

扫描透射电子显微镜技术及其在中药研究中的应用

王月霞

(浙江中医药大学 中医药科学院, 浙江 杭州 310053)

摘要: 扫描透射电子显微镜 (STEM) 兼具透射电子显微镜 (TEM) 和扫描电子显微镜 (SEM) 的优势, 具有高分辨成像、强原子衬度敏感以及图像易懂、直观等优点, 已成为材料微结构和微区分析的必要性工具。中药研究有着悠久历史, 显微技术一直是研究药材微特征和作用机制的重要手段之一, 具有其他手段不可替代的作用。综述了 STEM 的原理、方法、技术特点, 以及其在中药显微结构和纳米颗粒等方面的应用, 以期为进一步扩展中药微特征领域的研究作参考。

关键词: 扫描透射电子显微镜; 中药

中图分类号: O657; TH16

文献标志码: B

文章编号: 1006-3757(2022)03-0280-09

DOI: 10.16495/j.1006-3757.2022.03.008

Scanning Transmission Electron Microscopy and Its Application in Traditional Chinese Medicine Research

WANG Yue-xia

(Academy of Chinese Medicine Sciences, Zhejiang Chinese Medicine University, Hangzhou 310053, China)

Abstract: Scanning transmission electron microscopy (STEM), a necessary tool for the microstructure of materials and microarea analysis, combines the advantages of transmission electron microscopy (TEM) and scanning electron microscopy (SEM), and has the advantages of high-resolution imaging, strong atomic contrast sensitivity, and easy-to-understand visual images. Traditional Chinese medicine research has a long history. Microscopic technology has always been one of the important means to study the micro-characteristics and mechanism of medicinal materials, and is irreplaceable to the other technologies. The principles, methods and technical characteristics of STEM, as well as its application in the microstructure and nanoparticles of traditional Chinese medicine has been reviewed, in order to provide reference for the further expansion of the research on the micro-characteristics of traditional Chinese medicine.

Key words: STEM; traditional Chinese medicine

随着现代科学技术的发展, 电子显微镜技术已成为研究纳米微观领域必不可少的有力工具。尤其是电子成像技术的跟进, 使得原子领域的研究越来越成为可能^[1]。扫描透射电子显微镜 (scanning transmission electron microscopy, STEM) 是目前最为流行及应用广泛的显微表征方式和测试手段之

一, 其兼具扫描电子显微镜 (SEM) 和透射电子显微镜 (TEM) 的优点, 结合辅助配件的优势, 在高分辨成像及生物大分子分析方面的应用广泛^[2]。1938 年, 西门子公司成功研制了世界上第一台扫描结合透射功能的电子显微镜^[3]。1988 年, 借助 100 kV 加速电压, Sohlberg 等^[4]利用 VG HB501 STEM, 首次连

收稿日期: 2022-05-24; 修订日期: 2022-07-05。

基金项目: 浙江中医药大学科研项目资助 (2022JKJNTZ14) [Research Project of Zhejiang Chinese Medical University (2022JKJNTZ14)]

作者简介: 王月霞 (1984-), 女, 研究生, 主要从事理化分析与检验、实验室管理与研究, E-mail: 20191098@zcmu.edu.cn。

续观测到了包含 $\text{YBa}_2\text{Cu}_3\text{O}_{7-x}$ 和 $\text{ErBa}_2\text{Cu}_3\text{O}_{7-x}$ 低分辨指数晶带轴的高分辨 STEM 图像。以此, STEM 的成像在原子分辨率水平上达到了一定高度。近年来,随着球差校正技术的出现及发展,STEM 成像的分辨率和探测灵敏度都有了极大提高,接近并达到亚埃水平,使得单原子的成像成为了可能,为解决许多材料科学中的疑难问题(如中药研发等)提供新的视野。

中药研究在我国有着悠久的历史,显微技术一直是研究药材微特征和作用机制的手段之一,有着其他手段不可替代的作用。尽管已有许多关于中药活性成分的研究报道,但因为中药材成分复杂且稳定性差,如对于中药的新型纳米颗粒载体和组织器官的微观结构很少被研究,所以限制了其应用和推广。此外,在实际的中药显微检验工作中,检验人员除了必须掌握显微鉴别的操作规程以外,还应对显微鉴别结果进行判定,但目前仍然是以经验为主来进行判断。为了减少人为因素的影响,更加精准的鉴别中药中的有效成分,有必要在已有显微鉴别技术的基础上,引入发射 STEM。STEM 技术不仅可以得到原子分辨率能量损失谱和高分辨的 Z 衬度像,与其他普通透射电子显微技术(如普通高分辨相位衬度像、衍射成像、选区电子衍射、微区成分分析、会聚电子衍射等)相比,还可一次性完成多种分析要求。因此,STEM 在医学、材料科学、中药学等学科中发挥着重要的作用^[5-6]。鉴于 STEM 在显微分析中的优势和中药微成分分析对中药药用价值开发的重要性,本文主要围绕 STEM 技术及其在中药研究中应用(如中草药显微结构和组织化学分析、中药提取物纳米颗粒载体研究以及中药残渣重复利

