数据的高效处理、精准解析与智能设计提供了新的工具. 在图像后处理方面, Sanchez-Garcia 等^[112]利用基于 3D U-Net 卷积神经网络的 DeepEMhancer 对 cryo-TEM 三维密度图进行自动后处理, 改善了密度图的信噪比与结构细节; He 等^[113]提出 EMReady 框架, 采用三维 Swin-Conv-UNet 架构同时对密度图进行局部与非局部优化, 进一步提升了密度图的质量, 见图 7(c). 在定量分析与结构优化方面, Iwasawa 等^[114]将 cryo-TEM 与 AI 自动化成像及 Voronoi 分割分析结合, 直接可视化并定量比较了盐溶液中不同表面修饰二氧化硅纳米粒子的分散状态, 将 cryo-TEM 分析从定性观察推向定量表征; Chen 等^[115]则将 cryo-TEM 与卷积神经网络、有限元法、反向蒙特卡罗模拟及 Ablation-CAM 联用, 通过对 SEI 纳米结构图像的学习实现了对机械失效时间的预测, 并基于此优化了无机晶体颗粒在 SEI 中的分布, 为 SEI 的结构设计提供了计算指导.

综上, 通过与多种谱学、显微成像、力学测试、理论计算及数据分析方法的联用, cryo-TEM 的单一形貌表征被极大地拓展为多维度、跨尺度的综合解析能力. 具体而言, 与 EELS, EDS, XPS 及 NMR 的联用, 主要补充了元素分布、化学价态、分子环境及化学键合等关键化学信息, 实现了对材料成分与微观结构的同步锁定; 与 iDPC-STEM 及 FLM 的结合, 则重点解决了轻元素成像衬度不足以及低衬度目标精准定位的技术难题, 优化了成像质量与实验效率; 引入 AFM 技术填补了纳米尺度力学性能 (如刚度、弹性) 与表面拓扑结构直接表征的空白; 结合 DFT、分子动力学及相场模拟等理论计算, 将实验观测延伸至原子尺度的热力学稳定性、反应动力学路径及生长机制的阐释, 建立了实验与理论间的深层联系; 而借助人工智能与深度学习, 则显著提升了图像处理效率、结构解析的量化程度及性能预测能力. 这些联用策略相互协同, 共同构建了从微观形貌到宏观性能、从定性观察到定量计算的完整表征. 随着联用技术的不断发展与集成度的持续提升, cryo-TEM 多技术联用体系将进一步拓展应用边界, 在更多复杂体系的界面反应机制、非平衡态结构演化、生物大分子结构与功能

解析等研究领域发挥更加重要的作用.

8 总 结

近年来, cryo-TEM 的研究领域不断拓展, 并在物理和材料科学领域取得了系统性的应用与进展. 从方法学角度看, 基于快速玻璃化冷冻的 cryo-TEM 已在电子束敏感材料和时间分辨结构演化研究的近原生结构表征中展现出不可替代的优势; 基于侧插式低温样品杆或低温原位样品台的低温 TEM 则为空气敏感材料、铁电畴壁演化、超导态和拓扑自旋织构等低温物理现象提供了直接的实空间观测手段. 两者共同构成了物理与材料科学中低温电子显微学的方法论体系.

在电子束敏感材料方面, 利用低温快速固定与成像, 结合低剂量成像技术和直接电子探测相机, 可在保证图像质量的同时有效减小电子剂量, 最大限度降低结构损伤, 实现了 MOFs、钙钛矿、COFs 和软物质等体系从分子形貌到孔道拓扑、主客体相互作用的真实表征. 然而, 快速玻璃化路线中冷冻速率不足导致的冰晶伪影、非晶冰背景噪声对轻元素对比度的限制, 以及低剂量成像中信噪比与结构信息之间的固有矛盾, 仍是该领域面临的共性挑战. 在空气敏感材料方面, 无氧冷冻制样与转移流程, 使锂、钠、钾等碱金属负极以及 SEI、CEI、固态电解质界面的近原生表征成为可能, 据此揭示了 SEI 的马赛克结构、锂金属的本征沉积形貌和固态电池界面的失效路径等关键信息. 需要指出, 无氧转移过程中样品的短暂空气暴露、温度波动和冰污染可能导致界面状态的改变, cryo-TEM 所得界面结构需与 XPS、NMR 等化学态表征手段相互印证. 在时间分辨研究方面, 针对不同的研究对象已形成 3 条实验路径, 其中离线取样冷冻操作简单, 适用面广, 覆盖了从矿物成核到金属电沉积的广泛体系, 但时间分辨率因受手工取样速度限制在秒级; 将电化学触发、微流控混合和激光熔融等反应触发与冷冻制样同步的实验策略, 可分别研究时间窗口在毫秒、数十毫秒和微秒量级的反应; 电子束驱动的原位动力学以累积剂量取代反应时间, 适合实时追踪辐照诱导的结构演化, 但辐照诱导演化路径与自然路径的等效性验证在多数体系中仍不充分, 是该方法推广中必须正视的问题. 低温物理性质方面, 低温原位 TEM 提供的低温与变温环境,

表 3 cryo-TEM 两类技术路线的代表性案例分类
Table 3. Classification of representative cases for the two cryo-TEM technical routes.

