# 先進 TEM 試片製備技術:液態 穿透式電子顯微鏡試片開發與發 展

Advanced Transmission Electron Microscope Specimen Preparation Technology: Manufacturing and Development of Liquid Cell TEM Specimens

陳睿遠、黃浚瑋、吳文偉 Jui-Yuan Chen, Chun-Wei Huang, Wen-Wei Wu

本文探討液態穿透式電子顯微鏡 (liquid transmission electron microscopy, LCTEM) 技術的發展與應用。LCTEM 克服傳統 TEM 僅能觀察固態樣品的限制,為材料科學、生物醫學等領域帶來全新機遇。本文除了介紹 LCTEM 試片的演進,包括解析度、密封性與操作便利性的改良,亦重點的介紹本團隊開發的一體成型 LCTEM 試片。透過氧化鋅奈米線與金一氧化亞銅核殼奈米晶體的生長研究,展示 LCTEM 在材料科學中的應用潛力。最後,我們探討LCTEM 技術面臨的挑戰與其未來發展方向。

The development and applications of liquid transmission electron microscopy (LCTEM) technology are discussed in this article. The LCTEM overcomes the limitation that traditional TEM can only observe solid samples, bringing new opportunities to the fields such as materials science, biomedicine, and other fields. This article not only introduces the development of LCTEM samples, including improvements in resolution, sealing, and ease of operation, but also introduces the one-piece LCTEM sample developed by our group. The application of LCTEM in materials science research is demonstrated through the study of ZnO nanowires and Au-Cu<sub>2</sub>O core-shell nanostructures. Finally, we discuss the challenges of LCTEM technology and envision its future directions.

## 一、LCTEM 的發展

在深入探討液態穿透式電子顯微鏡技術之前,有必要先回顧穿透式電子顯微鏡 (transmission electron microscope, TEM) 的基本原理與構造。TEM 作為材料結構分析的重要

工具,在材料科學領域應用廣泛。其核心原理是利用高能電子東穿透極薄的樣品來成像。當電子東穿過樣品時,會與樣品中的原子發生交互作用,例如散射與繞射等,這些交互作用會改變電子東的方向和能量。透過一系列精密的電磁透鏡系統,將穿透樣品後的電子東聚焦並放大,最終在螢幕或感測器上形成具有明暗對比的影像,可反映出樣品內部的微觀結構。TEM 的最大優勢在於其極高的影像解析度,甚至可以達到原子等級。此外,它還可以搭配電子能量損失譜儀 (electron energy loss spectroscopy, EELS) 或 X 光能量散失光譜儀 (energy dispersive X-ray spectrometer, EDS) 等分析儀器,來分析樣品的成分、化學鍵結和元素分佈等資訊。然而,傳統 TEM 的一個主要限制是其操作環境必須維持在高真空狀態,以確保電子東的在行進過程中不受氣體分子的散射干擾才能成像。此外,對於需要在液態環境下觀察的樣品,尤其是含有水分的生物或化學樣品,高真空會導致液體迅速蒸發,使得在真實液相中進行動態觀察變得極為困難。LCTEM 技術正是在此背景下發展起來,旨在克服傳統 TEM在液體樣品觀察上的限制。為突破此限制,液態穿透式電子顯微鏡技術應運而生,為在真實液態環境下觀察材料的微觀結構和動態行為開闢新途徑。

LCTEM 的發展不僅拓展了 TEM 的應用範圍,更為深入了解材料的基礎特性提供機會。透過 LCTEM,科學家得以直接觀察奈米材料在液相中的成核、成長、組裝等過程。例如,研究人員可利用 LCTEM 觀察金及鉑奈米晶體在溶液中的動態影像<sup>(1-2)</sup>,或樹枝狀結構鉛的化學反應<sup>(3)</sup>,如圖 1 所示。這些研究不僅有助於調整奈米材料的合成,更有助於理解材料在液相中的基礎特性。

除了材料科學,LCTEM 在生物醫學、電化學反應研究、有機材料的觀察和催化過程等領域也展現出潛力。藉由觀察生物性材料的影像,如蛋白質和活細胞,研究人員可深入了解藥物反應、藥物傳輸和細胞行為。亦或是奈米液滴與氣泡的生成、有機材料的觀察和催化過程的研究<sup>(1-4)</sup>。隨著 LCTEM 的發展,LCTEM 不僅解決了液態材料觀察的技術瓶頸,更促進了材料科學、生物醫學等多學科的交叉融合,為相關領域的研究開闢新方向。

