

# Structuurvorming in hiërarchische hybride materialen met behulp van cryo-elektronentomografie en vloeistofelektronenmicroscopie

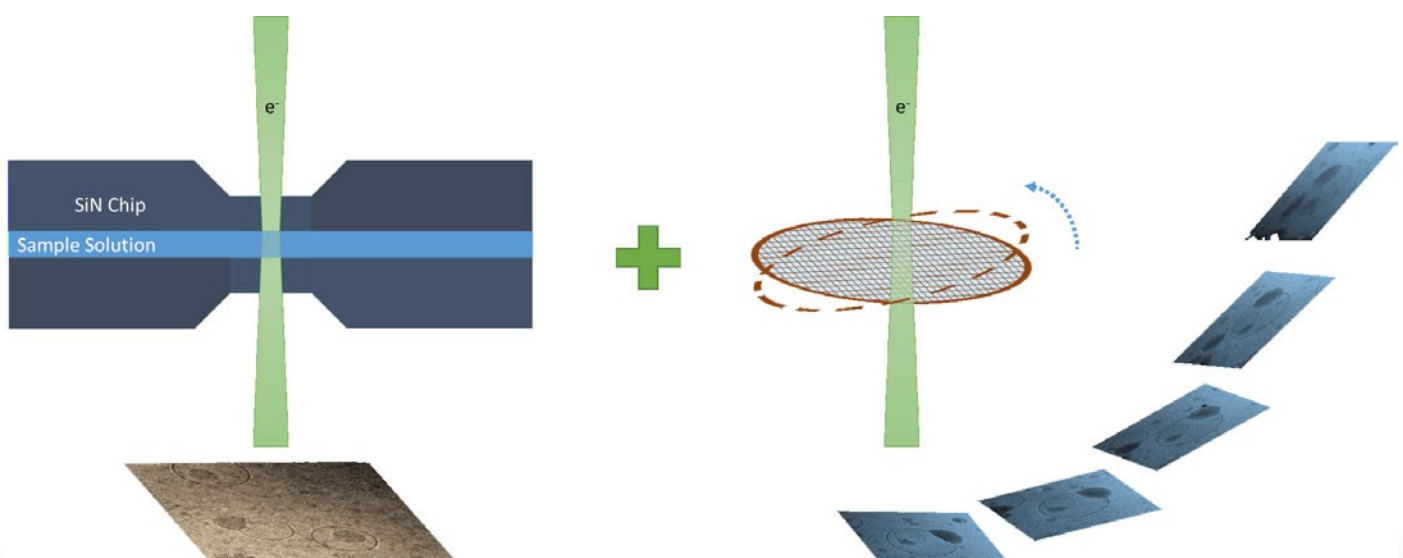
## Inleiding

Zowel biologische hiërarchische materialen als veel synthetische materialen worden gevormd in water. In dit soort omgevingen worden deze materialen gevormd door middel van dynamische processen: nucleatie, zelfassemblage en kristalgroei. Aangezien de meeste materialen een complexe 3D-structuur hebben, de bouwstenen klein zijn en in oplossingen snel migreren, zijn er maar weinig technieken waarmee we op nanoniveau inzicht kunnen krijgen in de vormingsmechanismen. Dankzij recente ontwikkelingen in vloeistofelektronenmicroscopie (LPEM) en cryo-elektronentomografie (cryo-ET, 3D-cryo-TEM) zijn we echter beter in staat om de synthese van materialen in oplossingen te bestuderen op verschillende niveaus (De Yoreo et al. 2016; Patterson et al. 2017). De twee technieken leveren complementaire informatie op: bij LPEM kan een video gemaakt worden van de materiaalvor-

