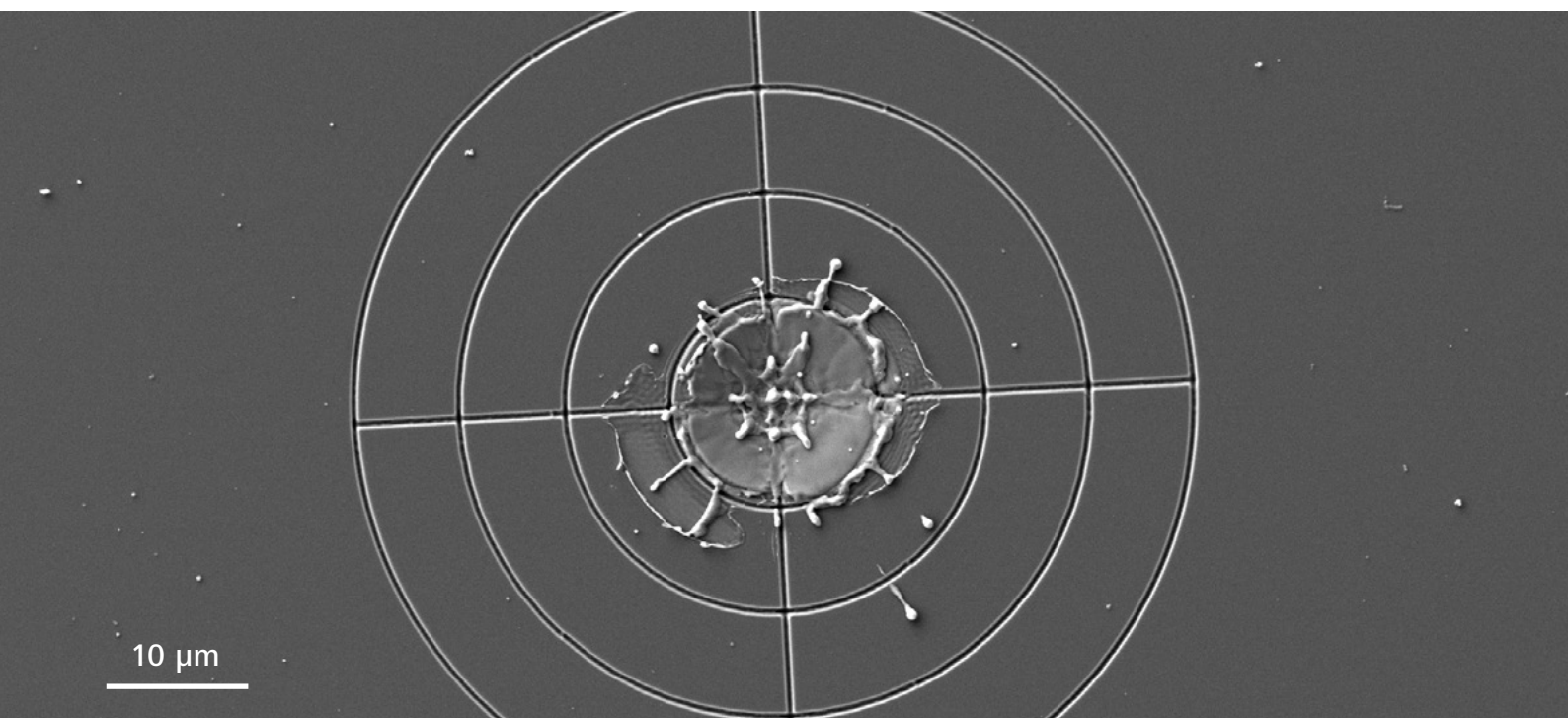


## Zielgerichtete Probenpräparation mit dem ZEISS Crossbeam laser



Seeing beyond

**In dieser Technical Note wird beschrieben, wie die positionsspezifische Laserbearbeitung mit dem ZEISS Crossbeam laser funktioniert. Nach der Lokalisierung eines Interessensbereichs (Region of Interest; ROI) mit einem Rasterelektronenmikroskop (SEM) werden die Koordinaten der ROI mittels einer Korrelationsmethode an das Lasersystem übertragen. Damit kann die ROI mit einer Präzision von besser als 15 µm anvisiert werden. Dieser Wert kann durch die Anwendung eines verbesserten Registrierungsablaufs lokal noch weiter auf bis zu unter 2 µm reduziert werden, was für effizientere Arbeitsabläufe sorgt.**

