

# EL MUNDO DE LOS ÁTOMOS

GUSTAAF VAN TENDELOO

La palabra *átomo* se remonta al siglo v antes de Cristo, cuando el filósofo griego Demócrito la introdujo. Su idea era que, si coges un grano de arena y lo divides, acabarás llegando a un punto en el que ya no podrás dividirlo más... Eso sería *el átomo*, que significa literalmente 'indivisible'. En realidad, Demócrito no estaba tan equivocado; los átomos, tal y como los conocemos ahora, son los bloques de construcción de todo el universo. Solo que la escala de Demócrito estaba equivocada: el átomo es mucho más pequeño de lo que él podía imaginar. Un grano de arena contiene unos  $10^{20}$  átomos. Por supuesto, todos sabemos que el átomo no es una bola sólida y que está formado por un núcleo positivo y una serie de electrones negativos a su alrededor, pero esa idea no se lanzó hasta finales del siglo XIX. Científicos como J. J. Thomson y Ernest Rutherford la introdujeron y Niels Bohr la perfeccionó. Pero, independientemente de la estructura fina del átomo, podemos considerar con absoluta confianza que los átomos son los bloques de construcción de todos los materiales, incluidos los materiales vivos.

Pero ¿por qué preocuparse de elementos tan pequeños que, si se hiciera una cadena de átomos, se necesitarían unos cuatro millones de ellos para alcanzar un milímetro? En efecto, durante siglos vivimos en una macrotecnología.

Incluso las máquinas o instrumentos «automatizados» se fabricaban, en el mejor de los casos, con una precisión milimétrica. Solo en los últimos decenios, con la introducción de los ordenadores y las nuevas tecnologías, han cambiado las cosas. La tecnología del silicio ha avanzado tanto que los circuitos electrónicos se aproximan ahora al nivel atómico. Hasta el punto de que la nanotecnología gobierna nuestra vida; estamos indefensos cuando nuestro PC no arranca o cuando se cae el servidor. Aplicaciones como la inteligencia artificial (IA) requieren cada vez más memoria y una conmutación más rápida. En este momento, los distintos elementos de conmutación de la matriz de silicio están separados por apenas unos cientos de átomos. Está claro que para superar este límite tenemos que profundizar en el mundo de los átomos. Sin embargo, para comprender este mundo de átomos, tenemos que ser capaces de observarlos. Pero, como ya se ha dicho, a simple vista es imposible. Por supuesto, esto tiene que ver con la calidad de nuestros ojos, que solo pueden discernir detalles mayores de 0,1 mm aproximadamente. El medio que utilizamos para observar el mundo que nos rodea es la luz. La luz tiene una longitud de onda del orden de 0,4-0,7 micrómetros (0,0004-0,0007 milímetros), que es, desde luego, muy pequeña, pero el átomo, con unas dimensiones de unos 0,2 nanómetros (0,0002 micrómetros), sigue siendo un factor de mil más pequeño que la longitud de onda de la luz. Esta es la razón principal por la que resulta teóricamente imposible observar átomos utilizando la luz como medio, incluso con los mejores microscopios ópticos. El principio es similar a la observación de detalles en el agua. Una mosca posada en la superficie del agua no distorsiona una onda acuática de un metro de tamaño. La mosca permanece invisible cuando se estudia el patrón de la ola. En cambio, una roca con las mismas dimensiones que la ola distorsio-

nará el frente de la ola y la roca será visible en el patrón de la ola. A grandes rasgos, se puede decir que nunca se pueden observar objetos más pequeños que la longitud de onda del medio. Todo esto suena muy lógico, pero no fue hasta finales del siglo XIX cuando Abbe demostró matemáticamente que para cualquier lente (óptica) el poder de resolución está relacionado con la longitud de onda del medio y la apertura numérica. En el aire y para la luz verde con la longitud de onda más corta, esta sería de aproximadamente 0,25 micrómetros (250 nanómetros). Esto no basta, ni de lejos, para detectar átomos, ni siquiera proteínas (10 nm) o virus (unos 100 nm), pero sí para obtener imágenes de la mayoría de las células biológicas que se encuentran en el rango de los micrómetros.

Así que hasta principios del siglo XX no había esperanza de observar directamente los átomos, ni siquiera con los mejores microscopios ópticos, que utilizaban fuentes de luz. Pero en la década de 1920 Schrödinger, De Broglie y otros desarrollaron la mecánica cuántica; predijeron y demostraron que una partícula acelerada también podía comportarse como una onda... y viceversa. Así pudieron explicar y predecir el inesperado comportamiento de los materiales a nivel subnanométrico. Esto fue importante para el desarrollo del primer microscopio electrónico. Louis De Broglie demostró claramente que los electrones acelerados pueden asociarse a un carácter ondulatorio con longitudes de onda 1000 veces menores que la longitud de onda de la luz. Ello inspiró a Hans Busch para construir una lente electromagnética y demostrar que un campo magnético puede desviar el haz de electrones.

Precisamente estos experimentos inspiraron a Ernst Ruska y Max Knoll para acoplar diferentes lentes electromagnéticas y construir en 1931 el primer instrumento de aumento que no utilizaba la luz como medio de imagen.

Aunque su primer instrumento solo obtenía un aumento de 17 veces, demostraba el principio, y apenas dos años después su instrumento era capaz de superar la resolución del microscopio óptico. ¡Había nacido el microscopio electrónico!

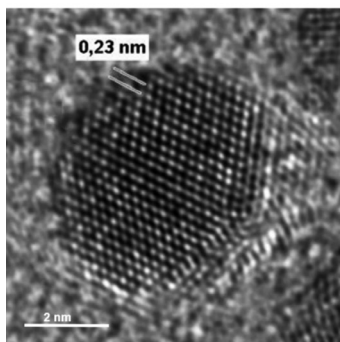
Sin embargo, su invento también se enfrentó a varios problemas adicionales. Uno de los principales inconvenientes de utilizar electrones en lugar de luz es que los electrones se absorben fácilmente en el aire y que los electrones acelerados a unos pocos miles de voltios pueden dañar gravemente el material; en particular, los materiales biológicos o vivos. Como consecuencia, los biólogos, y en este caso el hermano de Ernst Ruska, perdieron interés en la nueva herramienta, ya que todos los biomateriales se carbonizaban bajo el haz de electrones. Pero la empresa Siemens vio las posibilidades adicionales de este instrumento, lo que dio lugar al primer instrumento comercial en 1939; tenía una resolución 10 veces mejor que el microscopio óptico. El interés se centró en la metalurgia y la inorgánica, ya que la mayoría de estos materiales resistían tanto el vacío como la irradiación de electrones. Otro problema al que se enfrentaban es que los electrones acelerados se absorben fácilmente en el aire y, sobre todo, en los materiales densos. Incluso acelerados a cien mil voltios solo pueden penetrar en un metal o una cerámica hasta unos pocos cientos de nanómetros. El truco consiste, por tanto, en preparar un material tan fino como cien nanómetros, es decir, ¡mil veces más fino que un cabello! Las soluciones no son sencillas; evitar los artefactos sigue siendo un problema importante.

La limitada capacidad de penetración de los electrones acelerados es la razón principal por la que alrededor de 1970 varias empresas empezaron a desarrollar microscopios electrónicos con tensiones de aceleración más al-

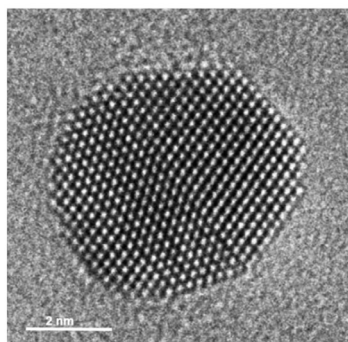
tas, ya que la profundidad de penetración aumenta con el incremento de la tensión. Los microscopios con una tensión de aceleración de hasta 1 millón de voltios no fueron una excepción, pero para la mayoría de los problemas la ganancia no era fantástica, lo que, junto al coste adicional y la menor estabilidad de estos instrumentos, hicieron que poco a poco volvieran a desaparecer del mercado.