用研究等)进行论述。

1 STEM 工作原理

1.1 STEM 的成像原理

STEM 的成像法主要是以原子尺度的电子探针扫描样品表面,收集高角度的散射电子,从而得到非相干像。STEM 成像需要极高真空度,相比 TEM 和 SEM,其电学系统更复杂。STEM 配备了扫描附件的 TEM 或透射附件的 SEM^[7],通过场发射枪发射电子束,经特殊聚焦系统,聚成极细电子探针扫描试样表面,同时,由扫描线圈控制着逐点进行光栅的扫描。在扫描进行的同时,样品下放置的环形探测器同步接收高角度散射电子,相对应扫描位置上的环形探测器,将信号转换显示于荧光屏幕或计算机屏幕上。样品每一点都有对应的像点,其强度即为样品点上的高角度散射电子强度。当电子探针扫在原子列时,强信号就显示出亮点。反之将显示一个暗点,如此连续的扫描样品,STEM 自然形成了明暗场像。

另外,探测器会因电子的接收角度而分别接收到不同方向的散射电子,得到环形明场(annular bright field, ABF)像^[8-9]。当接收角度中有布拉格的散射电子时,即得环形暗场(annular dark field, ADF)像。当环形探测器的接收角度进一步加大,则得到高角环形暗场(high-angle annular dark-field, HAADF)像(如图 1 所示)^[10]。目前,HAADF 技术已成为最常用的电子显微镜成像技术之一。

1.2 HAADF 像

HAADF-STEM 也称为元素衬度像,很早就被广泛地用于倾转系列像的三维重构^[11]。倾转系列像

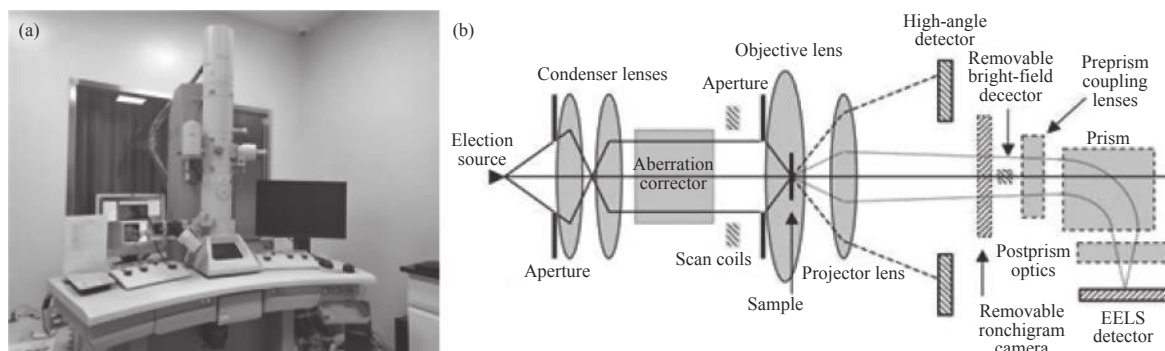


图 1 (a) 新一代高分辨率的透射电镜 Spectra 300 (S), (b) STEM 成像原理图^[8]

Fig. 1 (a) Latest generation of high-resolution transmission electron microscope Spectra 300 (S), (b) schematic diagram of STEM imaging

的三维重构也涉及景深,如景深深度小于样品厚度时,HAADF 像将从样品的内部结构线性投影变为样品内的某一深度光学层析^[12-14]. HAADF 像信号来自高角度散射电子,主要发生卢瑟福散射,它散射角度的大小受样品中的原子序数影响较大,信号强度则与样品的原子序数呈现较好的线性关系^[14-15]. 沈若涵等^[16]研究纳米尺度的景深下,原子分辨率的三维重构可行性.发现景深小于样品的厚度时,三维重构只能正确重构与样品中入射电子束的景深呈正相关的局部区域,研究还发现了它实际的正确重构区域,存在提前的聚焦现象,偏离的程度与样品的内原子序数、会聚角、加速电压都有关.当原子序数或会聚角越大,其与聚焦位置的偏离就越大.

HAADF-STEM 不仅可以分辨出晶体结构内部的空间原子种类分布,还可直接显示出晶体内部各原子种类的缺陷结构.杨槐馨等^[17]通过对稀土类碲化物 $\text{LaTe}_2\text{-}\delta$ 的体系结构进行系统 TEM 分析,对高精度的实空间进行直接观察.结果表明, $\text{LaTe}_2\text{-}\delta$ 的空位序形成可完全抑制体系中的电荷密度波转变,且两种调制结构可以以相分离形式存在^[17-22].

2 STEM 谱学分析

谱学分析目前在 TEM 广泛应用.主要通过配备 X 射线能谱仪 (energy-dispersive X-ray spectroscopy, EDS) 配件、电子能量损失谱仪 (electron energy-loss spectroscopy, EELS) 配件等,使得 TEM 能获得样品微观结构的同时,也可得到相对应区域元素分布、化学结构价态、能带结构分布等多种信息,从而实现对样品的全面表征 (mapping).

STEM 图像往往包含材料的不同信息,可以对材料的分析起到互相补充的作用.STEM 中除了可直接以环形探测器来接收散射电子进行信号成像,还可在镜筒的样品上方安置 EDS,从而实现微区元素的分析.也可用后置的 EELS 检测到非弹性散射的电子信号,从而得到电子的能量损失谱,分析判断样品中存在的化学成分和电子结构,做到一次试验同时分析样品的多种参数^[12-13](如图 2 所示).