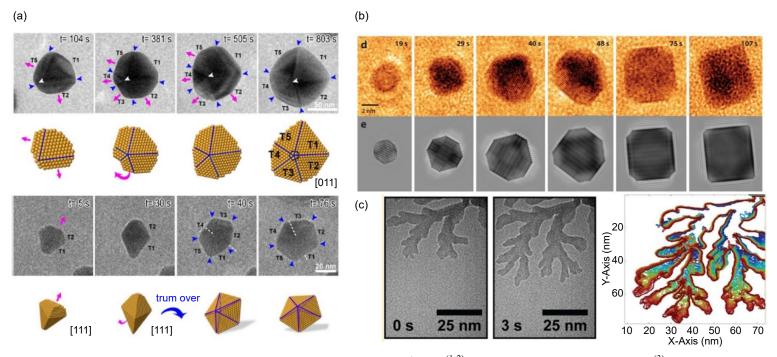


圖 1. (a-b) 金及鉑奈米粒子於 LCTEM 中成長的連續影像(1-2)。(c) 樹枝狀結構鉛的化學反應(3)。

## 二、LCTEM 試片的演進與發展

LCTEM 試片的開發,起初是為了克服傳統 TEM 僅能觀察固態樣品上的限制。根本原因在於 TEM 需要在高真空的環境下操作,液態樣品如何維持在液態的同時,又能置入 TEM 中觀察,即成為一項挑戰。為了觀察液態樣品,科學家嘗試將液體封裝 LCTEM 試片後再置入 TEM 內進行觀察。此外隨著 LCTEM 在各領域的應用及需求增加起,LCTEM 試片開發的重要性日益凸顯,進而推動了試片設計和製造技術的發展。

早期開發的 LCTEM 試片是利用兩片薄膜 (例如氮化矽 Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub>) 將液體樣品密封起來<sup>(5)</sup>。這種設計可以有效防止液體揮發以延長觀察時間,如圖 2(a) 所示。早期的封裝方式是透過組裝的方式來進行封裝:在晶圓上沉積薄膜,並透過黃光微影製程及蝕刻,在特定區域產生電子束可穿透的 Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub> 薄膜作為觀察窗口,並以銦作為墊高及封裝的材料。待注入液體後,再以覆蓋方式與另一片載片組裝並密封。當液態樣品置於試片中時,會形成一個與真空環境隔離的獨立液態環境,得以在 TEM 高真空腔體內進行液相臨場觀察。

而根據液態的流動性與否,LCTEM 的結構設計和應用方式大致可分為兩種類型:靜態式液態試片 (static LCTEM sample) 和動態式液態 (flow LCTEM sample)。靜態式液態試片結構相對簡單,其液體樣品以固定容量密封於試片中(6),如圖 2(b) 所示,無法進行流動或更換。此類型試片適用於觀察相對穩定的液體樣品,例如奈米粒子的形貌和結構變化、或是在固定條件下的簡易蝕刻反應等。流動式液態試片本身通常會有微流道的設計(7),如圖 2(c) 所示,可以通過外部設備精準控制液態樣品的注入及流出。適合觀察需要持續提供前驅物的液相反應或是不同液態樣品的化學反應觀察,通常需要搭配特殊規格的 TEM 載具。特殊規格的 TEM 載具通常能提供更多的功能性,例如同時注入不同液態樣品。此外,也有氣液混合式液態試片,可同時通入氣體與液體,觀察氣液界面的反應,或是電化學液態試片,整合電極以在液體樣品中施加電場,研究電化學反應。但這些特殊規格的 TEM 載具通常價格較高普及不易。

近年來,LCTEM 試片的發展主要集中在以下幾個方向:提高解析度、多功能整合、簡化操作以及減少側漏問題。例如有科學家開發石墨烯液態試片,是為了提高解析度所選擇的新觀察窗口材料:由於石墨烯具有優異的機械性能和極薄的厚度,因此可以封裝液態並實現更高的解析度<sup>(8)</sup>,如圖 2(d) 所示。再者,減少側漏提升密封性也是試片開發的重要目標:包含不同世代 LCTEM 的封裝結構設計、密封材料的選擇等等,科學家們也試圖透過改變設計來降低實驗門檻。