## Einleitung

Die Mikrobearbeitung mit Lasern ist eine in der Industrie bewährte Technik. Laser werden dazu genutzt, um mit höchster Präzision Markierungen anzubringen, Bohrungen durchzuführen oder Werkstücke auszuschneiden [1]. Mit der zunehmenden Verfügbarkeit von Ultrakurzpulslasern finden laserbasierte Lösungen auch vermehrt Verwendung im Bereich der Probenpräparation für mikroskopische Untersuchungen. Zu diesem Zweck werden derzeit sowohl Stand-alone-Laser [2] entwickelt als auch Integrationen mit FIB-SEM-Systemen, sogenannte LaserFIBs [3,4].

Ultrakurzpulslaser, die Laserlicht mit Pulsdauern im Femtosekundenbereich (fs) abgeben, verursachen nur minimale Probenbeschädigung und kleine Wärmeeinflusszonen (WEZ). Gleichzeitig erlauben Femtosekundenlaser einen sehr schnellen und präzisen Materialabtrag. Beispielsweise kann der Femtosekundenlaser, der in ZEISS Crossbeam Systemen verwendet wird, mit einem Sondendurchmesser von < 15 µm pro Sekunde bis zu 15 Mio. µm<sup>3</sup> Silizium abtragen.

Abbildung 1 zeigt einen ZEISS Crossbeam laser. Die Bearbeitung mit dem Laser findet in einer separat dafür vorgesehenen Kammer statt (im Vordergrund), um eine Kontamination der FIB-SEM-Hauptkammer zu vermeiden. Während der Bearbeitung wird die Probe zwischen der Laserkammer und der Hauptkammer hin- und zurück befördert. Durch einfaches Handshake der SEM- und Laserkoordinaten gelingt eine positionsspezifische Bearbeitung.

In dieser Technical Note beschreiben wir den Prozess der Koordinatenregistrierung und wie dieser verbessert werden kann, um so eine Laseransteuerung der ROI mit einer Präzision von < 2 µm für lokale Bereiche zu erzeugen. Eine solche Präzision ermöglicht ein noch näher an der ROI liegendes Abtragen, was nachfolgende FIB-Verarbeitungszeiten reduziert und somit auch die Gesamtzeit des Experiments.

## Laser-Registrierung

Abbildung 2 zeigt eine schematische Darstellung des Workflows für eine positionsspezifische Präparation mithilfe des Crossbeam laser. Hierzu wird die Probe auf einem speziellen Probenhalter (siehe Bildausschnitt) mit vier verschiedenen Bezugsmarkern fixiert; diese werden für die Registrierung benötigt, wie im Folgenden erläutert.



Abbildung 1: ZEISS Crossbeam laser.