2.1 EDS 分析

从超纳米的尺度来分析物质的主要化学成分,对理解其微观结构至关重要.EDS 是电子显微分析中一种最基本的分析方法. SEM 或者 TEM 通过与

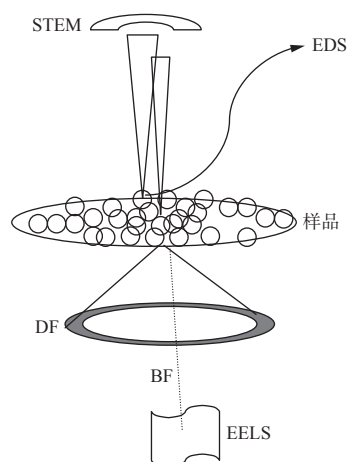


图 2 STEM 成像简明示意图

DF:暗场像, BF:暗场像

Fig. 2 Brief mechanism for STEM imaging

DF: dark field, BF: bright field

其检测器的联用,测定物质发射出的特征 X 射线,根据特征 X 射线的波长和周期表的 B~U 元素,可以准确知道 STEM 图像上每个原子所对应的元素,及时地进行定性和半定量的元素分析,以及 line scan、mapping 等的分布分析^[23].如较常用的 EDS mapping,其分辨率不仅取决于束斑尺寸,而且样品漂移也会影响效果,故成像时间一般较长,例如使用 30 mm^2 锂漂移硅探测器需要耗时 6.25 h.

EDS 虽然具有元素范围广、对样品损伤小等特点,但因 X 射线采集效率和空间分辨率都不高,仅限于定性和半定量分析.张熠阳等^[24]运用聚毛细管微束 X 射线荧光光谱分析 ($\mu\text{-XRF}$),快速查明铀矿物的空间位置,确定铀矿物的种类及其相应的次生变化和矿物中元素分布的不均匀性.

2.2 EELS 分析

STEM 结合高精度 EELS 技术,使得研究者对物质材料内的各种元素电子分布、微观结构规律及其性能与宏观性能变化的耦合关系、研究方向有更进一步地理解^[25-26].具有不同能量的电子在磁棱镜磁场的作用下发生大方向偏转.电子所发生偏转的偏转角越大,损失偏转的电子能力也越大.同时,能力数值相当时的电子偏转角度值也要相当.将能量损失相当,但传播方向不同的电子重新聚于平面上一点^[27],便可得到以电子能量损失分布为横坐标、以电子强度损失分布为纵坐标的 EELS 图谱^[28].

因入射电子与样品中原子的核外电子相互作用

用,从而损失了能量,该能量与元素种类、元素的价态、电子的轨道结构、样品能带的结构都有关联,因此可通过研究非弹性的散射电子能量损失,得到样品 EELS 元素分布表征(EELS mapping),获得样品较为全面的物理和化学信息. EELS mapping 成分分析与 EDS mapping 分析的功能相似,但 EELS mapping 对轻元素较为敏感. EELS mapping 能量分辨率(大约为 1 eV)远高于 EDS mapping 能量分辨率(大约 130 eV). EELS mapping 的收集时间一般在 0.5 min 以内,其取决于样品厚度以及所包含的元素,较 EDS mapping 时间要短的多. 另外, EELS mapping 比 EDS mapping 分辨率高,对于纳米材料(尤其是 10 nm 以下的材料)的分析, EELS mapping 要优于 EDS mapping. 因此, EELS 除了可以得到样品的信息(如化学成分、电子结构、化学成键等),还可对 EELS 的各部分进行成像选择. EELS 也可明显提高电子显微镜微成像与衍射图相关的衬度及分辨率,提供样品原子尺度的元素分布图,这个优势是目前其他先进的电子显微学分析测量仪器无法比拟的^[16].

宋克鹏等^[29]利用 STEM 和 EELS 对薄膜结构表征中出现的反相畴界(anti-phase domain boundary, APB)原子结构及化学成分进行了分析. 结果表明,该薄膜中同时存在两种不同类型的反相畴界,且反相界面间存在 Mn 离子的价态变化.

3 在中药研究中的应用

STEM 具有直接观察样品表观结构、景深幅度

大、放大范围较广、分辨率较高、样品制备过程简单等优点,这使其在中药的微特征和具体的药理研究中更为适用^[30].

3.1 中草药微结构和组织化学分析

矢车菊(*Centaurea cyanus* L.)是许多不同生物活性物质的宝贵来源. 但它作为中草药,其运送原料的器官和分泌组织的结构尚未得到充分研究^[31](如图 3 所示). Haratym 等^[32]表征了矢车菊花、苞片、茎和叶的微观结构,特别是分泌结构. 确定了分泌物中存在的主要次生代谢物类别及一些微形态学的分类价值,并分析其解剖特征. 其中,对于矢车菊器官地上的组织化学、微形态学和超微结构分析使用可见光学显微镜、荧光显微镜、扫描和透射电子显微镜. 证实了花瓣乳突的存在,获得了花瓣、雄蕊和花柱毛上的特征性表皮图案. 研究表明,苞片、叶和茎表面有四种非腺毛. 苞片的表皮细胞含有草酸钙棱柱状晶体. 通过 STEM 在矢车菊器官中观察到两种分泌结构,即腺毛和导管. 腺毛位于苞片和茎表面,导管在叶和茎中. 导管的上皮细胞中有钼酸染色的液泡组织及囊泡脂溶性物质. 组织化学分析结果显示导管分泌物的异质性,其中含有精油、脂质、类黄酮、单宁和含有类固醇的萜烯. 以上表明 STEM 可以为中药及其活性成分鉴定提供相应的技术支持^[33-35].