技术路线	细分实现方式	典型样品	核心制样与成像特点	代表性文献
快速玻璃化冷冻	标准plunge freezing	MOFs、COFs、钙钛矿、水凝胶、软物质	薄液膜快速投入冷冻, 全程液氮温度转移与低剂量成像	Li等 ^[13] 、Chen等 ^[43] 、Sun等 ^[44] 、Li等 ^[45] 、Sonani等 ^[50] 、Song等 ^[51]
	反应-冷冻耦合	电化学界面、矿物成核、自组装动态过程	电化学/微流控/光触发反应与冷冻制样同步	Li等 ^[27] 、Dutta等 ^[75] 、Mäeots等 ^[20] 、Voss等 ^[86]
侧插式低温样品杆或低温原位样品台	无氧低温转移	锂/钠/钾金属负极、SEI/CEI、固态电解质界面	手套箱内无氧装载样品, 低温样品杆全程低温转移	Li等 ^[14] 、Wang等 ^[37] 、Yuan等 ^[55] 、Cheng等 ^[67]
	低温/变温原位成像	铁电材料、超导材料、拓扑磁材料	常温制样, 变温样品台连续控温	Jiang等 ^[21] 、Yu等 ^[23] 、Remnich等 ^[35] 、Tyukalova等 ^[91] 、Wang等 ^[93]

使得原位研究降温诱导的结构变化, 例如铁电畴壁连续演化、界面组分分布调控、合金低温变形等物理过程成为可能, 令 cryo-TEM 从结构表征工具延伸为相变机制的研究平台. 然而, 液氮/液氮冷却条件下的样品漂移和温度标定偏差是限制原子分辨率成像和相变温度精确判定的主要因素.

为清晰呈现全文案例的方法学归属, 表 3 将正文中的代表性研究按技术路线进行系统归纳, 进一步明确两类路线的适用边界与技术特征.

展望未来, cryo-TEM 两类技术路线的发展重点各有侧重. 在快速玻璃化冷冻路线方面, 电子束敏感材料的本征结构解析仍有非晶冰背景噪声和低温样品台稳定性等瓶颈; 空气敏感材料的无氧制样流程需要标准化以提高不同实验室之间的可重复性; 时间分辨研究需要将耦合冷冻方法从蛋白质体系推向更加广泛的研究领域并建立电子束驱动对照实验的研究范式. 在低温原位 TEM 路线方面, 低温物理研究需要进一步提升变温精度和多场耦合能力. 此外, 多种实验技术的联用则将使 cryo-TEM 从单一成像工具转变为物质结构与功能的综合研究平台.