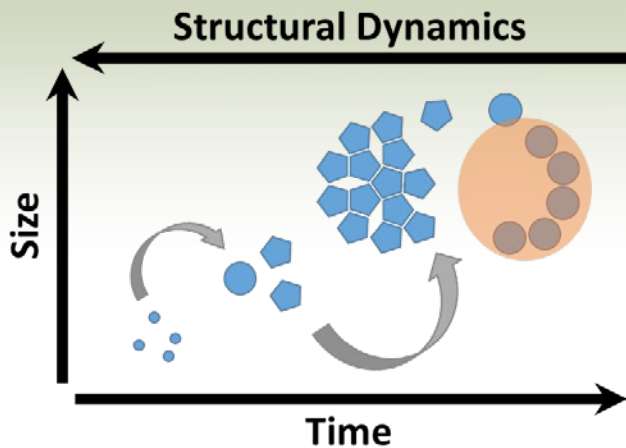
ming maar is er weinig controle over de omgevingscondities. Bij cryo-ET staan de omgevingscondities daarentegen vast en is het resultaat een 3D-analyse met hoge resolutie. Deze twee technieken kunnen worden gecombineerd om verschillende materiaalsystemen te analyseren, zoals biologische materialen, composietfilms, vesikels, macromoleculen en nanodeeltjes. Op dit moment kan de vorming van hiërarchische hybride materialen het meest gedetailleerd worden geanalyseerd door een tijdsgeresolveerd cryo-ET-experiment te combineren met een LPEM-experiment op siliciumnitride (SiN)-vloeistofchips of in grafeenvloeistofcellen.

## Tijdsgeresolveerde cryo-elektronentomografie

Bij een algemeen cryo-TEM-experiment wordt een dunne gevitricificeerde laag van een oplossing of dispersie bestudeerd. Hierbij worden de processen stopgezet door een dunne vloe-



Figuur 1. Schematische weergave van een vloeistofelektronenmicroscopie-experiment op een SiN-chip (links) en een verzameling van 2D-projecties van een gevitricificeerd monster op een TEM-grid vanuit verschillende rotatiehoeken (rechts), waarmee een 3D-model van bestaande objecten kan worden gemaakt bij cryo-elektronentomografie



**Figuur 2.** Schematische weergave van een meerschichtig zelfassemblageproces van primaire deeltjes via materiaalblokvorming tot macrokristallen of ruimtelijk beperkte organisaties, waarbij de structuurdynamiek wordt gekoppeld aan de evolutie van grootte en de tijdsresolutie die relevant is voor dit onderzoek. Geïnspireerd op (Dey et al. 2010)

stoflaag op een koperen rooster onder te dompelen in een geschikte koelvloeistof. Op deze manier worden de onderzochte objecten gefixeerd in een vaste amorse laag van het oplosmiddel. De gevitricificeerde laag mag maximaal 100 nm dik zijn, zodat de laag elektronen transparant is. Door de vitrificatie is een tijdsgeresolveerde monsterpreparatie van de reactieoplossing mogelijk met een effectieve resolutie van enkele seconden. Door de processen stop te zetten, kan de 3D-structuur worden bepaald met behulp van cryo-ET. Hierbij wordt een 3D reconstructie van het bestudeerde volume gemaakt uit een