En la década de 1970, la mayoría de los microscopios electrónicos alcanzaron una resolución subnanométrica... al menos para muestras no biológicas. También es la época en la que me inicié en la microscopía electrónica. A finales del siglo pasado, la resolución de los instrumentos más avanzados alcanzaba habitualmente la escala atómica, es decir, 0,1-0,2 nm, pero la interpretación de las imágenes no siempre era sencilla. La razón es que las lentes electromagnéticas, al igual que las ópticas, sufren todo tipo de aberraciones. La más importante es la aberración esférica, que significa que los electrones dispersados en la parte central de la lente y las partículas dispersadas en la parte exterior de la lente no se concentran en un punto. Obviamente, esto da lugar a una imagen borrosa y a artefactos. A principios de este siglo se introdujeron los primeros correctores de aberración esférica; se trata de un conjunto de *hardware* de diferentes lentes que compensa estas aberraciones. En 2009 instalamos el primer instrumento comercial con corrección de la aberración esférica en nuestro laboratorio de la Universidad de Amberes. También hay dos de estos instrumentos instalados aquí, en el LMA de la Universidad de Zaragoza. Estos instrumentos garantizan una resolución de hasta 50 picómetros (0,05 nm) y la interpretación de las imágenes plantea menos problemas. La diferencia en la obtención de imágenes sin y con corrección de la aberración esférica se ilustra claramente en la siguiente figura.

**Sin corrector**

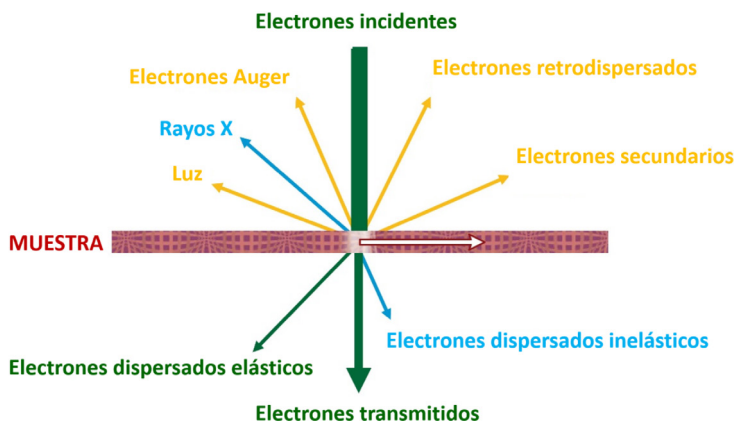


**Con corrector**



Hasta ahora nos hemos centrado en el poder de resolución del microscopio electrónico, pero este instrumento es mucho más que «una gran lupa». Para entenderlo, primero tenemos que centrarnos en los principios de la microscopía electrónica y explicar cómo podemos no solo localizar un átomo concreto en el espacio, sino también determinar su naturaleza e incluso el enlace con sus vecinos.

Al dirigir el haz de electrones acelerados hacia una muestra fina, se produce una interacción mecánica cuántica entre el haz de electrones y los átomos del material. Este haz de electrones puede dispersarse en un rango micrométrico o concentrarse en una región inferior a un nanómetro o incluso a la dimensión de un átomo. En ambos casos, sin embargo, podemos considerar la microscopía electrónica como una técnica muy local. Como los electrones se aceleran a 100 000 voltios o más, tienen una velocidad cercana a la de la luz y, por tanto, la mayoría de los electrones atraviesan el material delgado sin ninguna interacción ni pérdida de energía. Sin embargo, en el



caso de un material cristalino, algunos de ellos se dispersan elásticamente en ángulos muy concretos, dando lugar a la difracción de electrones, similar a la difracción de rayos X. Otros chocan con los átomos del material, pierden parte de su energía y generan rayos X específicos, luz, electrones Auger, electrones secundarios, electrones retrodispersados... Todas estas ondas y electrones salientes proporcionan información sobre el material iluminado por el haz de electrones. Los microscopios electrónicos modernos están equipados con accesorios adicionales que les permiten analizar la mayor parte de esta información. El microscopio electrónico es ahora un instrumento analítico completo y mucho más que la «gran lupa» del siglo pasado. Hoy en día se puede medir la composición química local hasta una escala atómica a través de los rayos X generados o de la pérdida de energía que han sufrido los electrones dispersados inelásticamente. Además de la composición, también se puede determinar el enlace entre átomos vecinos analizando la estructura fina de los electrones dispersados inelásticamente. En un material

de carbono puro, por ejemplo, se puede deducir con relativa facilidad si la estructura es de tipo diamante o grafito.

Otro punto delicado es el hecho de que la mayoría de las imágenes, como la anterior, dan la impresión errónea de que se ha alcanzado la resolución atómica. Sin embargo, nunca hay que olvidar que cada una de estas imágenes es una proyección bidimensional de un objeto tridimensional. Los puntos brillantes de la imagen son en realidad las posiciones de columnas de átomos vistas a lo largo de la dirección del haz de electrones entrante. Más adelante explicaremos cómo obtener información tridimensional (3D) a partir de varias imágenes bidimensionales (2D).

A día de hoy se pueden obtener imágenes de materiales hasta la escala atómica, determinar la composición de cada átomo y analizar su estado electrónico, pero siempre hay que tener en cuenta que todas las observaciones se realizan dentro del vacío del microscopio electrónico y bajo la irradiación con electrones acelerados. Estas circunstancias pueden influir en el comportamiento del material y producir resultados diferentes de su comportamiento en condiciones ambientales.

Por ello se han realizado grandes esfuerzos en el desarrollo de la microscopía electrónica *in situ*, tratando de imitar las condiciones ambientales. En esencia, esto significa que el estrecho espacio que rodea la muestra se convierte en un minilaboratorio. Calentar, enfriar y colar ya era posible desde hace bastante tiempo, pero recientemente se han introducido celdas cerradas para poder trabajar bajo diferentes presiones de gas de oxígeno, nitrógeno o hidrógeno. Incluso se pueden observar nanomuestras emergidas en líquido y seguir su comportamiento en función de la temperatura o bajo estimulantes eléctricos o magnéticos. De este modo, las reacciones químicas, por



ejemplo, las catalíticas, pueden seguirse *in situ* a escala submicrométrica. Sin embargo, la resolución atómica en estas condiciones todavía no es posible.

Esto hace que ahora la microscopía electrónica esté extendida por todo el mundo y que la mayoría de los grupos de investigación analítica en ciencias de los materiales, biociencias o ciencias médicas tengan acceso a un microscopio electrónico avanzado. En una época en la que se buscan dispositivos cada vez más pequeños o se analizan estructuras orgánicas complejas como proteínas o células cancerosas, la técnica ha ganado una enorme popularidad. Sin embargo, debido a su complejidad y a los posibles escollos en la interpretación de los resultados, la técnica sigue siendo una especialidad en sí misma. Esto es lo que hemos estado haciendo en nuestro grupo de investigación durante los últimos cinco decenios. Seguidamente presentaré una visión general de importantes descubrimientos que solo pudieron hacerse con la ayuda de la microscopía electrónica.