綜觀 LCTEM 試片的發展演進歷史,是一部不斷追求更高解析度、更強密封性、更簡便操作的歷史。開發 LCTEM 試片除了可以避免需要昂貴的設備之外,更有機會可以普及。隨著材料學和技術的進步,LCTEM 試片將有機會在更多領域發揮重要作用。

## 三、一體成型 LCTEM 試片開發

儘管 LCTEM 試片在解析度、密封性和操作便利性上不斷提升,但現有技術仍存改良之處。此開發動機源於 LCTEM 試片的多層封裝結構,在實際放置到一般 TEM 載具時,由於厚度較厚,可能需要特定的載具或調整,增加了操作的複雜性。雖然多層封裝結構在製程上較易於掌控,但由兩片基板封裝而成的試片會使試片厚度大幅增加,且使用的封裝材料 (如銦) 可能與溶液反應,從而限制了可觀察的樣品種類。此外,大面積的覆蓋方式使得需要密

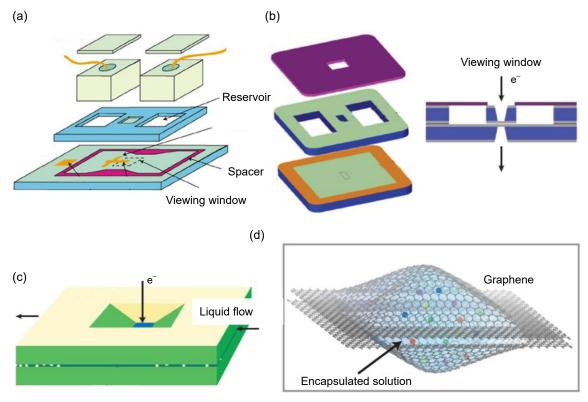


圖 2. (a-c) 不同組成架構的 LCTEM 封裝示意圖(5-7)。(d) 局部石墨烯液態封裝意示圖(8)。

封的面積增加,側漏的機率增多,進而降低了試片的密封性。因此,本研究團隊為了解決這些問題,開發了一體成型的 LCTEM 試片。

在結構與做法上,此新型的 LCTEM 試片採用了單片晶圓的一體成型設計,流程如圖 3所示,從而避免了任何接合的步驟。透過微機電系統 (micro-electro-mechanical systems, MEMS) 技術,利用微影和蝕刻製程製作試片。新的光罩設計縮小了覆蓋面積,減少注入液 態樣品後的封裝面積能進一步提升密封性。在材料選擇上,一體成型的 LCTEM 試片不使 用銦作為墊高材料,而是仍為矽。具體的製程步驟包括:首先對矽基板進行 RCA 清洗,如 圖 3(a) 所示。接著,在矽基板正反兩面成長二氧化矽(SiO<sub>2</sub>) 作為蝕刻阻擋層,如圖 3(b) 所 示。然後,在矽基板正反兩面沉積低應力氮化矽(Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub>)薄膜,如圖 3(c)所示。隨後,透過 微影製程在正面定義出注入孔 (injection hole) 的圖形後透過離子蝕刻至矽基板層,以作為 後續對接矽穿孔 (through silicon via, TSV) 製程的液態注入孔,如圖 3(d) 所示。在正面鍍上 矽 (Si) 作為間隔層 (spacer) 材料,此矽層也作為後續封裝液態樣品的預留空間,如圖 3(e) 所 示。接著,在矽基板正反兩面沉積低應力 Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub> 薄膜,如此,與前一道沉積的氮化矽 (Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub>) 薄膜將能作為觀察窗將液態樣品夾於其中,如圖 3(f) 所示。利用光阻塗佈機塗佈光阻於試片 背面,再通過雙面對準曝光機進行紅外光對準,將正面注入孔的圖形與背面光罩上的圖形 對準,完成顯影後確認背面的 TSVs 圖形與正面的注入孔有對準,如圖 3(g) 所示。利用介電 材料活性離子蝕刻系統 (reactive ion etching, RIE) 蝕刻背面的 Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub> 薄膜。再利用矽深蝕刻系 統 (Si Deep-RIE) 進行 SiO<sub>2</sub> 及 Si 蝕刻,如圖 3(h) 所示。最後,利用氫氧化鉀 (KOH) 溶液的 濕式異向蝕刻特性,能將預留空間的矽蝕刻去除,從而提供液態樣品注入空間,完成之一 體成型 LCTEM 試片,如圖 3(i)所示。完成之一體成型 LCTEM 試片的 2D、3D 示意圖分層 結構,如圖 4(a) 所示,結構分層示意圖,如圖 4(b) 所示。液態樣品注入可以透過微量滴管 將液態樣品滴入試片,剖面的 SEM 影像可以清楚看到 TSVs 的結構能作為注入孔,以及中間的觀察窗口,如圖 4(c) 所示。圖 4(d) 則為注入液態時示意圖及實際注入液體後的 OM 影像。再利用簡單的覆蓋方式密封試片的背面,即能完成試片的封裝。