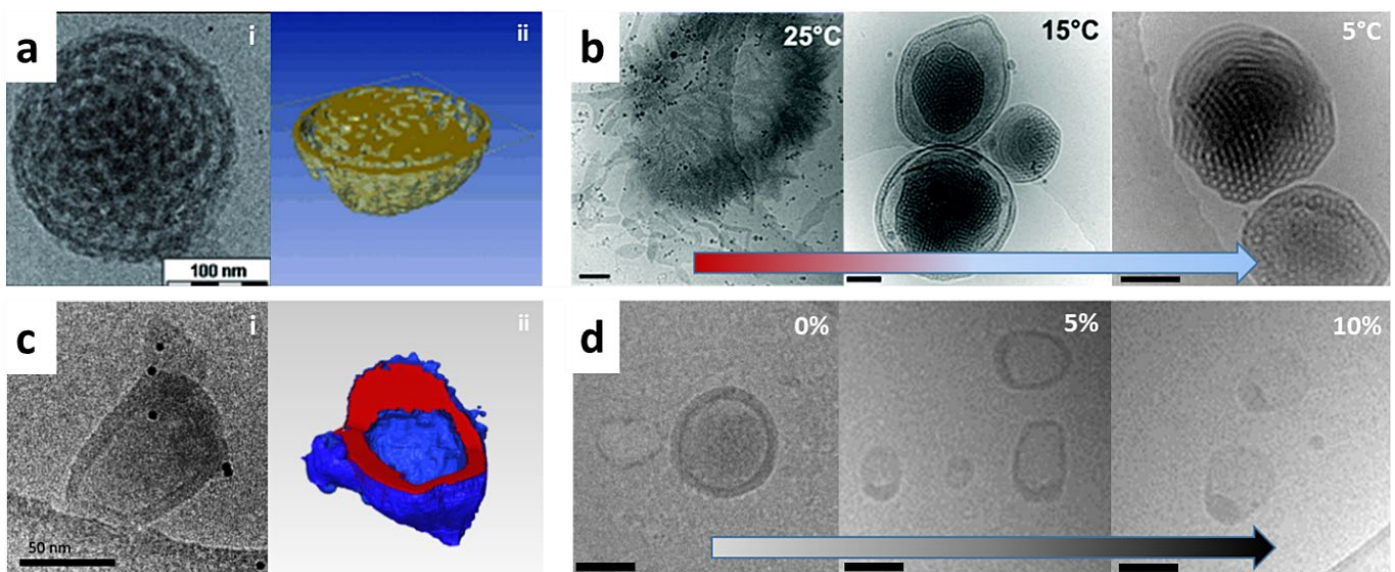
reeks afbeeldingen van hetzelfde object opgenomen vanuit verschillende rotatiehoeken (Nudelman et al. 2011). Bij tijdsgeresolveerde cryo-ET is het vaak lastig om de complexe morfologische overgangen te volgen in macromoleculaire materialen of systemen die bestaan uit meerdere onderdelen. Dit geldt met name voor disperse systemen waarbij de evolutie niet bij elk deeltje gelijk is (zie Figuur 2). In deze situaties is LPEM een geschikte analysemethode om te combineren met cryo-ET.

**Vloeistofelektronenmicroscopie**

LPEM biedt inzicht in de dynamiek van materiaalsynthese door de nucleatie, groei en zelfassemblage te beheersen door middel van het mengen van reagentia, stralingsgeïnduceerde depositie of thermisch geïnduceerde reacties. LPEM vult de gaten van cryo-ET-experimenten op doordat de processen in de sub-micronvloeistoflaag kunnen worden geobserveerd en de structuur en compositie kunnen worden geanalyseerd (De Yoreo & N.A.J.M. Sommerdijk, 2016). Hoewel de ruimtelijke resolutie van LPEM niet vergelijkbaar is met cryo-TEM-experimenten, is de tijdsresolutie bijvoorbeeld wel hoger dan bij atoomkrachtmicroscopie (AFM). Waarbij alleen de processen op het oppervlak geanalyseerd kunnen worden. LPEM ontwikkelt zich ook snel vanuit een scheikundig-technologisch perspectief. Dankzij nieuwe cel-/chipontwerpen kan deze techniek bijvoorbeeld worden gebruikt om chemische nanoreactoren met microfluidische in- en uitvoerkanalen te bestuderen.

**Controle en synthese van complexe polymeerstructuren**

Cryo-ET kan belangrijke informatie opleveren met betrekking tot de structuur en, tot op zekere hoogte, de vorming van synthetische macromoleculaire systemen. Hoewel cryo-TEM



**Figuur 3.** (a) Een 2D-cryo-TEM-beeld (i) en een 3D-weergave (ii) van een poly[norborneenoligo(ethyleenoxide)]-b-[polynorborneen-GLF-peptide] bicontinuu nanodeeltje en (b) een reeks cryo-TEM-beelden tijdens het afkoelen van PEO-b-PODMA-dispersies. (c) Een cryo-TEM-beeld (i) en een 3D-weergave (ii) van een uitstekend polymeervesikel, gevormd door de polymerisatie van ethyleenglycoldimethacrylaat (EGDMA) in/op een surfactantvesikelmembraan door middel van levende radicaalpolymerisatie. (d) Een reeks 2D-cryo-TEM-beelden waarop de invloed van verschillende gewichtspercentages van EDGMA in de monomeercompositie op de resulterende nanocapsules te zien is. (a) is overgenomen van (Parry et al. 2008) met toestemming van WILEY-VCH. (b) is herdrukt met toestemming van (McKenzie et al. 2010), copyright 2018, American Chemical Society. (c, d) zijn herdrukken van (Moradi et al. 2018) met toestemming van Elsevier