3.2 中药提取物纳米颗粒载体研究

Al-Radadi 使用橄榄油、甘草根(*Glycyrrhiza glabra*)和椰子油(OLC)的提取液,采用植物提取物介导的方法合成了(Fe@Au)纳米颗粒^[36](如图 4

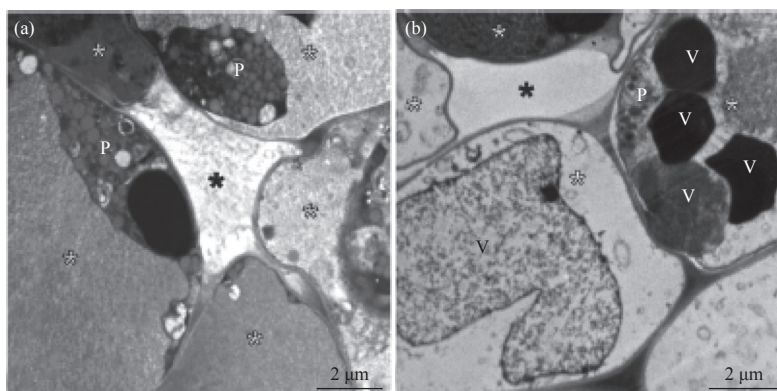


图3 矢车菊茎中分泌管的超微结构^[31]

(a) 分泌管(黑色星号), (b) 被一层上皮细胞(白色星号)包围

Fig. 3 Ultrastructure of secretory ducts in stem of *Centaurea cyanus* L

(a) secretory ducts (black asterisks), (b) surrounded by a layer of epithelial cells (white asterisks)

所示). 这些提取物在核壳纳米粒子形成过程中充当还原剂, 为特定靶细胞提供长期稳定性、较低毒性和较高渗透性环境. Fe@Au 磁性纳米核壳(NPs)使用紫外可见光谱、EDS、X 射线衍射(XRD)、高分辨率透射电子显微镜(HR-TEM)、傅里叶变换红外光谱(FT-IR)、高效液相色谱(HPLC)进行表征. 经研究证实微波辐射对其合成速率有极大促进作用. 通过 HAADF-STEM 技术发现合成的铁纳米粒子具有小尺寸、规则球形和均匀的形态. 并且显示出优异的抗氧化性能和较大的抑菌率, 对抑制幽门螺杆菌(*H. pylori*)和溃疡有效^[37-39].

Amina 等^[40]使用来自 *Dictyosphaerium* sp. 的藻类提取物通过绿色方法合成金纳米粒子(AuNPs)和负载薯蓣皂苷元(Dio-AuNPs)的新型金纳米制剂.

经 STEM 研究表明, AuNPs 和 Dio-AuNPs 具有球形形态, 平均尺寸范围分别为 (7.9 ± 2.4) nm 和 (10.3 ± 2.4) nm. 此外, 使用磺基罗丹明 B(SRB)增殖方法测定了 AuNPs 和 Dio-AuNPs 对结肠直肠癌细胞系 HCT116 和乳腺癌细胞系 HCC1954 的体外抗增殖活性. 结果表明在 HCT116 和 HCC1954 细胞系中, Dio-AuNPs 的抗增殖活性非常明显, 两种细胞系的 GI50 值分别为 (1.03 ± 0.27) $\mu\text{g/mL}$ 和 (1.69 ± 0.18) $\mu\text{g/mL}$. AuNPs 的效率与 Dio-AuNPs 相比, 几乎低 18 倍. 另外, 其他研究也表明生物合成的金纳米粒子和装载薯蓣皂苷元的新型金纳米制剂在结肠直肠癌细胞系和乳腺癌细胞系中具有抗增殖活性, 并且薯蓣皂苷元和金纳米粒子在结合使用时可以极大提高其抗癌活性^[41-43].

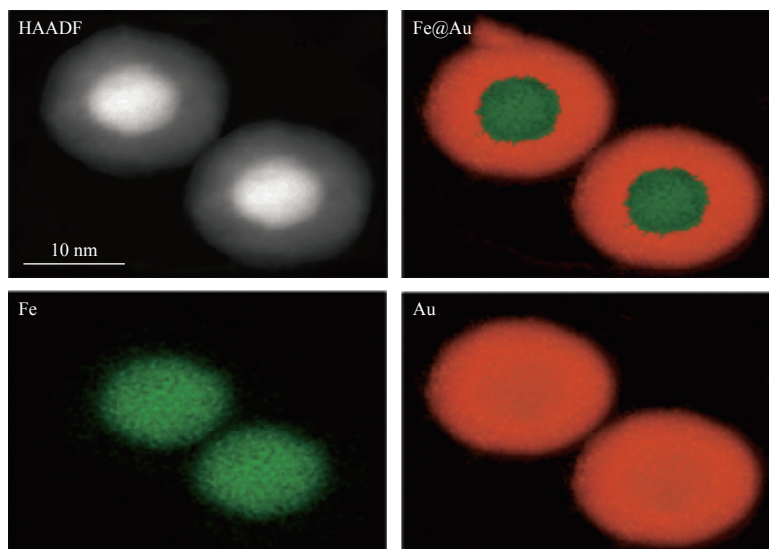


图 4 Fe@AuNPs 的 HAADF-STEM 图像和元素映射图像^[36]