### **Análisis de defectos**

Hasta hace menos de un siglo, los científicos desconocían la presencia o la naturaleza de los defectos presentes en todos los materiales. En cambio, ahora estamos familiarizados con el hecho de que ningún material es perfecto y de que los defectos no solo están siempre presentes, sino que además rigen en gran medida las propiedades (mecánicas, químicas...) del material. Los distintos tipos de defectos incluyen defectos puntuales de dimensión cero, defectos unidimensionales como las dislocaciones, defectos bidimensionales o planares como los fallos de apilamiento y defectos tridimensionales (precipitados o vacantes).

Un buen ejemplo es nuestro material natural más fuerte: el diamante. La calidad de una piedra preciosa viene determinada no solo por su peso y su talla, sino también por su color y transparencia. El color es especialmente interesante. Cuando se descubrió, por microscopía electrónica, que el color de un diamante viene determinado por la presencia de dislocaciones y el número y la posición del nitrógeno en la red de carbono, surgió la idea de cambiar el color de un diamante irradiándolo y calentándolo, de modo que un diamante «barato» de color marrón o gris podía adoptar un color rosa o coñac... ¡y un precio más alto!

Otra contribución importante es el papel que ha desempeñado la microscopía electrónica en la optimización de varios aceros. El acero tiene una base de hierro, pero, por ejemplo, el acero inoxidable contiene cromo y carbono, además de otros elementos como manganeso, níquel o titanio. La microscopía electrónica permite localizar con exactitud todos estos elementos y determinar su papel en la resistencia del material.

## **Materiales basados en carbono**

Hasta 1985 solo se conocían dos formas de carbono: el diamante y el grafito. Pero entonces un grupo de científicos estadounidenses y británicos descubrió que 60 átomos de carbono pueden formar una molécula esférica muy estable; la llamaron «fullereno» en honor al arquitecto Buckminster Fuller, que ha estado trabajando con estructuras similares en la macroescala. En el grupo fuimos pioneros en la obtención de imágenes directas de cristales de *bucky balls* de  $C_{60}$  y  $C_{70}$  mediante microscopía electrónica. Esto no fue sencillo, ya que las moléculas son muy sensibles al haz de electrones de alta energía. Unos

años más tarde, S. Iijima descubrió que el carbono también puede formar nanotubos, ya sean de extremo abierto o cerrado; en el último caso, la esfera final se corresponde con medio fullereno. Estos nanotubos tienen una enorme resistencia, más de cien veces superior a la del acero, y son extremadamente ligeros y muy flexibles, lo que puede apreciarse claramente en la imagen que sigue. No es de extrañar que se utilicen en numerosos dispositivos de la vida cotidiana; por ejemplo, bicicletas de carreras o raquetas de tenis. Gracias a la microscopía electrónica pudimos desvelar el proceso de crecimiento de estos nanotubos de carbono (Science, 267, 1334-1338 (1995)), un mecanismo que impulsó la producción de nanotubos disponibles en el mercado.



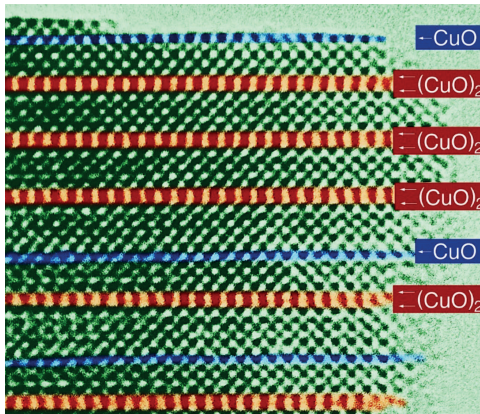
En 2004, Geim y sus colaboradores aislaron un único plano bidimensional de átomos de carbono formando una red hexagonal: el grafeno. El grafeno es extremadamente fino, muy resistente, transparente y conductor. Además, la conductividad puede ajustarse dopando el material, por ejemplo, con nitrógeno. Este descubrimiento ha dado un gran impulso a la industria de los semiconductores, sobre todo para las células solares, los circuitos fotónicos o las pantallas táctiles de los teléfonos inteligentes. También hay un enorme interés por utilizar el grafeno como material alternativo para los cátodos de las baterías de litio.

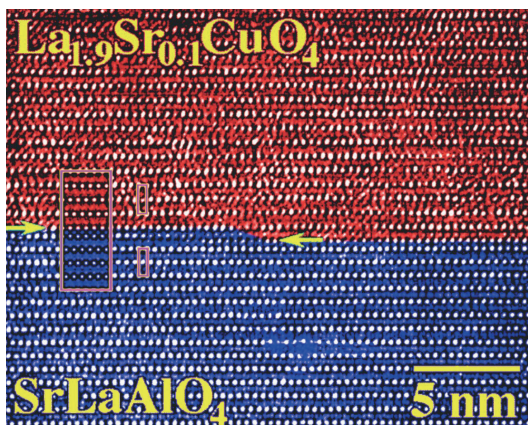
### **Superconductores de alta temperatura**

La superconductividad se conoce desde 1911, cuando K. Onnes descubrió que la conductividad del mercurio descendía repentinamente a cero a temperaturas en torno a los 4 K. Más tarde se descubrió el mismo efecto en varios compuestos intermetálicos, pero durante mucho tiempo la temperatura crítica se mantuvo por debajo de 23 K. Sin embargo, en 1986 Muller y Bednorz descubrieron que la superconductividad también puede darse en materiales cerámicos con temperaturas superiores a los mágicos 23 K. Esto creó un *boom* en el descubrimiento de nuevos superconductores y pronto la temperatura crítica de algunos compuestos se elevó por encima de 77 K, que es el punto de ebullición del nitrógeno líquido. En este momento, y desde hace varios años, la  $T_c$  más alta ronda los 130 K a presión atmosférica.

La microscopía electrónica ha desempeñado un papel crucial en el descubrimiento de nuevos superconductores. De hecho, la composición química de estos materiales es en su mayoría muy compleja; por ejemplo, Y-Ba-Cu-O o

Bi-Sr-Ca-Cu-O. En particular, la ubicación y el orden de los átomos de oxígeno son esenciales para la aparición de la superconductividad. Como el análisis de rayos X tiene una baja sensibilidad para el oxígeno en presencia de átomos más pesados, la microscopía electrónica es casi la única técnica para determinar la estructura local y analizar los (muchos) defectos de estos materiales. En particular, la presencia de defectos planares específicos ha permitido descubrir nuevos superconductores con temperaturas críticas más elevadas. En el famoso superconductor  $\text{YBa}_2\text{Cu}_3\text{O}_7$  (el primer superconductor con una temperatura crítica superior a la del nitrógeno líquido, 77 K) los planos superconductores de  $\text{CuO}_2$  siguen una secuencia regular (en rojo en la parte superior de la figura), pero a veces el plano de  $\text{CuO}_2$  es sustituido por otro de  $\text{CuO}$ . Si esto ocurre de forma regular (parte inferior de la figura) se forma un nuevo superconductor  $\text{Y}_2\text{Ba}_4\text{Cu}_7\text{O}_{15}$ . De esta manera, también descubrimos un nuevo superconductor de 110 K en el sistema Bi-Sr-Ca-Cu-O (Nature, 332, 620-623 (1988)).