inmiddels vaak wordt gebruikt om organische zelfgeassembleerde structuren te karakteriseren, is cryo-ET een relatief nieuwe onderzoeksmethode voor niet-biologische materialen. Een van de eerste voorbeelden hiervan is het onderzoek naar bicontinue polymeer-nanodeeltjes (Figuur 3a) (McKenzie et al. 2010; Parry et al. 2008; McKenzie et al. 2015). Hierbij is gebruikgemaakt van cryo-ET om het vormingsproces te bestuderen van de bicontinue structuren van tripeptidebevattende amfilische dubbelgekamde di-blokcopolymeren en het blokcopolymeer poly(ethyleenoxide)-b-poly(octadecylmethacrylaat) (PEO-b-PODMA). Daarnaast is cryo-TEM gebruikt om de verschillende stadia van het polymeerassemblageproces in kaart te brengen onder variërende oplosmiddelcomposities en temperaturen. Dit onderzoek toonde aan dat de bicontinue aard van deeltjes tegen de verwachtingen in niet wordt veroorzaakt door een veranderende oplosmiddelcompositie, maar door een omkeerbare temperatuurtransitie in puur water (nadat het organische oplosmiddel volledig is verwijderd) (McKenzie et al. 2016).

Cryo-ET is ook gebruikt om de vorming van hybride surfactantpolymeervesikels te bestuderen. Hierbij werd de evolutie van de vesikelstructuur bepaald door de compositie van monomeren te veranderen tijdens een levende radicaalpolymerisatie aan de surfactantvesikeloppervlakte (Figuur 3b) (Moradi et al. 2018). Dit onderzoek naar de evolutie van uitstekende nanocapsule morfologieën met verschillende diffusie-eigenschappen

tijdens levende radicaalpolymerisatie van monomeer mengsels met verschillende hydrofobiciteiten en reactiesnelheden op de surfactantvesikeloppervlakte laat goed zien wat de voordelen zijn van cryo-ET bij materiaal synthese. Het is essentieel om gedetailleerd inzicht te krijgen in deze processen, zodat deze informatie kan worden gebruikt voor toekomstig onderzoek naar de synthese van complexe morfologieën.

## Onderzoek naar polymeergecontroleerde mineralisatievorming

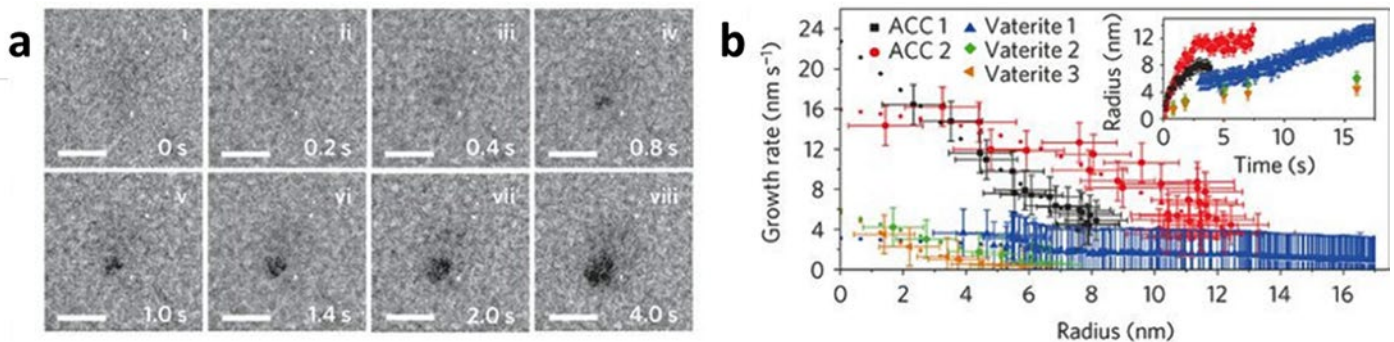
In veel biomineralisatiesystemen worden de nucleatie en groei van verschillende kristallijne fasen aangestuurd door macromoleculaire clusters (Veis & Dorvee 2013). Geladen biopolymeren spelen een rol bij de stabilisatie van amorphe precursorfasen waaruit de meeste van deze kristallijne biomineralen gevormd worden (Xu et al. 2018). Het is echter nog onduidelijk hoe de polymeren het biomineralisatieproces sturen. Dit komt gedeeltelijk doordat het erg lastig is om biomimetische mineralisatiesystemen te bestuderen met een temporele en ruimtelijke resolutie die hoog genoeg is. Een interessant voorbeeld hiervan is het onderzoek naar de nucleatie en groei van  $\text{CaCO}_3$  in een matrix van polystyrensulfonaat (PSS) met behulp van LPEM (Figuur 4). Hieruit bleek dat de binding van calciumionen, die Ca-PSS-globulen vormen, een essentiële stap is bij de vorming van metastabiël amorf calciumcarbonaat (ACC) (Smeets et al. 2015). Bij dit onderzoek werd de deeltjesontwikkeling over tijd geanaly-