参考文献

- Li Y B, Huang W, Li Y Z, Chiu W, Cui Y 2020 *ACS Nano* **14** 9263
- Chen Q L, Dwyer C, Sheng G, Zhu C Z, Li X N, Zheng C L, Zhu Y H 2020 *Adv. Mater.* **32** 1907619
- Egerton R F, Li P, Malac M 2004 *Micron* **35** 399
- Wang X F, Li Y J, Meng Y S 2018 *Joule* **2** 2225
- De Yoreo J J, Sommerdijk N A J M 2016 *Nat. Rev. Mater.* **1** 16035
- Li F J, Wu S Q, Lv L, Huang S L, Zhang Z L, Zerang Z X, Li P H, Cao Y M, Bao H F, Sun P, Bai X W, He Y, Fu Y F, Yuan H, Ma X Q, Zhao Z X, Zhang J, Wang J, Wang T, Li D, Zhang Q, He J J, Liu Z X, Lu Z J, Lei D S, Li K 2024 *PLoS Pathog.* **20** e1012623
- Zhang Z L, Wu S Q, Li F J, Zerang Z X, Lu Z J, Li K, Lei D S 2023 *J. Chin. Electron Microsc. Soc.* **42** 39 (in Chinese) [张泽林, 武山权, 李凤娟, 泽让扎西, 卢曾军, 李坤, 雷东升 2023 电子显微学报 **42** 39]
- Xie S, Dai S 2025 *Microstructures* **5** 2025057
- Wang Q, Wang T, Cao L, Mu A, Fu S, Wang P, Gao Y, Ji W, Liu Z, Du Z 2024 *Science* **385** 1217
- Yang T, Ouyang Q 2024 *Acta Phys. Sin.* **73** 138701 (in Chinese) [杨添, 欧阳颀 2024 物理学报 **73** 138701]
- Zhang L, Shi G, Peng B, Gao P, Chen L, Zhong N, Mu L, Zhang L, Zhang P, Gou L, Zhao Y, Liang S, Jiang J, Zhang Z, Ren H, Lei X, Yi R, Qiu Y, Zhang Y, Liu X, Wu M, Yan L, Duan C, Zhang S, Fang H 2021 *Natl. Sci. Rev.* **8** nwaa274
- Xiong J, Wu S Q, Liang Z Q, Fang S, Tao F Y, Gong X T, Wu X, Wu Q F, Cui J J, Gao K, Hoi K K, Peng Y, Luo S W, Lei D S, Dong S H 2026 *Nat. Chem. Biol.* **22** 1176
- Li Y Z, Wang K C, Zhou W J, Li Y B, Vila R, Huang W, Wang H X, Chen G X, Wu G H, Tsao Y, Wang H S, Sinclair R, Chiu W, Cui Y 2019 *Matter* **1** 428
- Li Y, Li Y, Pei A, Yan K, Sun Y, Wu C L, Joubert L M, Chin R, Koh A L, Yu Y, Perrino J, Butz B, Chu S, Cui Y 2017 *Science* **358** 506
- Wang X F, Pawar G, Li Y J, Ren X D, Zhang M H, Lu B Y, Banerjee A, Liu P, Dufek E J, Zhang J G, Xiao J, Liu J, Meng Y S, Liaw B 2020 *Nat. Mater.* **19** 1339
- Zhang Z, Li Y, Xu R, Zhou W, Li Y, Oyakhire S T, Wu Y, Xu J, Wang H, Yu Z 2022 *Science* **375** 66
- Li X J, Sui H Y, Wang Y T 2022 *J. Chin. Electron Microsc. Soc.* **41** 41 (in Chinese) [李小菊, 隋海燕, 王延涛 2022 电子显微学报 **41** 41]
- Maeots M E, Enchev R I 2022 *Acta Crystallogr. D Struct. Biol.* **78** 927
- Shaikh T R, Yassin A S, Lu Z, Barnard D, Meng X, Lu T M, Wagenknecht T, Agrawal R K 2014 *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **111** 9822
- Mäeots M E, Lee B, Nans A, Jeong S G, Esfahani M M N, Ding S, Smith D J, Lee C S, Lee S S, Peter M 2020 *Nat. Commun.* **11** 3465
- Jiang T S, Pivak Y, Ni F, van der Gugten G, Li J J, Zhuo F P, Molina-Luna L 2024 *Microstructures* **4** 2024058
- Weng S T, Zhang X, Yang G J, Zhang S M, Ma B Y, Liu Q Y, Liu Y, Peng C X, Chen H X, Yu H L, Fan X L, Cheng T, Chen L Q, Li Y J, Wang Z X, Wang X F 2023 *Nat. Commun.* **14** 4474
- Yu X Z, Onose Y, Kanazawa N, Park J H, Han J H, Matsui Y, Nagaosa N, Tokura Y 2010 *Nature* **465** 901