Los nuevos materiales superconductores con temperaturas críticas superiores al punto de ebullición del nitrógeno líquido son tecnológicamente muy interesantes, ya que el coste de la refrigeración se reduce mucho al utilizar nitrógeno en lugar de helio. Sin embargo, el principal problema que dificulta su introducción en la tecnología es la fragilidad de estos materiales cerámicos. Por ello, los superconductores de capa fina son mucho más útiles para las aplicaciones tecnológicas y, por eso, los investigadores se centraron principalmente en esta tecnología. En tal sentido, fue muy importante que pudiéramos duplicar la temperatura crítica introduciendo tensión epitaxial entre un sustrato ( $\text{SrLaAlO}_4$ ) y una película delgada ( $(\text{La-Sr})\text{CuO}_4$ ) (Nature, 394, 453-456 (1998)). La diferencia en el parámetro de red entre la película y el sustrato obliga a la película fina a adoptar distancias interatómicas que no adoptaría en condiciones sin tensión. Estos minúsculos cambios de unos pocos picómetros parecen ser de suma importancia y determinan las propiedades superconductoras.

## **Mejorar y comprender el funcionamiento de las baterías de litio**

Un tema de máxima actualidad es la búsqueda de baterías de Li con un mayor rendimiento. En la actualidad se consumen más de medio millón de toneladas equivalentes de carbonato de litio al año y las previsiones apuntan a que esta cantidad se triplicará de aquí a 2025. La mayoría de los materiales para electrodos de Li más novedosos y eficientes sufren una caída de tensión al ciclar. Mediante una combinación de microscopía electrónica avanzada y espectroscopía de fotoelectrones de rayos X pudimos revelar que la migración de cationes entre las capas metálicas y las capas de Li es una característica intrínseca del proceso de carga-descarga pero que, desgraciadamente, también aumentan los iones metálicos atrapados en las caras tetraédricas intersticiales. Pudimos establecer claramente la correlación entre estos iones atrapados y el decaimiento del voltaje. El decaimiento más lento se produce, obviamente, para los cationes con mayor radio iónico. Nuestros hallazgos proporcionaron nuevas perspectivas para el desarrollo de electrodos estratificados de alta capacidad que evaden el decaimiento del voltaje (*Nature Materials*, 14, 230-238 (2015)).

En efecto, las baterías de iones de litio se basan en procesos redox catiónicos, que constituyen la principal fuente de energía de la electrónica portátil. La capacidad de estos materiales radica en las reacciones redox aniónicas, que se pensaba que formaban especies similares a los peroxos. Mediante microscopía electrónica avanzada en el modo STEM, combinada con espectroscopía de pérdida de energía de electrones, pudimos visualizar directamente la unión oxígeno-oxígeno. Fue un punto importante para comprender el proceso redox aniónico en estos materiales (*Science*, 250, 1516-1521 (2015)).

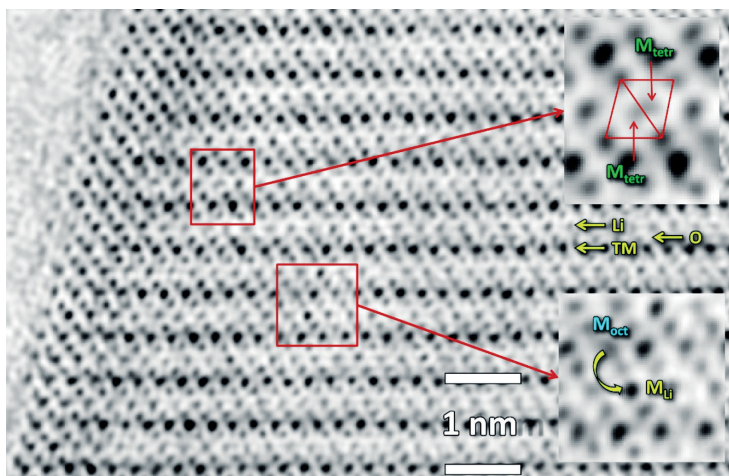


Imagen de resolución atómica de un material NMC rico en Li descargado a 2 V. El recuadro superior muestra un defecto puntual en el que un catión se encuentra en un vacío tetraédrico en lugar de en la posición octaédrica habitual. El recuadro inferior muestra la dirección de migración del catión M(et)al desde la capa  $Li_{1-x}M_{2+x}$  hacia una posición octaédrica adyacente (Chem. Mat., 29, 9923 (2017)).

## Imágenes en 3D

Cuando se quiere visualizar un objeto en 3D, es sabido que basta con girar el objeto en todas las direcciones para obtener una impresión tridimensional. Sin embargo, en un microscopio electrónico es un poco más complicado. La muestra yace sobre una rejilla plana de cobre recubierta de carbono y se aprieta dentro del estrecho espacio entre las lentes magnéticas. En condiciones normales, no es posible inclinarla más de  $360^\circ$ ; en el mejor de los casos, se puede inclinar de  $+70^\circ$  a  $-70^\circ$ . Evidentemente, esto deja una zona sin explorar, la llamada brecha de miscibilidad, que puede crear artefactos y dar lugar a información engañosa e incluso errónea. Por lo tanto, hay que



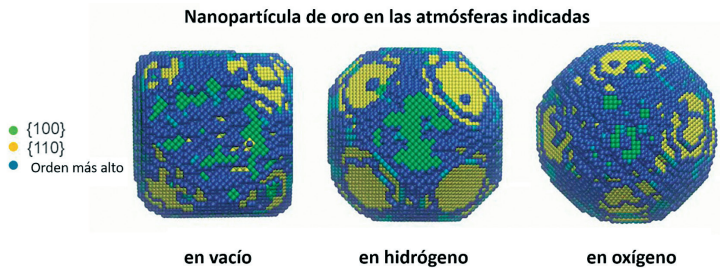
tener mucho cuidado al reconstruir el objeto 3D recogiendo varias imágenes 2D bajo diferentes ángulos; en la mayoría de los casos, unas pocas decenas. El límite de resolución de esta técnica está en el rango nanométrico y puede proporcionar información útil sobre la morfología de, por ejemplo, una nanopartícula.

Sin embargo, para obtener la resolución atómica de un material cristalino habrá que recoger imágenes a lo largo de diferentes ejes de zonas cristalográficas de bajo orden y reconstruir el espacio tridimensional a partir de un número muy limitado de imágenes bidimensionales. Hace unos diez años fuimos los primeros en presentar un método novedoso para reconstruir de este modo la estructura atómica de una nanopartícula en tres dimensiones (Nature, 470, 274-377 (2011)). Seguimos desarrollando la técnica que dio lugar a la ASTRA Toolbox, como plataforma abierta para la reconstrucción de imágenes 3D en tomografía electrónica. Proporciona bloques de construcción rápidos y flexibles que se pueden utilizar para desarrollar algoritmos de reconstrucción avanzados.

Durante los últimos diez años, esta técnica se ha perfeccionado aún más, de modo que ahora se pueden obtener imágenes 3D con resolución atómica en las que la relajación (desviación de los átomos de su posición normal) así como los planos de terminación de las nanopartículas pueden determinarse con precisión picométrica. Es bien sabido que las propiedades físicas de las nanoestructuras dependen del tipo de facetas superficiales. En el caso de los *nanorods* de Au, las facetas superficiales tienen una gran influencia en efectos cruciales como la reactividad y la adsorción de ligandos. Propusimos una metodología para medir la estructura atómica 3D de nanopartículas libres, que aplicamos para caracterizar las caras superficiales de *nanorods* de Au (Nature Materials, 11, 930-935 (2012)).