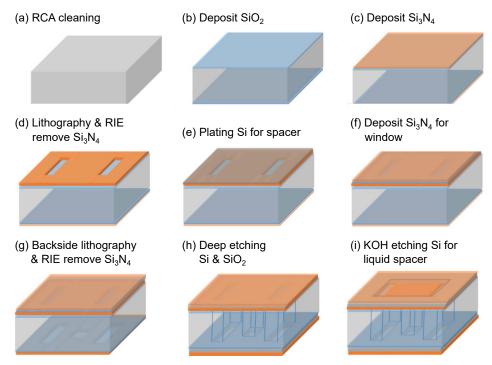


圖 3. 一體成型 LCTEM 的製作的流程示意圖。

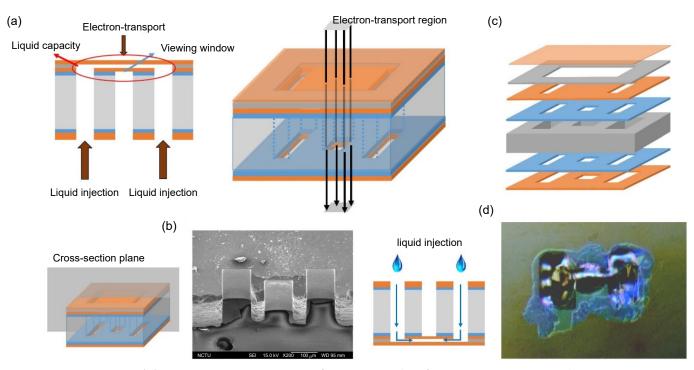


圖 4. (a) 一體成型 LCTEM 的 2D、3D 示意圖。(b) 分層示意圖。(c) 剖面 SEM 影像。(d) 注入液態時的 OM 影像。

本試片採用單一晶圓製程,不包含任何接合製程,此一體成型的 LCTEM 試片相較於傳統 LCTEM 試片設計,具有獨特的優勢。相較於傳統 LCTEM 試片或現有市售液態試片。在厚度上,一體成型試片整體厚度小於 250 µm,而傳統試片厚度為兩片基板再加上 spacer,厚度可能大於 500 µm。在密封性方面,一體成型試片由於其整體側壁面積均能有效密封,降低了橫向洩漏的可能性,於背面的密封口也減低了密封的難度。在泛用性上,此一體成型 LCTEM 適用於所有型號的 TEM,不需搭配特定載具及儀器。在安裝及應用上,一體成型試片的安裝過程更簡單,注入液態樣品時不需任何接合對準過程。在溶液限制上,由於不使用 銦作為墊高材料,從而避免了液溶反應的限制。