- [24] Lin Q, Liu J, An X, Wang H, Zhang Y, Liao X 2018 *Mater. Res. Lett.* **6** 236
- [25] Zachman M J, Tu Z Y, Choudhury S, Archer L A, Kourkoutis L F 2018 *Nature* **560** 345
- [26] Li J, Lin C, Ma T Q, Sun J L 2022 *Nat. Commun.* **13** 4016
- [27] Li Y B, Liu Y Z, Zhang Z W, Zhou W J, Xu J W, Ye Y S, Peng Y C, Xiao X, Chiu W, Sinclair R, Li Y Z, Cui Y 2024 *Nano Lett.* **24** 10409
- [28] Cui Y, Zhang Z W, Sinclair R, Chiu W, Cui Y 2026 *Nat. Rev. Phys.* **8** 40
- [29] Wang G, Lin J H 2024 *Chin. Phys. B* **33** 086801
- [30] Yao J M, Yu Z X, Ma J, Ye Z R, Du C C, Zhao J, Chen J Z, Ye H J, Dai Q S, Li H, Su Y, Yan J T, Zhu D D, Wang Z F, Zhang X D, Rong Z Y, Yu Q, Guo Z, Qiu H L, Wang Z Y, Zhu L Y, Tang Y F, Huang J Y 2025 *Nat. Commun.* **16** 9731
- [31] Habraken W J E M, Tao J, Brylka L J, Friedrich H, Bertinetti L, Schenk A S, Verch A, Dmitrovic V, Bomans P H H, Frederik P M, Laven J, van der Schoot P, Aichmayer B, de With G, DeYoreo J J, Sommedijk N A J M 2013 *Nat. Commun.* **4** 1507
- [32] Xin J J, Qiao X J, Qiu Y, Li J N, Yang S H, Li G B, Sun J L 2024 *Sci. Bull.* **69** 3496
- [33] Zhang J C, Wen J, Liu W D, Cui X Y, Chen Y N 2022 *Sci. China Mater.* **65** 2613
- [34] Sung S H, Gates M, Agarwal N, Zhang Y, Millsaps W, Shah M, Rennich E, Li C, Yu P, Chi M, Savitzky B H, Baggari I E, Hovden R 2025 *arXiv: 2509.12475*
- [35] Rennich E, Sung S H, Agarwal N, Gates M, Kerns R, Hovden R, Baggari I E 2025 *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **122** e2509736122
- [36] Zhang D, Zhu Y, Liu L, Ying X, Hsiung C E, Sougrat R, Li K, Han Y 2018 *Science* **359** 675
- [37] Wang X F, Zhang M H, Alvarado J, Wang S, Sina M, Lu B Y, Bouwer J, Xu W, Xiao J, Zhang J G, Xiao J, Liu J, Meng Y S 2017 *Nano Lett.* **17** 7606
- [38] Egerton R F 2019 *Micron* **119** 72
- [39] Dubochet J, Adrian M, Chang J J, Lepault J, McDowell A W 1987 *Cryotechniques in Biological Electron Microscopy* (Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg) pp114–131
- [40] Dickerson J L, Naydenova K, Peet M J, Wilson H, Nandy B, McMullan G, Morrison R, Russo C J 2025 *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **122** e2421538122
- [41] Zhang J, Cheng N, Ge B H 2022 *Adv. Phys. X* **7** 2046157
- [42] Wu K, Yang B S, Xue W H, Sun D P, Ge B H, Wang Y M 2024 *Chin. Phys. B* **33** 076802
- [43] Chen S S, Zhang Z L, Chen W, Lucier B E, Chen M S, Zhang W L, Zhu H H, Hung I, Zheng A M, Gan Z H, Gan Z H, Lei D S, Huang Y N 2024 *Nat. Commun.* **15** 10776
- [44] Sun T, Wei L, Chen Y T, Ma Y H, Zhang Y B 2019 *J. Am. Chem. Soc.* **141** 10962
- [45] Li Y B, Zhou W J, Li Y Z, Huang W X, Zhang Z W, Chen G X, Wang H S, Wu G H, Rolston N, Vila R, Chiu W, Cui Y 2019 *Joule* **3** 2854
- [46] Fan Q Y, Cui Y, Li Y B, Vigil J A, Jiang Z Q, Nandi P, Colby R, Zhang C S, Karunadasa H I, Lindenberg A M 2025 *Cell Rep. Phys. Sci.* **6** 102653
- [47] Zhu Y M, Gui Z G, Wang Q, Meng F X, Feng S X, Han B H, Wang P Y, Huang L, Wang H L, Gu M 2020 *Nano Energy* **73** 104820
- [48] Choi H S, Lin J, Wang G, Wong W P D, Park I H, Lin F, Yin J, Leng K, Lin J, Loh K P 2024 *Science* **384** 60