En fechas más recientes nos hemos centrado fundamentalmente en la presencia de quiralidad en materiales nanoestructurados, es decir, nanomateriales que carecen de simetría especular. La quiralidad en nanopartículas y nanoestructuras inorgánicas ha suscitado un interés científico cada vez mayor, debido a la posibilidad de ajustar su capacidad de interactuar de forma diferente con luz polarizada circularmente hacia la izquierda y hacia la derecha. En algunos casos, la actividad óptica tiene su origen en la morfología quiral del nanomaterial. Sin embargo, cuantificar el grado de quiralidad de los objetos nanométricos no es tarea fácil. La tomografía electrónica ofrece la posibilidad de recuperar fielmente la morfología tridimensional de los nanomateriales, pero solo se había demostrado una interpretación cualitativa de la morfología de las nanopartículas quirales. En el grupo desarrollamos una metodología que permite cuantificar la helicidad de nanomateriales quirales complejos. Un análisis a nivel de una sola partícula nos permitió conocer mejor el origen de la quiralidad y las propiedades quirópticas.

En un futuro próximo, nuestro grupo de investigación se va a centrar en la interacción entre nanopartículas metálicas quirales y materiales biológicos o moléculas quirales orgánicas. Algunas nanopartículas quirales inorgánicas exhiben una actividad óptica inusualmente elevada. Además, muestran una clara diferencia de actividad biológica en función de su lateralidad izquierda o derecha. Esto abre nuevas posibilidades para reproducir la actividad enantioselectiva de la contraparte bioquímica. Suena muy lógico, pero la comprensión de la quiralidad en los materiales nanoestructurados aún no está clara. Además, no es sencillo diseñar nanopartículas con geometrías predecibles o múltiples, similares a las enti-



dades biológicas. Tales partículas podrían ser muy interesantes y encontrar aplicaciones, por ejemplo, en el diagnóstico médico.

Uno de los problemas de esta investigación es el hecho de que la tomografía electrónica 3D precisa mucho tiempo y la obtención de resultados fiables de alta resolución puede requerir hasta varios días. Por supuesto, esto dificulta la reproducibilidad y la interpretación estadística de los resultados. Por ello, recientemente hemos desarrollado métodos para acelerar significativamente (hasta un factor de diez) el proceso de adquisición de datos y la subsecuente reconstrucción. Esto dará lugar a nuevos métodos para una recogida de datos más eficaz.

Otro problema importante es el hecho de que la mayoría de los trabajos de tomografía electrónica se realizan al vacío y es bien sabido que las reacciones superficiales entre las nanopartículas y las moléculas orgánicas o los biomateriales pueden ser muy diferentes cuando se exponen al aire o a un líquido, en lugar de al vacío.

En la imagen superior se muestran los resultados de la misma nanopartícula en el vacío, en una atmósfera de hidrógeno y en una atmósfera de oxígeno. Estas imágenes son el resultado de un análisis tridimensional completo hasta la escala atómica y cada punto representa un átomo.

mo individual. Es evidente que, dependiendo de la atmósfera, no solo cambia la forma de la partícula, sino que también se ven afectados los planos superficiales. Los distintos colores ilustran los diferentes planos superficiales (100) o (110).

Como aplicaciones prácticas se podría pensar en la interacción de las nanopartículas dentro del circuito sanguíneo del cuerpo humano. Está claro que aún queda mucho camino por recorrer, pero, teniendo en cuenta los progresos realizados en las últimas décadas, no parece irreal pensar que en un futuro próximo la microscopía electrónica pueda desentrañar la interacción entre nanopartículas con forma predeterminada con ciertas entidades biológicas. Estoy convencido de que esto podría suponer un gran avance en el tratamiento local de diversas enfermedades.

En cuanto al futuro de la microscopía electrónica en la ciencia de los materiales y los biomateriales, nos esperan enormes retos. Como se ha ilustrado a lo largo de esta exposición, la microscopía electrónica ha pasado de ser una gran lupa a convertirse en un auténtico minilaboratorio dentro del instrumento, capaz de proporcionar no solo información sobre la estructura (atómica) del material, sino también sobre su comportamiento ante cambios de temperatura, cambios ambientales, así como impulsos mecánicos o eléctricos externos. Seguro que esto no será el final de la historia y que se podrán realizar más miniopeaciones dentro del estrecho espacio entre las lentes del microscopio electrónico. Otro gran reto es el de extraer más información, que ahora nos resulta oculta, a partir de las interacciones haz de electrones - muestra, como la emisión de luz, electrones Auger o electrones secundarios.

# THE WORLD OF ATOMS

GUSTAAF VAN TENDELOO

The word “atom” dates back to the 5th century before Christ, when the Greek philosopher Democritus introduced it. His idea was that if you take a grain of sand and you divide it, you will eventually reach a point where you can not divide it any longer... That would be “the atom”, meaning literally “indivisible”. Actually, Democritus was not that wrong; atoms, as we know them now, are the building blocks of the whole universe. Only the scale of Democritus was wrong; the atom is much smaller than he could ever imagine. One grain of sand contains about  $10^{20}$  atoms! Of course, we all know that the atom is not a solid ball and that it consists of a positive nucleus and a number of negative electrons around it; but that idea was only launched at the end of the 19th century. Scientists like J.J. Thomson and Ernest Rutherford introduced it and Niels Bohr refined it. But irrespective of the fine structure of the atom, we confidently can consider the atoms as the building blocks of all materials, including living materials.

But why worry about elements that are so small that if one would make a chain of atoms, one would need about four million of them to reach a millimetre? Indeed, for centuries we lived in a macro technology. Even “automated” machines or instruments were in the best case made with millimetre precision. It is only during the last decennia, with the introduction of computers and related technology that things changed. Computer and chip technology has advanced so much that electronic circuits now approach the atomic level. Even to the extent that nanotechnology governs our life; we are helpless when our pc does not start up or when the server drops out. Applications such as artificial intelligence (AI) require more and more memory and faster switching. At this moment, different switching elements in the silicon matrix are separated by hardly a few hundred atoms. It is clear that to go beyond this limit we have to dig deeper into the world of atoms.

However, to understand this world of atoms, we have to be able to observe them. But, as stated, with the naked eye this is impossible. This of course has to do with the quality of our eyes that can only discern details larger than about 0.1 mm. The medium we use to observe the world around us is light. Light has a wavelength of the order of 0.4-0.7 micrometre (0.0004–0.0007 millimetre), which is of course very small, but the atom, with dimensions of about 0.2 nanometre (or 0.0002 micrometre) is still a factor of thousand smaller than the wavelength of light. This is the major reason why it is theoretically impossible to observe atoms using light as a medium; even with the best optical microscopes. The principle is similar to the observation of details in water. A water wave with dimensions of 1 meter is not distorted by a fly sitting on the water surface. The fly

remains invisible when studying the wave pattern. On the other hand, a rock with the same dimensions as the wave will distort the wave front and the rock will be visible in the wave pattern. Roughly speaking, one can say that one can never observe objects smaller than the wavelength of the medium. This all sounds very logical, but it was only at the end of the 19th century that Abbe mathematically stated that for any (optical) lens the resolving power is related to the wavelength of the medium and the numerical aperture. In air and for green light with the shortest wavelength, this would be approximately 0.25 micrometre (250 nanometre). This by far is not enough to detect atoms or even proteins (10 nm) or viruses (about 100 nm), but enough to image most biological cells that are in the micrometre range.

So up to the beginning of the 20th century, there was no hope to directly observe atoms, even with the best optical microscopes, making use of light sources. But in the 1920s Schrödinger, De Broglie and others developed quantum mechanics; they predicted and demonstrated that an accelerated particle could also behave as a wave... and vice versa. This way they could explain and predict the unexpected behaviour of materials at the sub-nanometre level. This was important for the development of the first electron microscope. Louis De Broglie clearly demonstrated that accelerated electrons can be associated with a wave character with wavelengths 1000 times smaller than the wavelength of light. This inspired Hans Busch to build an electromagnetic lens and prove that a magnetic field can deviate the electron beam.