Fig. 4 HAADF-STEM images and elemental mapping images of Fe@AuNPs

3.3 中药残渣重复利用研究

在高性能催化剂的开发中, 制备具有宽 pH 响应且性能优于贵金属的碳基氧化还原反应(ORR)催化剂一直是一项艰巨的挑战^[44]. Wang 等^[45]开发了由 *Lasiosphaera seu Calvatia*(LSC)的草药残留物直接合成 N, P 共掺杂的多孔空心碳球(NH₃-NPCS-900)的方法. STEM 研究表明, 其特点是在氨(NH₃)存在下, N 含量显著提高, 形成了分级多孔结构和较大的比表面积($984.7 \text{ m}^2/\text{g}$). 由于这些特点的协同效应, NH₃-NPCS-900 催化剂在酸性($E_{1/2}=0.615 \text{ V}$)和碱性溶液($E_{1/2}=0.862 \text{ V}$)中表现出优异的 ORR 催化活性. 并且含有 NH₃-NPCS-900 的锌空气电池表现

出高峰值功率密度(188 MW/cm^2)和更好的循环耐久性(>180 h), 显示出其应用潜力和前景. 该研究为如何从生物质中开发具有高效 ORR 催化活性的多孔碳提供了有价值的方向和见解^[45-47].

3.4 其他应用

Kaplan 等^[48]通过微波辅助方法使用松茸和蘑菇提取物合成银纳米粒子(AgNPs)(如图 5 所示). 并运用 STEM 对生物合成的 AgNPs 进行了表征. 合成的 AgNPs 几乎呈球形, 平均尺寸低于 20 nm. 合成的 AgNPs 可以通过最小抑制浓度及圆盘扩散法对多种病原体菌、耐药真菌菌株、铜绿假单胞菌、念珠菌等的抗菌活性进行测定. 另外, 可以通过

MTT法(噻唑蓝比色法)检测 AgNPs 对人乳腺癌(MCF-7)、肺癌(A549)、结肠癌(HT-29)和骨肉瘤(Saos-2)细胞的细胞毒性。AgNPs 通过诱导内在的凋亡信号通路以剂量依赖的方式对 MCF-7、HT-29

和 Saos-2 细胞表现出抗增殖作用。因此,合成的 AgNPs 是潜在的基于金属的纳米粒子系统,可以用于治疗传染病和癌症。这对新型中药制剂的制备和生药的研究均有重要意义^[49-50]。

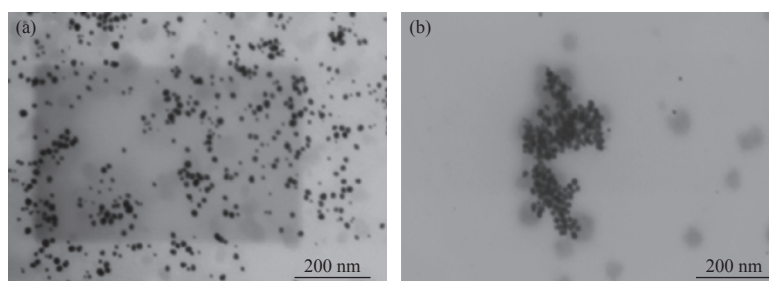


图5 (a) AuNPs 的 STEM 显微照片, (b) Dio-AuNPs 的 STEM 显微照片^[48]

Fig. 5 (a) STEM images of AuNPs, (b) and Dio-AuNPs

4 展望

目前, STEM 成像的空间分辨率已达到亚埃级,这使其成为材料微结构和微区元素分析中不可或缺的有力工具^[51]。本文对 STEM 的成像及相关技术的特点进行介绍,评述了其在中药显微结构和药理分析等方面的应用,对中药材的显微结构分析、药效开发和推广具有十分重要的意义^[52]。同时, STEM 技术也存在较多的问题。如维护使用成本高,技术壁垒仍然存在。利用率不高,导致研究领域相对狭窄^[53]。目前针对仪器的使用问题,很多省级部门正在推行仪器共享平台,如浙江省大型仪器共享平台,通过这些平台可以构建实验室仪器设备使用的联网,提高仪器使用率的同时,加速科研创新的发展,提高我国的科研实力^[54-55]。

参考文献:

- [1] Ede J M. Deep learning in electron microscopy[J]. *Machine Learning: Science and Technology*, 2021, 2 (1): 011004.
- [2] Li M H, Yang Y Q, Huang B, Luo X, Zhang W, Han M, Ru J G. Development of advanced electron tomography in materials science based on TEM and STEM[J]. *Transactions of Nonferrous Metals Society of China*, 2014, 24 (10): 3031-3050.
- [3] Bogner A, Jouneau P H, Thollet G, Basset D, Gauthier C. A history of scanning electron microscopy developments: towards “wet-STEM” imaging[J]. *Micron*, 2007, 38 (4): 390-401.
- [4] Sohlberg K, Pennycook T J, Zhou W, Pennycook S J. Insights into the physical chemistry of materials from advances in HAADF-STEM[J]. *Physical Chemistry Chemical Physics: PCCP*, 2015, 17 (6): 3982-4006.
- [5] Fatemans J, den Dekker A J, Müller-Caspary K, Gauquelin N, Verbeeck J, Aert S V. Atom column detection from simultaneously acquired ABF and ADF STEM images[J]. *Ultramicroscopy*, 2020, 219 : 113046.
- [6] Steinke J. Adolescent girls' STEM identity formation and media images of STEM professionals: considering the influence of contextual cues[J]. *Frontiers in Psychology*, 2017, 8 : 716.
- [7] Akaygun S, Aslan-Tutak F. STEM images revealing STEM conceptions of pre-service chemistry and mathematics teachers[J]. *International Journal of Education in Mathematics, Science and Technology*, 2016, 4 (1): 56.
- [8] Zhou D, Müller-Caspary K, Sigle W, Krause F F, Rosenauer A, van Aken P A. Sample tilt effects on atom column position determination in ABF-STEM imaging[J]. *Ultramicroscopy*, 2016, 160 : 110-117.
- [9] Okunishi E, Sawada H, Kondo Y. Experimental study of annular bright field (ABF) imaging using aberration-corrected scanning transmission electron microscopy (STEM)[J]. *Micron*, 2012, 43 (4): 538-544.
- [10] de wael A, de Backer A, Jones L, Nellist P D, van Aert S. Hybrid statistics-simulations based method for atom-counting from ADF STEM images[J]. *Ultramicroscopy*, 2017, 177 : 69-77.
- [11] Voyles P M, Grazul J L, Muller D A. Imaging individual atoms inside crystals with ADF-STEM[J]. *Ultramicroscopy*, 2017, 177 : 69-77.