- [49] Kochovski Z, Chen G, Yuan J, Lu Y 2020 *Colloid Polym. Sci.* **298** 707
- [50] Sonani R R, Bianco S, Kreutzberger M A, Adams D J, Egelman E H 2025 *Faraday Discuss.* **260** 132
- [51] Song Y M, Li Z X, Mulvey J T, Freitas J A, Patterson J P, Tobias D J 2025 *ChemPhysChem* **26** e202401085
- [52] Zhang P L, Dong X D, Du H Q, Cui S W, Liu J Y, He Y X, Ren W J, Wang H, Zhang Y, Xu Y F 2024 *Macromolecules* **57** 11697
- [53] Ren X C, Zhang X Q, Xu R, Huang J Q, Zhang Q 2020 *Adv. Mater.* **32** 1908293
- [54] Li W P, Weng S T, Fang Q, Su D, Wang Z X, Wang X F 2024 *J. Chin. Electron Microsc. Soc.* **43** 86 (in Chinese) [李伟萍, 翁素婷, 方适, 苏东, 王兆翔, 王雪峰 2024 电子显微学报 **43** 86]
- [55] Yuan X T, Liu B, Mecklenburg M, Li Y Z 2023 *Nature* **620** 86
- [56] Han B, Zou Y C, Zhang Z, Yang X M, Shi X B, Meng H, Wang H, Xu K, Deng Y H, Gu M 2021 *Nat. Commun.* **12** 3066
- [57] Liu P C, Yen D, Vishnugopi B S, Kankanallu V R, Gürsoy D, Ge M Y, Watt J, Mukherjee P P, Chen-Wiegart Y C K, Mitlin D 2023 *Angew. Chem. Int. Ed.* **62** e202300943
- [58] Wang C, Kim J T, Yuan X, Kim J K, Liu B, Kim M H, Zhao D, Mecklenburg M, Li Y 2025 *Sci. Adv.* **11** eadv3191
- [59] Huang W, Attia P M, Wang H S, Renfrew S E, Jin N, Das S, Zhang Z W, Boyle D T, Li Y Z, Bazant M Z, McCloskey B D, Chueh W C, Cui Y 2019 *Nano Lett.* **19** 5140
- [60] Huang W, Wang H S, Boyle D T, Li Y Z, Cui Y 2020 *ACS Energy Lett.* **5** 1128
- [61] Jurng S, Brown Z L, Kim J, Lucht B L 2018 *Energy Environ. Sci.* **11** 2600
- [62] Han B, Li X Y, Bai S, Zou Y C, Lu B Y, Zhang M H, Ma X M, Chang Z, Meng Y S, Gu M 2021 *Matter* **4** 3741
- [63] Zhang Z W, Yang J L, Huang W, Wang H S, Zhou W J, Li Y B, Li Y Z, Xu J W, Huang W X, Chiu W, Cui Y 2021 *Matter* **4** 302
- [64] Tan D H S, Banerjee A, Chen Z, Meng Y S 2020 *Nat. Nanotechnol.* **15** 170
- [65] Famprikis T, Canepa P, Dawson J A, Islam M S, Masquelier C 2019 *Nat. Mater.* **18** 1278
- [66] Lou S F, Zhang F, Fu C F, Chen M, Ma Y L, Yin G P, Wang J Y 2021 *Adv. Mater.* **33** 2000721
- [67] Cheng D, Wynn T A, Wang X, Wang S, Zhang M, Shimizu R, Bai S, Nguyen H, Fang C, Kim M C, Li W, Lu B, Kim S J, Meng Y S 2020 *Joule* **4** 2484
- [68] Dai Q S, Yao J M, Du C C, Ye H J, Gao Z Y, Zhao J, Chen J Z, Su Y, Li H, Fu X J, Yan J T, Zhu D D, Zhang X D, Li M Y, Luo Z Y, Qiu H L, Huang Q, Zhang L Q, Tang Y F, Huang J Y 2022 *Adv. Funct. Mater.* **32** 2208682
- [69] Li S Y, Zhang J H, Zhang S C, Liu Q L, Cheng H, Fan L, Zhang W D, Wang X Y, Wu Q, Lu Y Y 2024 *Nat. Energy* **9** 285
- [70] Yang G L, Ghosh T, Li Y J, Ju Z Y, Lim C Y J, Ren W, Chang Z, Wang J B, Du J L, Li Y, Zhang C, Liu W, Yao Y, Yu G H, Seh Z W 2025 *Nat. Commun.* **17** 323
- [71] Lin H J, Meng J Y, Guo W H, Li R J, Yi Y Y, Ma Y Y, Cheung C F, Aurbach D, Xu Z L 2024 *Energy Environ. Sci.* **17** 6548
- [72] Chang Y H, Lu W J, Guénolé J, Stephenson L T, Szczepaniak A, Kontis P, Ackerman A K, Dear F F, Mouton I, Zhong X K, Zhang S Y, Dye D, Liebscher C H, Ponge D, Korte-Kerzel S, Raabe D, Gault B 2019 *Nat. Commun.* **10** 942
- [73] Pouget E M, Bomans P H H, Goos J A C M, Frederik P M,