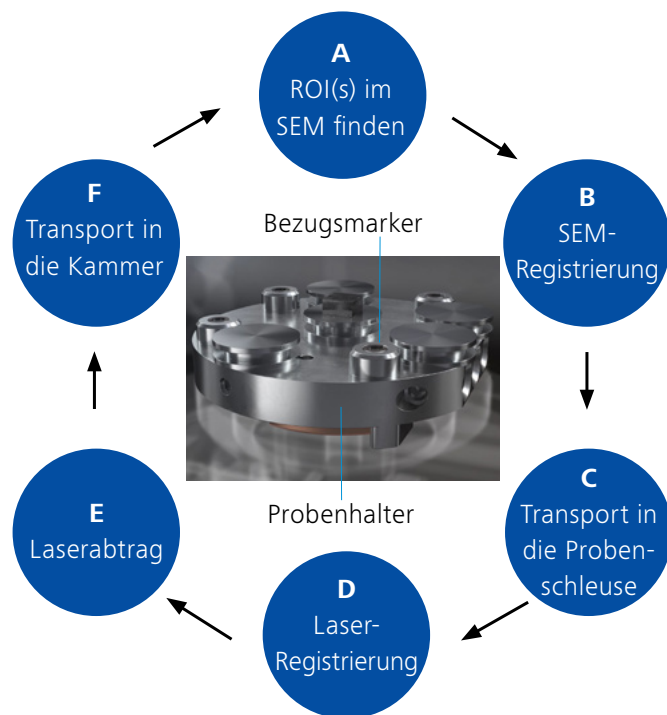
Der erste Schritt besteht darin, die ROI (oder mehrere ROIs) mit einem SEM zu lokalisieren (Abb. 2A). Dieser Schritt ist durchaus aufwendig, da die ROI meist tief unterhalb der Oberfläche liegt. Wir gehen hier davon aus, dass die Koordinaten der ROI bekannt sind, entweder resultierend aus der Struktur der Probe selbst (z. B. Schichtgrenzen in einem Schichtsystem), aus einem CAD-Layout oder aus einer vorherigen Charakterisierung mittels zerstörungsfreier 3D-Imaging-Technik, wie z. B. CT oder Röntgenmikroskopie (XRM). Diese dreidimensionalen CAD- bzw. XRM-Daten werden in die Software des FIB-SEM importiert und mit dem SEM-Oberflächenbild korreliert. Die Zielkoordinaten werden umgerechnet in: die spezifische Position des SEM-Tisches, die Position auf dem SEM-Bild und die entsprechende Tiefe. Zur Orientierung wird an der Stelle der ROI ein SEM-Bild in geeigneter Vergrößerung aufgenommen, welches später zur genauen Ausrichtung der Laservorlage benötigt wird.

Als nächstes werden die Koordinaten des Probenhalters und das REM-Koordinatensystem aneinander ausgerichtet, indem die vier Bezugsmarker des Probenhalters automatisch unterhalb dem REM-Sehfeld zentriert werden (Abb. 2B). Auf diese Weise wird die relative Lage der ROI im Verhältnis zu den Bezugsmarkern festgelegt.

Für die Laserbearbeitung wird die Probe nun in die Laserpräparationskammer weitergeleitet, die über eine Probenschleuse mit dem System verbunden ist (Abb. 2C). In einem zweiten Registrierungsschritt (Abb. 2D) scannt der Laser nun kleine Bereiche im Umfeld der vier Bezugsmarker, um so deren exakte Position im Koordinatensystem der Laser-Scanning-Einheit zu messen. Dadurch werden die Koordinatensysteme von Laser und SEM miteinander gekoppelt. Dadurch ist es möglich, Muster für den Laserabtrag auf das zuvor aufgenommene SEM-Bild der Zielregion zu setzen und diese entsprechend abzutragen (Abb. 2E).

Um die Arbeit mit dem FIB-SEM nach dem Laserabtrag fortzuführen, wird die Probe im Anschluss in die Hauptkammer zurückgeführt, womit der Workflow abgeschlossen ist (Abb. 2F).

Der eben beschriebene Workflow ermöglicht das Anvisieren eines 25 mm × 25 mm großen Bereichs [5] mit einer Genauigkeit von < 15 µm. Dieser Wert entspricht dem Durchmesser des Laserstrahls. Er kann durch lokale Versatzkorrekturen weiter verringert werden, wie im folgenden Abschnitt beschrieben wird.



**Abbildung 2:** Schematische Darstellung des Workflows für positionsspezifische Präparationsschritte mit dem Crossbeam Laser.

### Verbesserung der Genauigkeit des Lasers mit lokalen Versatzkorrekturen

Betrachten wir einmal kurz die Hauptfehlerquellen, die die Zielgenauigkeit des Lasers einschränken. Diese sind mit Fehlern verbunden bei:

1. SEM-Registrierung
2. Laser-Registrierung
3. Laserscan-Feldkalibrierung

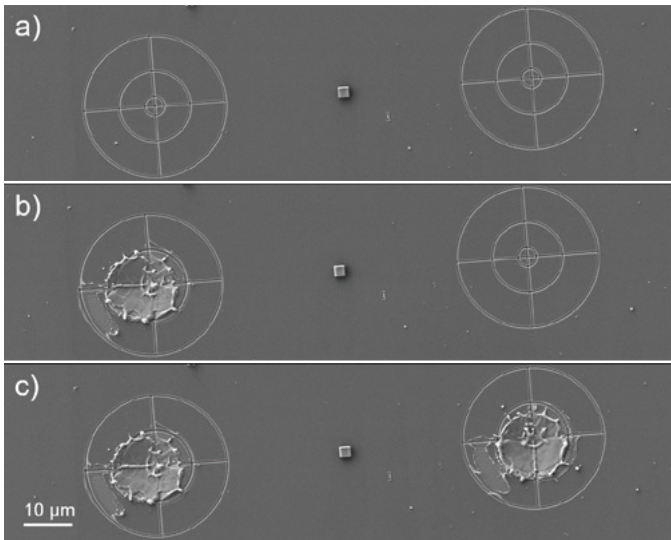
Der erstgenannte Fehler bleibt bei einer gegebenen SEM-Registrierung konstant, solange die Position der Probe im Verhältnis zu den Bezugsmarkern des Probenhalters (Bildausschnitt in Abb. 2) nicht verändert wird. Der drittgenannte Fehler ist abhängig von der Gleichmäßigkeit der Optik der Laserprojektion und vom Laserfokus, z. B. bei der Höhe der Probe. Indem eine lokale Versatzkorrektur durchgeführt wird, die speziell auf die Probe und den Arbeitsbereich abgestimmt ist, können die Fehlerpunkte 1 und 3 experimentell ermittelt und dementsprechend behoben werden. Damit bleibt als letzte Fehlerquelle die Laser-Registrierung übrig. In einem Bereich von ca. 1 mm × 1 mm um die ROI liegt der Restfehlerwert bei < 2 µm, wie im nächsten Abschnitt gezeigt wird.

Abbildung 3 zeigt, wie die lokale Versatzkorrektur funktioniert.

In unserem Beispiel war die Probe ein Siliziumwafer. Eine ausgedachte ROI wurde mittels Ionenstrahlerstäubung mit Kohlenstoff überzogen (Abb. 3a). Die resultierende quadratische Fläche hatte eine Nennseitenlänge von 2 µm. Neben der ROI wurden zwei Bezugsmarker mit einem FIB eingefräst. Alternativ hätte auch jedes klar ausgeprägte Merkmal der Probe genutzt werden können.

Der komplette Prozess, der in Abbildung 2 dargestellt wird, wurde einmal durchgeführt, wobei der linke Bezugsmarker anvisiert wurde. Wie in Abbildung 3b zu erkennen, wurde das Ziel um  $|\Delta x| = 2,17 \mu\text{m}$  in x-Richtung und  $|\Delta y| = 0,53 \mu\text{m}$  in y-Richtung verfehlt (gemessen als Distanz zwischen den Mittelpunkten der Ziele und der kreisförmigen Randlinie des Laserpunkts). Die Laserscan-Feldkalibrierung wurde dann korrigiert, indem einfach  $\Delta x$  und  $\Delta y$  als Versatz hinzugerechnet wurden. Um diese Versatzkorrektur weiter zu verfeinern, wurde diese Prozedur wiederholt. Dabei wurde dieses Mal der rechte Bezugsmarker anvisiert, wobei Schritt B des Workflows (siehe Abb. 2) übersprungen wurde, d. h., dass die SEM-Registrierung beibehalten wurde. Abbildung 3c zeigt das Endergebnis: Die Zielgenauigkeit des Lasers wurde verbessert. Ein neuer Versatz aus  $(|\Delta x|, |\Delta y|) = (0,34 \mu\text{m}, 1,62 \mu\text{m})$  wurde gemessen und korrigiert. Weitere Durchläufe werden nicht benötigt, da sich dadurch die Zielgenauigkeit nicht weiter verbessern ließe; hierauf soll im folgenden Kapitel genauer eingegangen werden. Nach den lokalen Versatzkorrekturen kann die Laserbearbeitung um die ROI mit einer Präzision durchgeführt werden, die besser ist als  $\pm 2 \mu\text{m}$ .

Die für die lokalen Versatzkorrekturen zusätzlich zum Experiment benötigte Zeit beträgt ungefähr 10 Minuten für eine einzelne und weniger als 15 Minuten für eine doppelte lokale Versatzkorrektur.