- tramicroscopy, 2003, 96 (3-4): 251-273.
- [12] Zobelli A, Woo S Y, Tararan A, Tizei L H G, Brun N, Li X Y, Stéphan O, Kociak M, Tencé M. Spatial and spectral dynamics in STEM hyperspectral imaging using random scan patterns[J]. *Ultramicroscopy*, 2020, 212: 112912.
- [13] Mullarkey T, Downing C, Jones L. Development of a practicable digital pulse read-out for dark-field STEM[J]. *Microscopy and Microanalysis*, 2021, 27 (1): 99-108.
- [14] Waugh B, Wolf S G, Fass D, Branlund E, Kam Z, Sedat J W, Elbaum M. Three-dimensional deconvolution processing for STEM cryotomography[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2020, 117 (44): 27374-27380.
- [15] E H, MacArthur K E, Pennycook T J, Okunishi E, D'Alfonso A J, Lugg N R, Allen L J, Nellist P D. Probe integrated scattering cross sections in the analysis of atomic resolution HAADF STEM images[J]. *Ultramicroscopy*, 2013, 133: 109-119.
- [16] 沈若涵, 明文全, 何玉涛, 陈志逵, 席海辉, 何忆, 陈江华. 景深对HAADF-STEM原子分辨率三维重构的影响[J]. *电子显微学报*, 2020, 39(5): 526-535. [SHEN Ruo-han, MING Wen-quan, HE Yu-tao, CHEN Zhi-kui, XI Hai-hui, HE Yi, CHEN Jiang-hua. Influence of depth of field on three-dimensional reconstruction structure of HAADF-STEM atomic-resolution tomography[J]. *Journal of Chinese Electron Microscopy Society*, 2020, 39 (5): 526-535.]
- [17] 杨槐馨, 蔡瑶, 何俊宝, 田焕芳, 李建奇. $\text{LaTe}_{2.6}$ 中电荷密度波及空位序调制结构扫描透射电子显微镜直接观察[J]. *科学通报*, 2017, 62(34): 4061-4067. [YANG Huai-xin, CAI Yao, HE Jun-bao, TIAN Huan-fang, LI Jian-qi. Cs-corrected HAADF-STEM observations on the structural modulations caused by charge density wave and Te-vacancy ordering in $\text{LaTe}_{2.6}$ [J]. *Chinese Science Bulletin*, 2017, 62 (34): 4061-4067.]
- [18] Crouzier L, Pailloux F, Delvallée A, Devoille L, Feltin N, Tromas C. A novel approach for 3D morphological characterization of silica nanoparticle population through HAADF-STEM[J]. *Measurement*, 2021, 180: 109521.
- [19] 明文全, 陈江华, 沈若涵, 何玉涛, 陈志逵. 成像参数对ADF STEM三维重构成像精确性的影响[J]. *电子显微学报*, 2019, 38(5): 502-511. [MING Wen-quan, CHEN Jiang-hua, SHEN Ruo-han, HE Yu-tao, CHEN Zhi-kui. Influence of imaging parameters on the accuracy of three-dimensional electron tomography by ADF STEM images[J]. *Journal of Chinese Electron Microscopy Society*, 2019, 38 (5): 502-511.]
- [20] Lu X, Zhao L, He X Q, Xiao R J, Gu L, Hu Y S, Li H, Wang Z X, Duan X F, Chen L Q, Maier J, Ikuhara Y. Lithium storage in $\text{Li}_4\text{Ti}_5\text{O}_{12}$ spinel: the full static picture from electron microscopy[J]. *Advanced Materials*, 2012, 24 (24): 3233-3238.
- [21] Liu Z, Ma L L, Shi G, Zhou W, Gong Y J, Lei S D, Yang X B, Zhang J N, Yu J J, Hackenberg K P, Babakhani A, Idrobo J C, Vajtai R, Lou J, Ajayan P M. In-plane heterostructures of graphene and hexagonal boron nitride with controlled domain sizes[J]. *Nature Nanotechnology*, 2013, 8 (2): 119-124.
- [22] de Backer A, de wael A, Lobato I, Altantzis T, Béché A, Jones L, Nellist P D, Bals S, van Aert S. Quantification of 3D atomic structures and their dynamics by atom-counting from an ADF STEM image[J]. *Microscopy and Microanalysis*, 2019, 25 (S2): 1808-1809.
- [23] Lugg N R, Kothleitner G, Shibata N, Ikuhara Y. On the quantitiveness of EDS STEM[J]. *Ultramicroscopy*, 2015, 151: 150-159.
- [24] 张熠阳, 钟福军, 杜景勇, 严杰, 潘春蓉, 黄卉, 康清清, 潘家永. μ -XRF技术在黄龙铺钼(铀)矿床钼矿物学研究中的应用[J]. *岩矿测试*, 2022, 41(1): 32-42. [ZHANG Yi-yang, ZHONG Fu-jun, DU Jing-yong, YAN Jie, PAN Chun-rong, HUANG Hui, KANG Qing-qing, PAN Jia-yong. Application of μ -XRF in uranium mineralogy of the huanglongpu carbonate-type molybdenum deposit, Shaanxi Province, China[J]. *Rock and Mineral Analysis*, 2022, 41 (1): 32-42.]
- [25] Lovejoy T C, Corbin G C, Dellby N, Hoffman M V, Krivanek O L. Advances in ultra-high energy resolution STEM-EELS[J]. *Microscopy and Microanalysis*, 2018, 24 (S1): 446-447.
- [26] Monier E, Oberlin T, Brun N, Li X Y, Tencé M, Dobiéon N. Fast reconstruction of atomic-scale STEM-EELS images from sparse sampling[J]. *Ultramicroscopy*, 2020, 215: 112993.
- [27] 李超, 杨光. 扫描透射电子显微镜及电子能量损失谱的原理及应用[J]. *物理*, 2014, 43(9): 597-605. [LI Chao, YANG Guang. The principle and applications of STEM and EELS[J]. *Physics*, 2014, 43 (9): 597-605.]
- [28] Evin B, Leroy E, Segard M, Paul-Boncour V, Challet S, Fabre A, Latroche M. Investigation by STEM-EELS