- de With G, Sommerdijk N A J M 2009 *Science* **323** 1455
- [74] Nielsen M H, Aloni S, De Yoreo J J 2014 *Science* **345** 1158
- [75] Dutta N S, Carroll G M, Neale N R, Han S D, Al-Jassim M, Jungjohann K 2024 *Microsc. Microanal.* **30** 844
- [76] Yoder N, Jalali-Yazdi F, Noreng S, Houser A, Bacongus I, Gouaux E 2020 *J. Struct. Biol.* **212** 107624
- [77] Romero A M, Bonin C, Twomey E C 2024 *IUCrJ* **11** 16
- [78] Schreiber R E, Houben L, Wolf S G, Leitus G, Lang Z L, Carbo J J, Poblet J M, Neumann R 2017 *Nat. Chem.* **9** 369
- [79] Xu H, Angstrom J, Eklund T, Amann-Winkel K 2020 *J. Phys. Chem. B* **124** 9283
- [80] Houben L, Weissman H, Wolf S G, Rybtchinski B 2020 *Nature* **579** 540
- [81] Kumar S, Wang Z, Penn R L, Tsapatsis M 2008 *J. Am. Chem. Soc.* **130** 17284
- [82] Baumgartner J, Dey A, Bomans P H H, Le Coadou C, Fratzl P, Sommerdijk N A J M, Faivre D 2013 *Nat. Mater.* **12** 310
- [83] Soltis J A, Wallace C M, Penn R L, Burns P C 2016 *J. Am. Chem. Soc.* **138** 191
- [84] Wu A L, Guo Y X, Li X B, Xue H M, Fei J B, Li J B 2021 *Angew. Chem. Int. Ed.* **60** 2099
- [85] Torino S, Dhurandhar M, Stroobants A, Claessens R, Efremov R G 2023 *Nat. Methods* **20** 1400
- [86] Voss J M, Harder O F, Olshin P K, Drabbels M, Lorenz U J 2021 *Struct. Dyn.* **8** 054302
- [87] Curtis W A, Wenz J, Kruger C R, Barrass S V, Drabbels M, Lorenz U J 2026 *Nat. Commun.* **17** 1799
- [88] Ge M Y, Han B, Xiong Z W, Fu Z Q, Liu M Q, Sun A W, Fang L M, Nie H C, Chen X F, Wang G S, Zhang Y J, Li J, Gao Z P 2025 *Nat. Commun.* **17** 1221
- [89] McComb D W, Lengyel J, Carter C B 2019 *MRS Bull.* **44** 924
- [90] Zhu Y M, Zhang Q, Yang X M, Li M H, Wang B, Gu M 2021 *iScience* **24** 103385
- [91] Tyukalova E, Vimal Vas J, Ignatans R, Mueller A D, Medwal R, Imamura M, Asada H, Fukuma Y, Rawat R S, Tileli V, Duchamp M 2021 *Acc. Chem. Res.* **54** 3125
- [92] Tao L, Zhang H, Shah S R, Yang X, Lai J, Guo Y, Russell J A, Xia D, Min J, Huang W, Shi C, Liang Z, Yu D, Hwang S, Xiong H, Madsen L A, Zhao K, Shi F, Lin F 2025 *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **122** e2420398122
- [93] Wang Z C, Pei K, Yang L T, Yang C D, Chen G Y, Zhao X B, Wang C, Liu Z W, Li Y, Che R C, Zhu J 2023 *Nature* **615** 405
- [94] Kumar A, Tiukalova E, Venkatraman K, Lupini A, Hachtel J A, Chi M 2024 *Ultramicroscopy* **265** 114008
- [95] Zhang Z, Cui Y X, Huang X M, Li M H, Wei X B, Zhen C, Cai C, Wu D J, Deng L, Zeng Z Y, Zhong R Y, Gu M D 2026 *Nano Lett.* **26** 5062
- [96] Unabara D, Sato Y K, Hamaguchi T, Yonekura K 2025 *Anal. Chem.* **97** 18055