Exactly these experiments inspired Ernst Ruska and Max Knoll to couple different electromagnetic lenses

and build in 1931 the first magnifying instrument that did not use light as an imaging medium. Although their first instrument only obtained a magnification of 17 times, it did show the principle and hardly two years later their instrument was able to beat the resolution of the optical microscope. The electron microscope was born!

However, their invention also faced several extra problems. A major drawback of using electrons instead of light is that electrons are easily absorbed in air and that electrons accelerated to a few thousand volts can severely damage the material; particularly biological or living materials. As a consequence, biologists, and in this case, the brother of Ernst Ruska, lost interest in the new tool as all biomaterials carbonised under the electron beam. Siemens company however saw the extra possibilities of this instrument, which resulted in the first commercial instrument in 1939; it had a resolution of 10 times better than the optical microscope. Particular interest now came from the metallurgical and inorganic side, as most of these materials resisted the vacuum as well as the electron irradiation. Another problem they faced is that accelerated electrons are easily absorbed in air and particularly in dense materials. Even accelerated to one hundred thousand volts they can only penetrate in a metal or ceramic up to a few hundred nanometre. The trick is therefore to prepare a material as thin as a hundred nanometre, which is a thousand times thinner than a hair! The solutions are not straightforward; avoiding artifacts still remains a major problem.

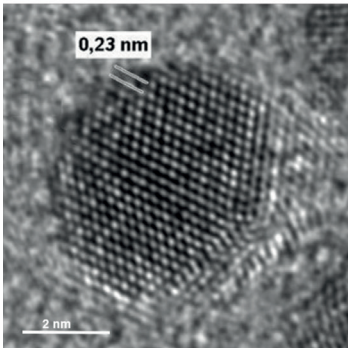
The limited penetration depth of accelerated electrons is the major reason why around 1970 several companies started developing electron microscopes with



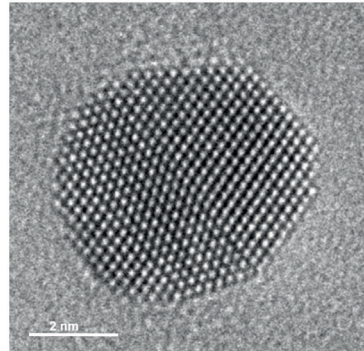
higher accelerating voltages, as the penetration depth increases with increasing voltage. Microscopes with an accelerating voltage up to 1 million volt were no exception, but for most problems, the gain was not fantastic and the extra cost and the reduced stability of these instruments made that they gradually disappeared again from the market.

In the 1970-ies most electron microscopes reached sub-nanometre resolution... at least for non-biological samples. This is also the period that I got first introduced to electron microscopy. At the end of the previous century, the resolution of the most advanced instruments routinely reached the atomic scale; i.e. 0.1-0.2 nm, but the interpretation of the images was not always straightforward. The reason being that electromagnetic lenses, similar to optical lenses, suffer from all kind of aberrations. Most important one being the spherical aberration, meaning that electrons scattered at the central part of the lens and particles scattered at the outer part of the lens are not focusing into one point. Obviously this gives rise to a blurred image and to artifacts. In the beginning of this century, the first spherical aberration correctors were introduced; this is a hardware assembly of different lenses that compensates for these aberrations. In 2009 we installed the first commercial spherical aberration-corrected instrument in our laboratory at the University of Antwerp. There are also two of such instruments installed here at LMA at the University of Zaragoza. These instruments guarantee a resolution down to 50 picometre (0.05 nm) and interpretation of the images causes fewer problems. The difference in imaging without and with spherical aberration correction is clearly illustrated in the figure below.

**Corrector off**

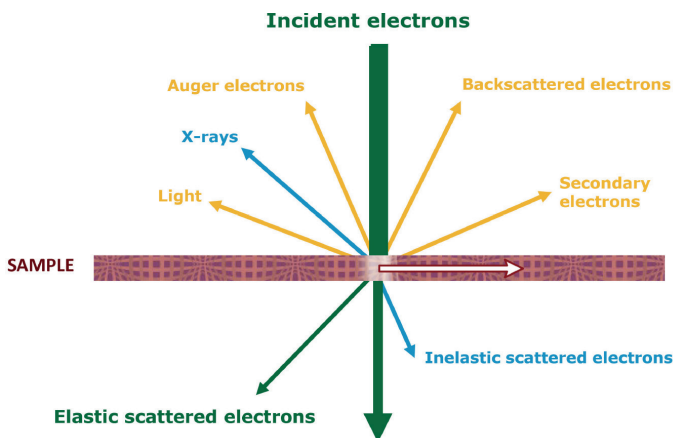


**Corrector on**



So far, we focused on the resolving power of the electron microscope, but this instrument is much more than “a big magnifying glass”! But to understand this, we first have to focus on the principles of electron microscopy and explain how we can not only locate a particular atom in space, but also determine its nature and even the bonding to its neighbours.

As the accelerated electron beam is directed towards a thin sample there is a quantum mechanical interaction between the electron beam and the atoms in the material. This electron beam can either be spread over a micrometre range or be focused on a region less than a nanometre or even the dimension of an atom. In both cases though, we can consider electron microscopy as a very local technique. As the electrons are accelerated to 100 000 Volt or more, they have a speed close to the velocity of light and therefore most of the electrons pass the thin material without any interaction or any energy loss. However, in the case of a crystalline material, a number of them are elastically scattered over very specific angles, giving rise to



electron diffraction, similar to X-ray diffraction. Others hit the atoms in the material, lose some of their energy and generate specific X-rays, light, Auger electrons, secondary electrons, backscattered electrons... All these outgoing waves and electrons provide information on the material illuminated by the electron beam. Modern electron microscopes are now equipped with extra accessories that allow them to analyse most of this information. The electron microscope is now a full analytical instrument and much more than the “big magnifying glass” of the previous century. One is now able to measure the local chemical composition down to an atomic scale through the generated X-rays or the energy loss that the inelastically scattered electrons have suffered. Apart from the composition, also the bonding between neighbouring atoms can be determined by analysing the fine structure of the inelastically scattered electrons. In a pure carbon material, for example, one can deduce relatively easily whether the structure is diamond-like or graphite-like.

Another tricky point is that most images, like the one above, give the wrong impression that one has reached atom resolution. However, one should never forget that every of these images is a two dimensional projection of a three dimensional object. The bright dots in the image are actually the positions of *columns of atoms* viewed along the direction of the incoming electron beam. Further in the text, we will explain how we can obtain 3D information from a number of 2D images.

One is now able to image materials down to the atomic scale, to determine the composition of every atom and to analyse their electronic state, but one always has to keep in mind that all observations are made inside the vacuum of the electron microscope and under the irradiation with accelerated electrons. These circumstances might influence the behaviour of the material and might produce results different from their behaviour under ambient conditions.

Therefore strong efforts have been made in the development of *in-situ* electron microscopy, trying to mimic environmental conditions. Essentially it means that the narrow space around the sample is turned into a mini laboratory. Heating, cooling and straining were already possible for a fairly long time, but recently closed cells have been introduced in order to work under different gas pressures of oxygen, nitrogen or hydrogen. Even nano samples emerged in liquid can be observed and their behaviour can be followed as a function of temperature or under electrical or magnetic stimulants. In this way chemical reactions, for example, catalytic reactions, can be followed *in-situ* on a sub micron scale. Atomic resolution under these conditions is still not possible though.

All this now makes that electron microscopy is spread worldwide and most analytical research groups in materials

science, bio-science or medical science have now access to an advanced electron microscope. In an age where one is hunting for smaller and smaller devices or analyse complex organic structures like proteins or cancer cells, the technique has gained enormous popularity. However, because of the complexity of the techniques and the possible pitfalls in the interpretation of the results, the technique remains a speciality in itself. This is what we have been doing in our research group over the last five decennia. What follows will be an overview of important discoveries that could only be made with the help of electron microscopy.