- of helium density in nanobubbles formed in aged palladium tritides[J]. *Journal of Alloys and Compounds*, 2021, 878 : 160267.
- [29] 宋克鹏, 杜奎, 叶恒强. $\text{La}_{2/3}\text{Sr}_{1/3}\text{MnO}_3$ 薄膜中反相畴界面的原子结构和成分研究[J]. *电子显微学报*, 2020, 39(5): 503-507. [SONG Ke-peng, DU Kui, YE Heng-qiang. Atomic structure and chemistry of anti-phase boundaries in $\text{La}_{2/3}\text{Sr}_{1/3}\text{MnO}_3$ films[J]. *Journal of Chinese Electron Microscopy Society*, 2020, 39 (5): 503-507.]
- [30] Jamal A, Maqsood A. Review of synthesis of silver nanoparticles from different medicinal plants and their pharmacological activities[J]. *Asian Journal of Pharmacy and Technology*, 2021, 11 (1): 88-93.
- [31] Sulborska-Różycka A, Weryszko-Chmielewska E, Polak B, Stefańczyk B, Matysik-Woźniak A, Rejdak R. Secretory products in petals of *Centaurea cyanus* L flowers: a histochemistry, ultrastructure, and phytochemical study of volatile compounds[J]. *Molecules*, 2022, 27 (4): 1371.
- [32] Haratym W, Weryszko-Chmielewska E, Konarska A. Microstructural and histochemical analysis of above-ground organs of *Centaurea cyanus* used in herbal medicine[J]. *Protoplasma*, 2020, 257 (1): 285-298.
- [33] Boršić I, Susanna A, Bancheva S, Garcia-Jacas N. *Centaurea* sect *Cyanus*: nuclear phylogeny, biogeography, and life-form evolution[J]. *International Journal of Plant Sciences*, 2011, 172 (2): 238-249.
- [34] Sato K, Kerever A, Kamagata K, Tsuruta K, Irie R, Tagawa K, Okazawa H, Arikawa-Hirasawa E, Nitta N, Aoki I, Aoki S. Understanding microstructure of the brain by comparison of neurite orientation dispersion and density imaging (NODDI) with transparent mouse brain[J]. *Acta Radiologica Open*, 2017, 6(4): 2058460117703816.
- [35] Wang L, Zhang X Q, Xu C, Liu H, Qin J H. Human induced pluripotent stem cell-derived cardiac tissue on a thin collagen membrane with natural microstructures[J]. *Biomaterials Science*, 2016, 4 (11): 1655-1662.
- [36] Al-Radadi N S. Microwave assisted green synthesis of Fe@Au core-shell NPs magnetic to enhance olive oil efficiency on eradication of helicobacter pylori (life preserver)[J]. *Arabian Journal of Chemistry*, 2022, 15 (5): 103685.
- [37] Faisal S, Al-Radadi N S, Jan H, Abdullah, Shah S A, Shah S, Rizwan M, Afsheen Z, Hussain Z, Uddin M N, Idrees M, Bibi N. Curcuma longa mediated synthesis of copper oxide, nickel oxide and Cu-Ni bimetallic hybrid nanoparticles: characterization and evaluation for antimicrobial, anti-parasitic and cytotoxic potentials[J]. *Coatings*, 2021, 11 (7): 849.
- [38] Al-Radadi N S, Al-Youbi D A N. Environmentally-safe synthesis of gold and silver nano-particles with AL-madinah barni fruit and their applications in the cancer cell treatments[J]. *Journal of Computational and Theoretical Nanoscience*, 2018, 15 (6): 1853-1860.
- [39] Haghighi M B, Dara N, Mansour Ghanaie R, Azimi L, Hosseini A, Tajalli S, Hajipour M, Sayyari A, Imanzadeh F, Khatami K, Rohani P, Olang B. Evaluation of clarithromycin and metronidazole resistance of helicobacter pylori infection in symptomatic Iranian children[J]. *International Journal of Pediatrics*, 2019, 7 (2): 8925-8933.
- [40] Amina S J, Iqbal M, Faisal A, Shoaib Z, Niazi M B K, Ahmad N M, Khalid N, Janjua H A. Synthesis of diosgenin conjugated gold nanoparticles using algal extract of *Dictyosphaerium* sp and *in-vitro* application of their antiproliferative activities[J]. *Materials Today Communications*, 2021, 27 : 102360.
- [41] Govindan P, Murugan M, Pitchaikani S, Venkatachalam P, Gopalakrishnan A V, Kandasamy S, Shakila H. Synthesis and characterization of bioactive silver nanoparticles from red marine macroalgae *Chondrococcus Hornemannii*[J]. *Materials Today: Proceedings*, 2021, <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2021.02.497>.
- [42] Balciunaitiene A, Viskelis P, Viskelis J, Streimikyte P, Liaudanskas M, Bartkiene E, Zavistanaviciute P, Zokaityte E, Starkute V, Ruzauskas M, Lele V. Green synthesis of silver nanoparticles using extract of *artemisia absinthium* L., *humulus lupulus* L. and *thymus vulgaris* L, physico-chemical characterization, antimicrobial and antioxidant activity[J]. *Processes*, 2021, 9 (8): 1304.
- [43] Selvaraj P, Neethu E, Rathika P, Jayaseeli J P R, Jermy B R, AbdulAzeed S, Borgio J F, Dhas T S. Antibacterial potentials of methanolic extract and silver nanoparticles from marine algae[J]. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 2020, 28 : 101719.
- [44] Wan K, Yu Z P, Li X H, Liu M Y, Yang G, Piao J H, Liang Z X. pH effect on electrochemistry of nitrogen-doped carbon catalyst for oxygen reduction