- [97] He Y, Jiang L, Chen T W, Xu Y B, Jia H P, Yi R, Xue D C, Song M, Genc A, Bouchet-Marquis C, Pullan L, Tessner T, Yoo J, Li X L, Zhang J G, Zhang S L, Wang C M 2021 *Nat. Nanotechnol.* **16** 1113
- [98] Wang L F, Han P, Zhang L, Zhong C, Chen M, Li R X, Wu Y H, Zuo Z P, Wang X D, Wang X F, Zhan C, Liu G C 2025 *Chem. Eng. J.* **525** 170318
- [99] Sun H, Zhu G, Xu X, Liao M, Li Y-Y, Angell M, Gu M, Zhu Y, Hung W H, Li J 2019 *Nat. Commun.* **10** 3302
- [100] Gomez O J, Antar A, Hall A T, Tapia-Aracayo L, Seo J, Kim N, Sun Z, Lim R, Chen F, Li Y, Cumings J, Rubloff G, Lee S B, Stewart D, Wang Y 2025 *J. Mater. Chem. A* **13** 28368
- [101] Ueda K, Uchiyama R, Kato N, Higashi K, Moribe K 2025 *Int. J. Pharm.* **674** 125425
- [102] Lazić I, Wirix M, Leidl M L, de Haas F, Mann D, Beckers M, Pechnikova E V, Müller-Caspary K, Egoavil R, Bosch E G T, Sachse C 2022 *Nat. Methods* **19** 1126
- [103] Yücelen E, Lazić I, Bosch E G T 2018 *Sci. Rep.* **8** 2676 (in Chinese)
- [104] Sartori A, Gatz R, Beck F, Rigort A, Baumeister W, Plitzko J M 2007 *J. Struct. Biol.* **160** 135
- [105] Zhang R R, Xiao Z X, Lin Z K, Yan X H, He Z Y, Jiang H R, Yang Z, Jia X L, Wei F 2024 *Nano-Micro Lett.* **16** 43
- [106] Presutti C, Vreeker E, Sasidharan S, Ferdinando Z, Stuart M, Juhaniewicz-Dębińska J, Maglia G, Roos W H, Poolman B 2025 *Biomacromolecules* **26** 2868
- [107] Huang J Y, Zhong L, Wang C M, Sullivan J P, Xu W, Zhang L Q, Mao S X, Hudak N S, Liu X H, Subramanian A 2010 *Science* **330** 1515
- [108] Jabbari V, Yurkiv V, Rasul M G, Phakatkar A H, Mashayek F, Shahbazian-Yassar R 2023 *Energy Storage Mater.* **57** 1
- [109] Alvarado J, Schroeder M A, Pollard T P, Wang X, Lee J Z, Zhang M, Wynn T, Ding M, Borodin O, Meng Y S, Xu K 2019 *Energy Environ. Sci.* **12** 780
- [110] Xie Y, Wang J, Savitzky B H, Chen Z, Wang Y, Betzler S, Bustillo K, Persson K, Cui Y, Wang L W 2023 *Sci. Adv.* **9** eadc9721
- [111] Wang F, Yu H C, Chen M H, Wu L J, Pereira N, Thornton K, Van der Ven A, Zhu Y M, Amatucci G G, Graetz J 2012 *Nat. Commun.* **3** 1201
- [112] Sanchez-Garcia R, Gomez-Blanco J, Cuervo A, Carazo J M, Sorzano C O S, Vargas J 2021 *Commun. Biol.* **4** 874
- [113] He J H, Li T, Huang S Y 2023 *Nat. Commun.* **14** 3217
- [114] Iwasawa M, Miura K, Kashiwara M, Kitagawa H, Ohno M, Unabara D, Hamaguchi T, Yonekura K 2026 *ACS Meas. Sci. Au* **6** 340
- [115] Chen S J, Gong Z P, Zhao P Y, Zhang Y H, Cheng B, Hou J, Song J, Ding X, Sun J, Shi J, Deng J K 2024 *Energy Storage Mater.* **65** 103096