seerd om kinetische informatie over de reactie te verkrijgen. Met behulp van deze informatie kon het vormingsmechanisme worden bepaald. Het belangrijkste resultaat van dit onderzoek was dat ionenbinding een significante rol kan spelen bij het aansturen van de nucleatie, onafhankelijk van de controle over de vrije-energiebarrière tijdens nucleatie. Dankzij deze informatie beschikken biologen over een nieuw hulpmiddel om groeifasen te manipuleren.

## Conclusie

Het begrijpen van de materiaalvormingsprocessen in en uit oplossingen/dispersies is een gecompliceerde maar essentiële taak binnen de materiaalchemie. Cryo-ET kan worden gebruikt om de structurele evolutie te bestuderen van een groot aantal materialen onder verschillende omstandigheden, zoals opwarming/koeling of de interactie met reagerende monomeren. De combinatie van cryo-ET met LPEM kan erg nuttig zijn bij kinetisch onderzoek naar dit soort transformaties. Daarnaast zorgen deze twee technieken samen voor een beter inzicht in de evolutie van nanostructuren.

**Mohammad-Amin Moradi, Mark M.J. van Rijt en Nico A.J.M. Sommerdijk, Materials and Interface Chemistry, Department of Chemical Engineering and Chemistry, Eindhoven University of Technology.**



**Figuur 4.** (a) Reeks beelden 45 minuten na diffusie van  $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$ , waarop de initiële nucleatie en groei van een  $\text{CaCO}_3$ -deeltje in of op een primaire Ca-PSS-globule te zien is binnen een periode van 4 seconden (i-viii) (ACC 1; schaalbalken van 20 nm). (b) Geëxtrapoleerde groeisnelheden tegen de gemiddelde radius van twee ACC-deeltjes (ACC 1 en 2 met PSS), vergeleken met die van drie vaterietdeeltjes (zonder PSS). (a, b) zijn herdrukken van (Smeets et al. 2015) met toestemming van de Nature Publishing Group

Een deel van dit onderzoek is uitgevoerd in het kader van het 4TU.High-Tech Materials-onderzoeksprogramma 'New Horizons in designer materials' ([www.4tu.nl/htm](http://www.4tu.nl/htm)). De projectpagina vindt u hier:

<https://www.4tu.nl/htm/en/new-horizons/understanding-structure-formation/>

[m.a.moradi@tue.nl](mailto:m.a.moradi@tue.nl)