- reaction[J]. *ACS Catalysis*, 2015, 5 (7): 4325-4332.
- [45] Wang M W, Cao L, Li Z H, Su K M. Herbal residue-derived N, P co-doped porous hollow carbon spheres as high-performance electrocatalysts for oxygen reduction reaction under both alkaline and acidic conditions[J]. *Microporous and Mesoporous Materials*, 2022, 329 : 111556.
- [46] Song S Q, Wu M M, Chen J W, Mo Z H, Chen R, Wang K, Yu T W. An Fe-N/S-C hybrid electrocatalyst derived from bimetal-organic framework for efficiently electrocatalyzing oxygen reduction reaction in acidic media[J]. *Journal of Energy Chemistry*, 2021, 52 : 291-300.
- [47] Alonso-Lemus I L, Figueroa-Torres M Z, Lardizabal-Gutiérrez D, Bartolo-Pérez P, Carrillo-Rodríguez J C, Rodríguez-Varela F J. Converting chicken manure into highly active N-P co-doped metal-free biocarbon electrocatalysts: effect of chemical treatment on their catalytic activity for the ORR[J]. *Sustainable Energy & Fuels*, 2019, 3 (5): 1307-1316.
- [48] Kaplan Ö, Gökşen Tosun N, İmamoğlu R, Türkel İ, Gökçe İ, Özgür A. Biosynthesis and characterization of silver nanoparticles from *Tricholoma ustale* and *Agaricus arvensis* extracts and investigation of their antimicrobial, cytotoxic, and apoptotic potentials[J]. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 2022, 69 : 103178.
- [49] López-Miranda J L, Molina G A, Esparza R, González-Reyna M A, Silva R, Estévez M. Green synthesis of homogeneous gold nanoparticles using sargassum spp extracts and their enhanced catalytic activity for organic dyes[J]. *Toxics*, 2021, 9 (11): 280.
- [50] Strout G, Russell S D, Pulsifer D P, Erten S, Lakh-takia A, Lee D W. Silica nanoparticles aid in structural leaf coloration in the Malaysian tropical rainforest understorey herb *Mapania caudata*[J]. *Annals of Botany*, 2013, 112 (6): 1141-1148.
- [51] Serrano R, Silva G, Silva O. Application of light and scanning electron microscopy in the identification of herbal medicines[J]. *Microscopy: Science, Technology, Applications and Education*, 2010, 3 : 182-190.
- [52] Ayaz A, Zaman W, Ullah F, Saqib S, Jamshed S, Bahadur S, Shakoor A, Arshad B. Systematics study through scanning electron microscopy; a tool for the authentication of herbal drug *Mentha suaveolens* Ehrh[J]. *Microscopy Research and Technique*, 2020, 83 (1): 81-87.
- [53] 胡鹏飞, 谢忱, 马村成, 李强. 高校分析测试中心大型仪器共享平台建设探索[J]. *实验室研究与探索*, 2019, 38(10): 256-258. [HU Peng-fei, XIE Chen, MA Cun-cheng, LI Qiang. Exploration on construction of platform for large-scale experimental apparatus sharing in the analysis and research center in universities[J]. *Research and Exploration in Laboratory*, 2019, 38 (10): 256-258.]
- [54] 王忠辉, 李艳红, 范浩军. 大型仪器开放共享平台管理模式的探讨[J]. *实验室科学*, 2018, 21(4): 184-187, 191. [WANG Zhong-hui, LI Yan-hong, FAN Hao-jun. Discussion on the opening and sharing platform management mode of large-scale instruments[J]. *Laboratory Science*, 2018, 21 (4): 184-187, 191.]
- [55] Pennycook S J, Nellist P D. *Scanning transmission electron microscopy*[M]. New York, NY: Springer New York, 2011.