SPECIAL TOPIC—The 80th Anniversary of the School of Physical Science and Technology, Lanzhou University

Applications of cryogenic transmission electron microscopy in physics and materials*

ZHANG Zelin^{1)2)#} PU Rui^{1)2)#} KANG Dongyuan^{1)2)#} YI Siyang^{1)2)#}

XU Songyi¹⁾²⁾ WU Shanquan^{1)2)†} LEI Dongsheng^{1)2)3)4)‡}

1) (Electron Microscopy Centre of Lanzhou University, School of Physical Science and Technology, Lanzhou University, Lanzhou 730000, China)

2) (Key Laboratory of Magnetism and Magnetic Functional Materials, Ministry of Education, Lanzhou University, Lanzhou 730000, China)

3) (State Key Laboratory for Animal Disease Control and Prevention, College of Veterinary Medicine, Lanzhou University, Lanzhou 730000, China)

4) (Jiangsu Key Laboratory of Zoonosis, Yangzhou University, Yangzhou 225009, China)

(Received 11 May 2026; revised manuscript received 8 June 2026)

Abstract

Cryogenic transmission electron microscopy (cryo-TEM) preserves biological and material samples in a near-native state via ultra-rapid vitrification and enables high-resolution imaging at cryogenic temperatures, which substantially alleviates structural degradation induced by vacuum dehydration and electron beam irradiation. Capitalizing on this unique advantage, cryo-TEM has long served as a powerful characterization tool in traditional disciplines including biology and medicine. In recent years, it has also seen tremendous advances in structural characterization and mechanistic exploration across physics, materials science, chemistry and atmospheric science. This review first systematically introduces two core technical routes of cryo-TEM: the vitrification-based strategy (Sections 3 and 5) for the structural analysis of electron-beam-sensitive materials and the characterization of dynamic evolution processes, and the cryo-stage-based strategy (Sections 4 and 6) for the oxygen-free preparation and investigation of low-temperature physical properties of air-sensitive materials. Subsequently, we comprehensively summarize the state-of-the-art applications of cryo-TEM in physics and materials science, covering five key research directions: 1) the protection mechanism and atomic-scale structural resolution of electron-beam-sensitive materials (e.g., MOFs, COFs, perovskites, and hydrogels); 2) oxygen-free sample preparation and interfacial structural analysis of air-sensitive materials (e.g., Li/Na/K metal anodes, SEI/CEI films, and solid-state battery interfaces); 3) time-resolved cryo-TEM methodologies including offline sampling, on-chip integration and electron beam-induced dynamic detection, as well as their applications in probing nucleation and phase transition behaviors over timescales ranging from microseconds to months; 4) in situ cryogenic observation of the structural and functional evolution of advanced functional materials (e.g., ferroelectric domain transformation, skyrmion lattice rearrangement, charge density wave transitions, and low-temperature Li⁺ transport behavior); 5) the latest progress in correlative characterization technologies that integrate cryo-TEM with spectroscopy, diffraction analysis, theoretical calculations and machine learning algorithms (Section 7). This review aims to provide a comprehensive and insightful reference for further expanding the application scope of cryo-TEM in fundamental physics and advanced materials research.

Keywords: cryogenic transmission electron microscopy, electron-beam-sensitive materials, air-sensitive materials, time-resolved, low-temperature physical properties

DOI: [10.7498/aps.75.20260668](https://doi.org/10.7498/aps.75.20260668)

CSTR: [32037.14.aps.75.20260668](https://cstr.cn/32037.14.aps.75.20260668)

* Project supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No. 32171300) and the Open Project Program of Jiangsu Key Laboratory of Zoonosis, China (Grant No. R2405).

These authors contributed equally.

† Corresponding author. E-mail: wushq2021@lzu.edu.cn

‡ Corresponding author. E-mail: leids@lzu.edu.cn

冷冻透射电子显微镜技术在物理与材料领域的应用

张泽林 普睿 康东元 易斯洋 徐宋毅 武山权 雷东升

Applications of cryogenic transmission electron microscopy in physics and materials

ZHANG Zelin PU Rui KANG Dongyuan YI Siyang XU Songyi WU Shanquan LEI Dongsheng

引用信息 Citation: *Acta Physica Sinica*, 75, 170709 (2026) DOI: 10.7498/aps.75.20260668

CSTR: 32037.14.aps.75.20260668

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.7498/aps.75.20260668>

当期内容 View table of contents: <http://wulixb.iphy.ac.cn>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

冷冻光学显微镜技术在光合作用研究中的发展与应用

Development and application of cryogenic optical microscopy in photosynthesis research

物理学报. 2024, 73(22): 229201 <https://doi.org/10.7498/aps.73.20241072>

用于超快扫描电子显微镜的光发射电子枪及电子光学模拟

Photo-emission electron gun and electron optical simulation for ultrafast scanning electron microscope

物理学报. 2024, 73(22): 222901 <https://doi.org/10.7498/aps.73.20241245>

超快电子显微学表征技术概述

A review of ultrafast electron microscopy characterization techniques

物理学报. 2026, 75(15): 222901 <https://doi.org/10.7498/aps.75.20260292>

功能化原子力显微镜在纳米电介质材料性能研究中的应用进展

Progress of application of functional atomic force microscopy in study of nanodielectric material properties

物理学报. 2022, 71(24): 240701 <https://doi.org/10.7498/aps.71.20221462>

利用冷冻电镜研究蛋白质机器的非平衡统计物理

Study of non-equilibrium statistical physics of protein machine by cryogenic electron microscopy

物理学报. 2024, 73(13): 138701 <https://doi.org/10.7498/aps.73.20240592>

基于小波变换的多频静电力显微镜动态过程测量方法

Wavelet transform based method of measuring multi-frequency electrostatic force microscopy dynamic process

物理学报. 2022, 71(9): 096801 <https://doi.org/10.7498/aps.71.20212095>