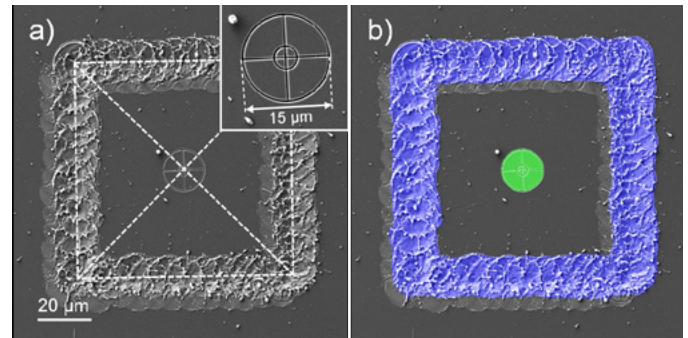
**Abbildung 3:** Demonstration der lokalen Versatzkorrekturmethode: a) Zwei FIB-bearbeitete Zielpunkte wurden in der Nähe der ROI strukturiert. Das SEM-Bild a) wurde als Bezugspunkt genutzt, um den Laser zu führen. b) Der Versatz zwischen SEM und Laser wird gemessen und korrigiert (erste Versatzkorrektur). c) Der zweite Bezugsmarker wird anvisiert, um die lokale Versatzkorrektur weiter zu optimieren (zweite Versatzkorrektur).

### Quantitative Bestimmung der Zielgenauigkeit des Lasers

Zur Quantifizierung und Erstellung weiterer Statistiken über die erreichbare Zielgenauigkeit des Lasers wurde das folgende Experiment durchgeführt:

Zur Erstellung von neun Testflächen wurde eine Gruppierung von  $3 \times 3$  Bezugsmarkern auf einen Siliziumchip mit einem FIB eingefräst. Die Bezugsmarker bestehen aus einem Kreuz und zwei konzentrischen Kreisen, wie der Bildausschnitt in Abb. 4 zeigt. Der innere Kreis hat einen Radius von  $2 \mu\text{m}$ . Diese Fläche korrespondiert mit der ermittelten Zielgenauigkeit des Lasers nach doppelter Versatzkorrektur. Der äußere Kreis hat einen Durchmesser von  $15 \mu\text{m}$ , was der Nenngröße des Laserpunkts des Femtosekundenlaserstrahls entspricht. Von jedem Bezugsmarker wurde ein SEM-Bild erstellt und als ROI für das Laserexperiment gespeichert.

Zunächst wurde, gemäß Workflow aus Abbildung 2, ein Rahmen in der Größe von  $80 \mu\text{m} \times 80 \mu\text{m}$  mit einem Laser um einen Bezugsmarker außerhalb der Gruppierung aufgetragen. Die Zielgenauigkeit des Lasers wurde auf die in Abbildung 4 dargestellte Weise ermittelt, indem einfach die Distanz  $d = ((\Delta x)^2 + (\Delta y)^2)^{1/2}$  zwischen dem Schnittpunkt der Diagonalen des Rahmens und dem Mittelpunkt des FIB-Messmarkers gemessen wurde. Die lokale Versatzkorrektur ( $\Delta x$ ,  $\Delta y$ ) wurde auf die Laserscan-Feldkalibrierung angewandt. Mithilfe des Bezugsmarkers aus der oberen linken Ecke der Gruppierung (Bezugsmarker 1, Tabelle 1) wurde eine zweite lokale Versatzkorrektur vorgenommen und für den Rest des Experiments konstant beibehalten.

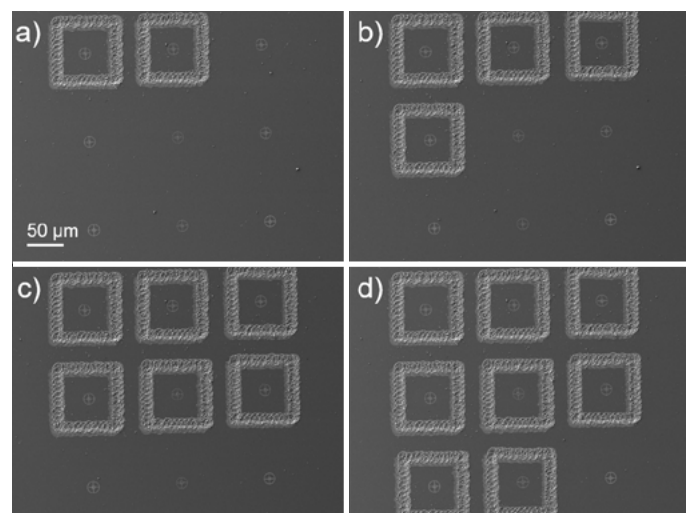


**Abbildung 4:** Messung der Laser-Zielgenauigkeit für einen der Bezugsmarker. a) Manuelle Messung. b) Messung mit automatischer Segmentierung.