## 四、液態樣品觀察的應用實例

以下將以兩個實際案例,展示 LCTEM 在材料科學研究中的應用。

#### 案例一:觀察氧化鋅奈米結構的水熱法合成成長反應

本團隊於 2016 年發表在 Chemistry of Materials 的文章,此研究使用 LCTEM 技術搭配 穿透式電子顯微鏡 (TEM),成功觀察到氧化鋅 (ZnO) 奈米線在水熱合成中的生長過程<sup>(9)</sup>。研究發現 ZnO 奈米線的生長分為兩個階段:奈米粒子的成核與成長,以及奈米粒子異向性成長為奈米線。奈米粒子的成長主要來自單體附著和聚結,其中聚結過程可由沃爾夫構造 (Wulff construction) 理論解釋。 帶負電的單體更容易附著在 Zn<sup>2+</sup> 終止的 (0001) 表面,促使 ZnO 奈米線沿 [0001] 方向異向性成長。成長速率分析表明,液相中的生長過程是一個反應 控制系統,且奈米線的直徑取決於奈米粒子的原始尺寸。此研究揭示了水熱合成 ZnO 奈米線的動態機制。

圖 5 主要展示了 ZnO 奈米線的異向生長過程,為一系列 TEM 截取影像,顯示奈米線僅沿著特定的方向生長 ([0001] 方向),如圖 5(a) 的紅色箭頭方位所示。在 0:15 到 0:23 的 TEM 影像可以發現,即使成長的方向遇到阻礙物,ZnO 的奈米線不會延反向的  $[000\overline{1}]$  生長,仍然會推擠阻礙物繼續延原方向生長。

圖 5(b) 則解釋了這種異向生長的原因,是由於 ZnO 晶體的極性結構。ZnO 晶體的 (0001) 面由帶正電荷的  $Zn^{2+}$  終止,而  $(000\overline{1})$  面由帶負電荷  $O^{2-}$  終止。這種偶極矩的結構導致奈米線會沿 c 軸產生自發偶極矩。由於偶極矩的基本特性,帶正電的表面會吸引溶液中帶負電的成長單體離子  $[Zn(OH)_4]^{2-}$ 。單體由於靜電吸引而傾向於附著在 (0001) 表面。相反地,由於靜電排斥單體難以附著在  $(000\overline{1})$  表面。因此,ZnO 沿著 c 軸的一個末端異向生長。這些液態水熱法合成的 TEM 影像清晰地呈現了 ZnO 奈米粒子在液體中的成長方式,為研究 ZnO 奈米結構的控制與應用提供了重要的參考資訊。

#### 案例二:金-氧化亞銅核殼奈米晶體於水溶液生長成長研究

本團隊於於 2019 年發表在 Nanoscale 的文章,此研究利用液相穿透式電子顯微鏡 (LCTEM) 原位觀察 Au-Cu<sub>2</sub>O 核殼奈米粒子的形成過程<sup>(10)</sup>。實驗發現金奈米粒子表面的檸檬酸配體的數量會影響核殼結構的形狀,導致產生多面體和立方體兩種結構。多面體奈米粒子中的金和氧化亞銅之間存在磊晶關係,而立方體奈米粒子則顯示氧化亞銅獨立成核和生長。此外,研究還觀察到奈米粒子的運動,它們在最終聚集成簇之前會自由漂浮和旋轉。這些發現為功能性核殼奈米結構的生長機制提供了直接的證據。

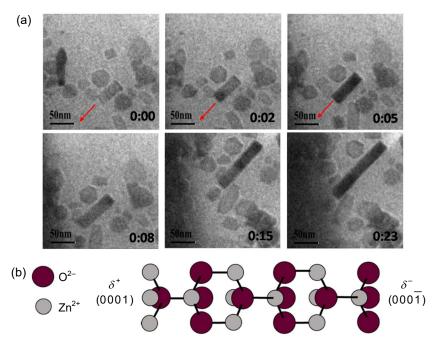


圖 5. (a) 以 LCTEM 技術臨場觀察 ZnO 奈米線的水熱法合成之系列 TEM 影像。(b) ZnO 奈米線微結構與偶極矩的示意圖<sup>(9)</sup>。