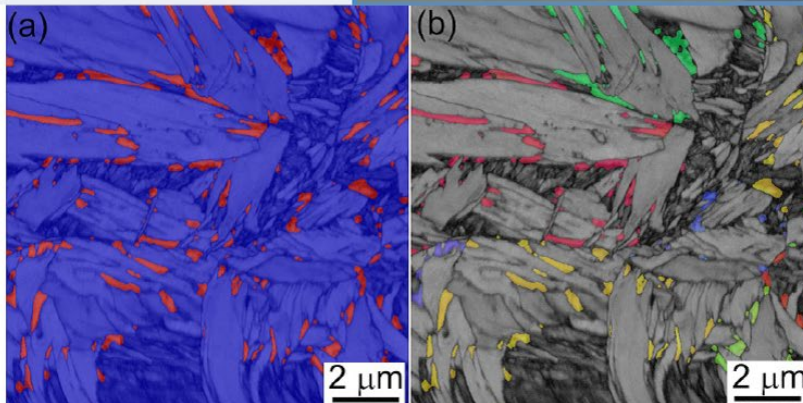
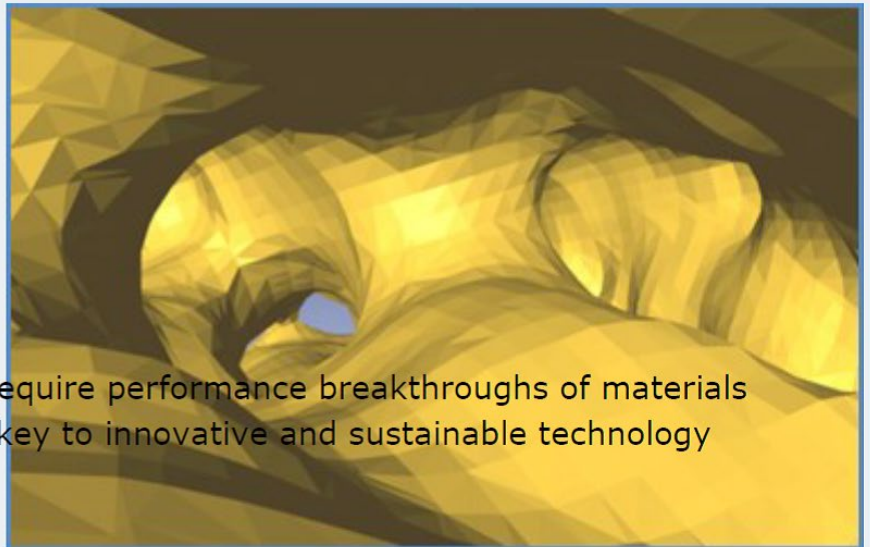
## Referenties

- Dey, A., de With, G. & Sommerdijk, N.A.J.M., 2010. *Chemical Society Reviews*, 39(2), pp. 397–409.
- McKenzie, B.E. et al., 2015. *Angewandte Chemie (International ed. in English)*, 54(8), pp.2457–61.
- McKenzie, B.E. et al., 2010. *Journal of the American Chemical Society*, 132(30), pp.10256–9.
- McKenzie, B.E. et al., 2016. *Soft Matter*, 12(18), pp.4113–4122.
- Moradi, M.-A. et al., 2018. *European Polymer Journal*, 108, pp.329–336.
- Nudelman, F., de With, G. & Sommerdijk, N.A.J.M., 2011. *Soft Matter*, 7(1), pp.17–24.

- Parry, A.L. et al., 2008. *Angewandte Chemie*, 120(46), pp.8991–8994.
- Patterson, J.P. et al., 2017. *Accounts of Chemical Research*, 50(7), pp.1495–1501.
- Smeets, P.J.M. et al., 2015. *Nature Materials*, 14, p.394.
- Veis, A. & Dorvee, J.R., 2013. *Calcified tissue international*, 93(4), pp.307–315.
- Xu, Y. et al., 2018. *Nature Communications*, 9(1), p.2582.
- De Yoreo, J.J. & Sommerdijk, N.A.J.M., 2016. *Nature Reviews Materials*, 1(8), p.16035.

# 4TU.HTM

Technological breakthroughs require performance breakthroughs of materials  
High-Tech materials form the key to innovative and sustainable technology



[www.4tu.nl/htm](http://www.4tu.nl/htm)  
 @4TU\_HTM

4TU.HTM Research Programme *New Horizons in Designer Materials* | Visibility of Materials Science and Engineering | Annual symposium *Dutch Materials* | Summer Schools & Graduate Courses | 4TU.Joint Materials Science Activities