### **Defect analysis**

Until less than a century ago, scientists were unaware of the presence or the type of defects that occur in all materials. Now we are familiar with the fact that no material is perfect and that defects are not only always present, but that they also strongly govern the properties (mechanical, chemical...) of the material. Different types of defects are: zero dimensional point defects, one dimensional defects such as dislocations, two dimensional or planar defects such as stacking faults and three dimensional defects (precipitates or vacant clusters).

A good example is our strongest natural material: diamond. The quality of a gem stone is determined not only by its weight, and the way it is cut, but also by its colour and clarity. Particularly the colour is interesting. Once it was realised through electron microscopy that the colour of a diamond is determined by the presence of dislocations and the number and position of nitrogen in the carbon lattice, the idea came to change to colour of a diamond by irradiating and heating it such that a “cheap”

diamond with brown or grey colour could adopt a pink or cognac colour... and a higher price!

Another important contribution is the role that electron microscopy has played in the optimization of several steels. Steel is iron based, but e.g. stainless steel contains chromium and carbon, apart from different other elements such as manganese, nickel or titanium. Electron microscopy allows one to exactly locate all these elements and to determine their role in the strength of the material.

### **Carbon based materials**

Up to 1985 only two forms of carbon were known: diamond and graphite. But then a group of American and British scientists discovered that 60 carbon atoms can form a very stable spherical molecule; they called it “fullerene” after the architect Buckminster Fuller who has been working with similar structures at a macro scale. We could, as one of the first, directly image crystals of “bucky balls” of  $C_{60}$  and  $C_{70}$  through electron microscopy. This was not straightforward as the molecules are very sensitive to the high energy electron beam. A few years later S. Iijima discovered in this way that carbon can also form nanotubes; either open ended or close ended; in the latter case the ending sphere is a half fullerene. These nanotubes have enormous strength, more than a hundred times stronger than steel and they are extremely light and very flexible; this is clear from the image below. No surprise that they are used in numerous daily life devices; e.g. race bikes or tennis rackets. Through electron microscopy we were able to reveal the growth process of these carbon nanotubes (Science, 267, 1334–1338 (1995)); a mechanism that boosted the production of commercially available nanotubes.



In 2004 Geim and coworkers isolated a single two dimensional plane of carbon atoms forming an hexagonal network: graphene. Graphene is extremely thin, very strong, transparent and conducting. Moreover, the conductivity can be tuned by doping the material e.g. with nitrogen. This discovery created a boost in the semiconductor industry, particularly for solar cells or photonic circuit devices, or smartphone touch screens. Also for Li-battery materials there is enormous interest to use graphene as an alternative cathode material.

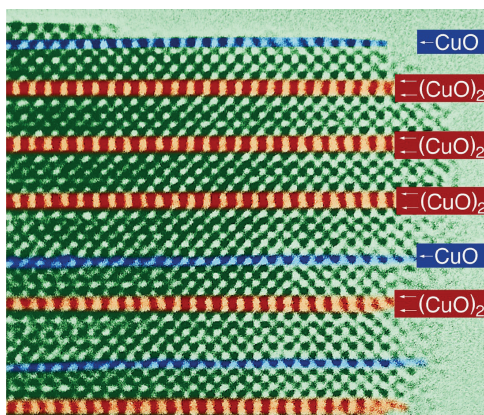
### **High temperature superconductors**

Superconductivity has been known since 1911, when K. Onnes discovered that the conductivity of mercury

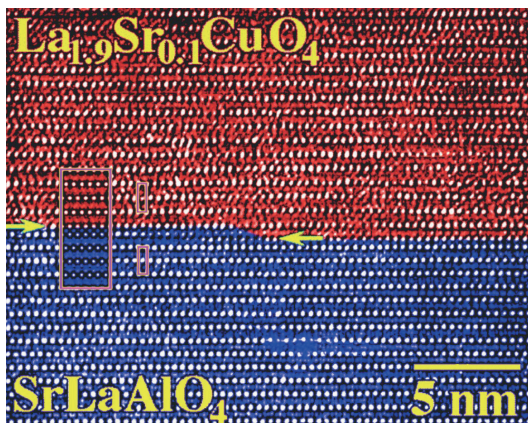
suddenly dropped to zero at temperatures around 4 K. Later the same effect was discovered on several intermetallic compounds, but for a long time, the critical temperature remained below 23 K. But in 1986 Muller and Bednorz discovered that superconductivity can also occur in ceramic materials with temperatures above the magic 23 K. This created a boom in the discovery of novel superconductors and soon the critical temperature of some compounds raised above 77 K, which is the boiling point of liquid nitrogen. At this moment, and since several years, the highest  $T_c$  is around 130 K at atmospheric pressure.

Electron microscopy has played a crucial role in the discovery of novel superconductors. Indeed the chemical composition of these materials is mostly very complex; e.g. Y-Ba-Cu-O or Bi-Sr-Ca-Cu-O. Particularly the location and the ordering of the oxygen atoms are essential for the appearance of superconductivity. As X-ray analysis has a low sensitivity for oxygen in the presence of heavier atoms, electron microscopy is about the only technique to determine the local structure and to analyse the (many) defects in these materials. Particularly the presence of specific planar defects lead to the discovery of new superconductors with higher critical temperatures. In the famous  $\text{YBa}_2\text{Cu}_3\text{O}_7$  superconductor (the first superconductor with a critical temperature above liquid nitrogen temperature of 77 K) the superconducting  $\text{CuO}_2$  planes follow a regular sequence (red in the top part of the figure) but sometimes the  $\text{CuO}_2$  plane is replaced by a  $\text{CuO}$  plane. If this occurs in a regular way (bottom part of the figure) a novel superconductor  $\text{Y}_2\text{Ba}_4\text{Cu}_7\text{O}_{15}$  is formed. In this way, we also discovered a novel 110 K superconductor in the Bi-Sr-Ca-Cu-O system (Nature, 332, 620–623 (1988)).



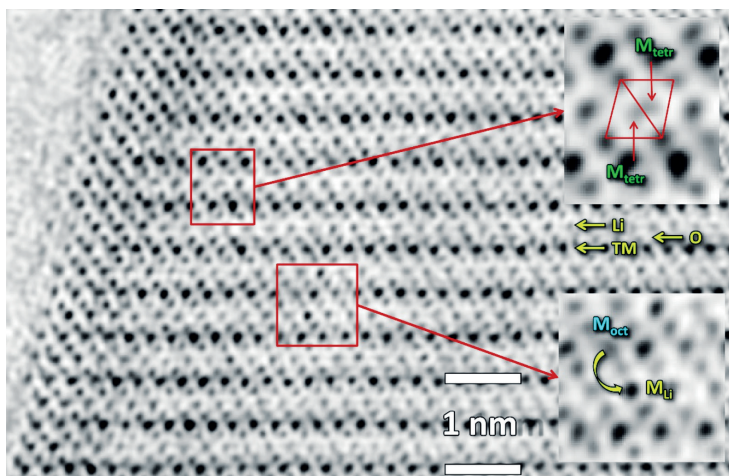


New superconducting materials with critical temperatures above the boiling point of liquid nitrogen are technologically very interesting, as the cost of cooling is much reduced by using nitrogen instead of helium. The main problem hampering their introduction in technology though is the fragility of these ceramic materials. Therefore thin film superconductors are much more useful for technological applications and therefore researchers mainly focused on this technology. In this respect, it was extremely important that we were able to double the critical temperature by introducing epitaxial strain between a substrate ( $\text{SrLaAlO}_4$ ) and a thin film  $(\text{La-Sr})\text{CuO}_4$  (Nature, 394, 453–456, (1998)). The difference in lattice parameter between film and substrate forces the thin film to adopt interatomic distances that it would not do under unstrained conditions. These tiny changes of a few picometer apparently are of uttermost importance and determine the superconducting properties.