圖 6 呈現了一系列原位穿透式電子顯微鏡 (TEM) 影像,顯示了在液態環境中金 (Au) 核心包覆上銅氧化物 (Cu<sub>2</sub>O) 殼層,形成多面核殼奈米粒子的合成過程。圖 6(a) 顯示在剛開始時只有金奈米粒子存在於液態環境中。隨著時間的推移,可以發現在圖 6(b) 和 6(c) 顯示殼層開始在金奈米粒子外部鍍覆,形成核殼奈米粒子。然而,仍可以觀察到圖 6(d) 中紅色箭頭所指的金奈米粒子團簇沒有被鍍上殼層。是由於這些金奈米粒子團簇造成它們的表面缺少檸檬酸配位體 (citrate ligands),導致殼層鍍覆失敗。而在圖 6(b) 中黃色箭頭標記的金粒子雖然沒有發生聚集,但金粒子們彼此的距離過於接近而產生空間局限效應,核殼奈米粒子的形成受到鄰近奈米粒子的影響,因此沒有形成完整包覆的核殼結構。而在圖 6(b) 黃色虛線標示的金奈米顆子則因分散性良好,得以反應生成完整的 Au-Cu<sub>2</sub>O 核殼奈米粒子。圖 6(e) 顯示了核心和殼層的面積隨時間變化的曲線,對應於黃色虛線框中的粒子。金核心的面積在包覆沒有變化,證實了金奈米粒子的穩定性並保持了其原始尺寸。對於殼層,殼層在金的表面上磊晶生長速率約為 210 nm²/s 直到達到 2500 nm² 的面積,呈現線性生長。

## 五、液態 TEM 的困境與挑戰

液態穿透式電子顯微鏡 (LCTEM) 技術近年來雖有顯著進展,但在分析應用與試片開發上,整體而言仍面臨解析度、樣品代表性、電子束效應、試片製備和數據分析等多重挑戰與困境。這些挑戰與困境不僅限制了 LCTEM 的應用範圍,也對實驗設計和數據解讀提出了更高的要求。具體而言,這些挑戰與困難如下:

#### 1. 解析度限制

由於電子束需要穿透液態層才能成像,液態本身會散射電子,導致影像模糊和解析度降

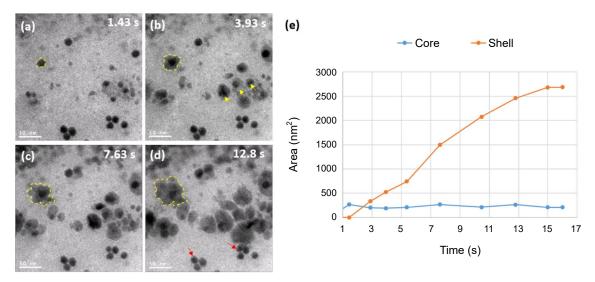


圖 6. (a-d) 以 LCTEM 技術臨場觀察 Au-Cu<sub>2</sub>O 核殼奈米粒子殼層包覆過程之系列 TEM 影像。 (e) 核與殼於成長過程隨時間的變化<sup>(10)</sup>。

低。為了維持 TEM 的高真空環境,液態樣品通常被封裝在薄膜之間,這些薄膜也會進一步散射電子,進一步加劇解析度下降的問題。因此,如何選用更薄的薄膜以提升解析度,同時確保薄膜強度足以維持樣品穩定性;或是在設計上精準控制液體層厚度,避免過厚的液體層影響解析度,並確保微量液體環境足以代表真實溶液中的行為,是 LCTEM 技術的一大挑戰。

#### 2. 液態樣品動態行為之影響

液態樣品中的觀察物能夠自由移動,在 Z 軸方向的移動會導致觀察物載浮載沉,將導致電子束難以對焦,影響影像清晰度;在 XY 軸方向的移動則可能使觀察物偏移至觀察視野之外。此外,若物體旋轉導致觀察的區軸 (zone axis) 及晶面改變,也會使得分析鑑定更加困難。因此觀察物的動態行為會對 TEM 觀察造成聚焦困難、視野偏移以及分析鑑定上的影響。因此,如何追蹤鎖定液態樣品中的觀察物及維持觀察物的穩定性,是一個重要的課題。

#### 3. 電子束效應

電子束與液體產生非彈性碰撞導致升溫效應,以及電子束本身造成的輻射損傷,都可能 改變樣品結構,進而影響觀察結果的準確性。以水溶液為例,電子束可能導致水分解反應, 產生的微氣泡不僅影響觀察,高蒸汽壓的密封環境也使液體難以維持穩定。此外,水分解反 應 (water splitting effect) 產生的水合電子、氫自由基、氫氧自由基等,亦可能作為氧化劑或 還原劑參與反應,進而改變溶液中的化學平衡。

#### 4. 試片製備困難

LCTEM 試片的製備過程比傳統 TEM 試片製備更加繁瑣,需要多個步驟的組裝和接合,樣品注入和封裝過程也需要一定的技巧和經驗,這增加了操作難度。若不幸發生側漏不僅影響實驗結果的準確性,還會污染 TEM 儀器。因此,如何在試片設計上兼顧電子束穿透性、樣品穩定性和密封性,是一個需要仔細權衡的問題,尋找更穩定、與樣品相容,且不影響電子束穿透的新型材料,也是試片開發的重要方向。

#### 5. 數據分析複雜

LCTEM 實驗產生龐大的數據量,如何有效地分析和解讀數據,提取有用的訊息,也是一項繁重的任務。分析者需要區分電子束引起的樣品變化和真實的溶液反應,需要精密的控制實驗參數和深入的理論分析。

### 六、結論

本文介紹了 LCTEM 的發展及演進,並討論了 LCTEM 開發試片及樣品觀察所面臨的挑戰。總體而言,LCTEM 技術的發展仍需要不斷改進試片設計、優化實驗條件、提升數據分析能力,以及開發新的材料和方法,才能克服現有困境,使 LCTEM 得以充分發揮其在材料科學、化學、生物學等領域的應用潛力。

#### 參考文獻

- 1. H.-G. Liao, D. Zherebetskyy, H. Xin, C. Czarnik, P. Ercius, H. Elmlund, M. Pan, L.-W. Wang, H. Zheng, Science, 345, 6199 (2014).
- 2. X. Ma, F. Lin, X. Chen, and C. Jin, ACS Nano, 14, 9594 (2020).
- 3. M. R. Hauwiller, X. Zhang, W.-I. Liang, C.-H. Chiu, Q. Zhang, W. Zheng, C. Ophus, E. M. Chan, C.Czarnik, M. Pan, F. M. Ross, W.-W. Wu, Y.-H. Chu, M. Asta, P. W. Voorhees, A. P. Alivisatos, and H. Zheng, *Nano Letters*, **18**, 6427 (2018).
- 4. T. Tarnawski, M. Parlińska-Wojtan, Chemistry Methods, 4, e202300041 (2023).
- 5. M. J. Williamson, R. M. Tromp, P. M. Vereecken, R. Hull, and F. M. Ross, Nature Materials, 2, 532 (2003).
- 6. H. Zheng, R. K. Smith, Y.-W. Jun, C. Kisielowski, U. Dahmen, and A. P. Alivisatos, Science, 324, 1309 (2009).
- 7. N. de Jonge, D. B. Peckys, G. J. Kremers, and D. W. Piston, Proc. National Academy of Sciences, 106, 2159 (2009).
- 8. J. M. Yuk, J. Park, P. Ercius, K. Kim, D. J. Hellebusch, M. F. Crommie, J. Y. Lee, A. Zettl, and A. P. Alivisatos, *Science*, 336, 61 (2012).
- 9. T.-H. Hsieh, J.-Y. Chen, C.-W. Huang, and W.-W. Wu, Chemistry of Materials, 28, 4507 (2016).
- 10. F.-C. Chen, J.-Y. Chen, Y.-H. Lin, M.-Y. Kuo, Y.-J. Hsu, and W.-W. Wu, Nanoscale, 11, 10486 (2019).

#### 作者簡介

陳睿遠先生為國立交通大學材料科學與工程博士,現為國立聯合大學材料科學工程學系副教授。 Jui-Yuan Chen received his Ph.D. in the Department of Materials Science and Engineering from National Chiao Tung University. He is currently an Associate Professor in the Department of Materials Science and Engineering at National United University.

黄浚瑋先生為國立交通大學材料科學與工程博士,現為逢甲大學材料科學與工程學系副教授。

Chun-Wei Huang received his Ph.D. in the Department of Materials Science and Engineering from National Chiao Tung University. He is currently an Assistant Professor in the Department of Materials Science and Engineering at Feng Chia University.

吳文偉先生為國立清華大學材料科學與工程博士,現為國立陽明交通大學材料科學與工程學系教授。

Wen-Wei Wu received his Ph.D. in the Department of Materials Science and Engineering from the National Tsing Hua University. He is currently a Professor in the Department of Materials Science and Engineering at National Yang Ming Chiao Tung University.