### Improving and understanding the working of Li-based batteries

An extremely hot topic is the search for better performing Li-based batteries. At this moment more than half a million tonnes of Li carbonate equivalent are consumed every year and the prognoses are such that this amount will triple by 2025. Most of the novel and more efficient Li based electrode materials suffer from a voltage decay upon cycling. Through a combination of advanced electron microscopy and X-ray photoelectron spectroscopy we could reveal that the migration of cations between the metal layers and the Li-layers is an intrinsic feature of the charge-discharge process but that – unfortunately – also increases the trapping of metal ions in the interstitial tetrahedral sites. We could clearly establish the correlation between these trapped ions and the voltage decay. The slowest decay obviously occurs for the cations with the largest ionic radius. Our



Atomic resolution image of a Li-rich NMC material discharged to 2 V. The top inset shows a point defect where a cation is located in a tetrahedral void instead of the regular octahedral position. The lower inset shows the migration direction of the M(etal) cation from the  $\text{Li}_{1-x}\text{M}_{2+x}$  layer toward an adjacent octahedral position (Chem. Mat., 29, 9923 (2017)).

findings provided new insights into the development of high-capacity layered electrodes that evade voltage decay (Nature Materials, 14, 230–238 (2015)).

Li-ion batteries indeed rely on cationic redox reactions that are the primary energy source for portable electronics. The capacity of these materials is nested in the anionic redox reactions, which were thought to form peroxy-like species. Through advanced electron microscopy in the STEM mode, combined with electron energy loss spectroscopy we were able to directly visualise the oxygen-oxygen bonding. It was a major point in understanding the anionic redox process in these materials (Science, 250, 1516–1521 (2015)).

### 3D imaging

When one wants to visualise a 3D object, it is common knowledge that one only has to turn the object in all different directions to obtain a 3D impression. Inside an electron microscope it is a bit more complicated though. The sample is lying on a flat carbon coated copper grid and is squeezed inside the narrow gap between the magnetic lenses. Under normal conditions tilting over  $360^\circ$  is not possible; in the best case one can tilt from  $+70^\circ$  to  $-70^\circ$ . This obviously leaves an unexplored range, the so called miscibility gap, that can create artifacts and give rise to misleading and even wrong information. Therefore, one has to be very careful to reconstruct the 3D object by collecting a number of 2D images under different angles; mostly a few tens. The resolution limit of this technique is in the nanometre range and can provide useful information on the morphology of e.g. a nanoparticle.

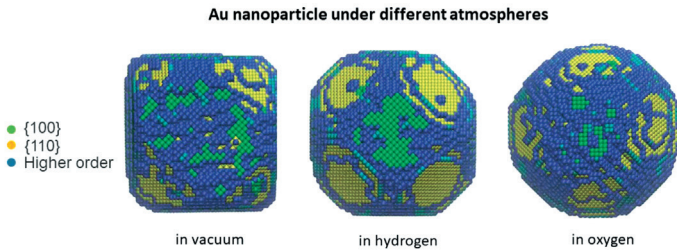
However in order to obtain atomic resolution of a crystalline material one will have to collect images along different low order crystallographic zone axes and reconstruct the 3D space from a very limited number of 2D images. About ten years ago we were the first to present a novel method to reconstruct the atomic structure of a nanoparticle in three dimensions in this way (Nature, 470, 274–377 (2011)). We further developed the technique that resulted in the ASTRA Toolbox, as an open platform for 3D image reconstruction in electron tomography. It provides fast and flexible building blocks that can be used to develop advanced reconstruction algorithms.

During the last ten years, this technique was further refined, so that now one is now able to obtain 3D images at atomic resolution where the relaxation (deviation of atoms from their normal position), as well as the terminating

planes of nanoparticles, can be determined with picometre precision. It is well known that the physical properties of nanostructures depend on the type of surface facets. For Au nanorods, the surface facets have a major influence on crucial effects such as reactivity and ligand adsorption. We proposed a methodology to measure the 3D atomic structure of free-standing nanoparticles, which we apply to characterize the surface facets of Au nanorods (Nature Materials, 11, 930–935 (2012)).

Recently we very much focused on the presence of chirality in nano structured materials i.e. nanomaterials lacking mirror symmetry. Chirality in inorganic nanoparticles and nanostructures has gained increasing scientific interest, because of the possibility to tune their ability to interact differently with left- and right-handed circularly polarized light. In some cases, the optical activity is hypothesized to originate from a chiral morphology of the nanomaterial. However, quantifying the degree of chirality in objects in the nanometre range is far from straightforward. Electron tomography offers the possibility to faithfully retrieve the three-dimensional morphology of nanomaterials, but only a qualitative interpretation of the morphology of chiral nanoparticles had been demonstrated. We introduced a methodology that enables us to quantify the helicity of complex chiral nanomaterials. An analysis at the single particle level allowed us to gain significant insight into the origin of chirality and the chiroptical properties.

In the near future our research group will focus on the interaction between chiral metal nanoparticles and biological materials or organic chiral molecules. Some inorganic chiral nanoparticles display an unusually high optical activity. Moreover, they show a clear difference in biological activity depending on their left or right



handedness. This opens new possibilities to reproduce the enantioselective activity of the biochemical counterpart. It sounds very logical, but the understanding of chirality in nanostructured materials is still not clearly understood. Moreover, it is not straightforward to design nanoparticles with predictable or multiple geometries, similar to biological entities. Such particles could be highly interesting and find applications in e.g. medical diagnostics.

One of the problems in this research is the fact that 3D electron tomography is very time consuming and obtaining reliable high resolution results may require up to several days. This of course hampers reproducibility and statistical interpretation of the results. Therefore we recently developed methods to significantly accelerate (up to a factor of ten) the acquisition and the reconstruction process. This will further lead to new methods for more efficient data collection.

Another major problem is the fact that most electron tomography work is done under vacuum and it is well known that surface reactions between nanoparticles and organic molecules or biomaterials might be significantly different when exposed to air or liquid, rather than in vacuum.

In the image above we show results of the same nanoparticle in vacuum, in a hydrogen atmosphere and

in an oxygen atmosphere. These images are the result of a complete 3D analysis down to atomic scale and every dot represents an individual atom. It is clear that depending on the atmosphere not only the shape of the particle changes, but also the surface planes are affected. The different colours illustrate the different surface planes (100) or (110).

As practical applications one might think about the interaction of nanoparticles within the blood circuit of the human body. It is clear that there still is a long way to go, but taking into account the progress that has been made over the last decades, it does not sound unrealistic to think that within the near future electron microscopy might unravel the interaction between nanoparticles with predetermined shape and biological identities. I am convinced that this could be a major breakthrough in the local treatment of a number of diseases.

As to the future of electron microscopy in materials science as well as in bio-science there are enormous challenges ahead of us. As illustrated above, electron microscopy has evolved from a big magnifying glass into a real mini laboratory inside the instrument, able to provide not only information about the (atomic) structure of the material, but also about its behaviour under temperature change, environmental change or under external mechanical or electrical impulses. For sure this will not be the end of the story and more mini operations will become feasible within the narrow gap between the lenses of the electron microscope. Another challenge is to extract more information hidden in the alternative electron beam-sample interactions such as the emission of light, Auger electrons or secondary electrons.