Das Auftragen der Rahmen, wodurch alle verbleibenden FIB-Bezugsmarker anvisiert wurden, wurde mit einer neuen Laser-Registrierung vor jeder nächsten Belichtung durchgeführt. Dies bedeutet, dass für die Bezugsmarker 2 bis 9 die folgende Prozedur wiederholt wurde:

- Probenhalter zur Laserpräparationskammer führen.
- Automatische Laser-Registrierung auslösen.
- Den Laser-Rahmen um den anvisierten Bezugsmarker auf dem dazugehörigen SEM-Referenzbild zentrieren.
- Lasermuster belichten.
- Probenhalter in die Hauptkammer zurückführen, um das Ergebnis zu dokumentieren.
- Für den nächsten Bezugsmarker wiederholen.

Abbildung 5 zeigt Bilder, die das Ergebnis des Laserabtrags nach der zweiten, vierten, sechsten und achten Wiederholung dokumentieren.



**Abbildung 5:** SEM-Bilder eines  $3 \times 3$  Arrays von FIB-Bezugsmarkern nach Laserbelichtung eines Rahmens bis um die Bezugsmarker a) 2, b) 4, c) 6 und d) 8

Für eine automatisierte, nutzerunabhängige Quantifizierung wurde die Machine-Learning-basierte Segmentierung von ZEISS ZEN Intellesis [6] genutzt, mit der die Abweichung ( $\Delta x$ ,  $\Delta y$ ) für jeden Bezugsmarker ermittelt werden konnte. Drei ähnliche Bilder (nicht dieses Experiments, um einen Trainings-Bias zu vermeiden) wurden genutzt, um für die Segmentierung der Laserspuren und FIB-Bezugsmarker ein tiefes neuronales Netzwerk (DNN) zu trainieren. Trainiert wurde das Netzwerk mit APEER [7], der Open-Online-Plattform für Bildanalyse und Machine Learning. Zur automatisierten Auswertung der SEM-Bilder wurde das DNN in ZEISS ZEN Intellesis importiert. Das Ergebnis der Segmentierung bestand für jedes Bild aus zwei Objekten für die Laserspur und den FIB-Bezugsmarker. Für beide Objekte wurden die Koordinaten der Massenschwerpunkte ermittelt. Aus deren Abweichung ( $\Delta x$ ,  $\Delta y$ ) wurde die Distanz  $d$  errechnet.

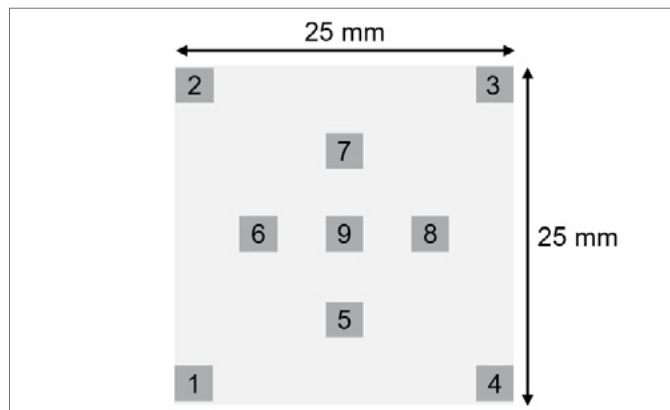
Bezugsmarker	$\Delta x$	$\Delta y$	$d$
1	3,04	-3,77	4,84
2	0,72	-0,96	1,20
3	1,95	-1,00	2,19
4	-0,68	-1,82	1,94
5	0,11	0,43	0,44
6	-0,93	-0,83	1,25
7	-0,98	-0,25	1,02
8	-1,45	1,20	1,88
9	0,68	-0,62	0,92
<b>Durchschnitt (2–9)</b>			<b>1,4 ± 0,6</b>

**Tabelle 1:** Ergebnisse der ZEISS ZEN Intellesis-Analyse für die neun Bezugsmarker in Abbildung 5.

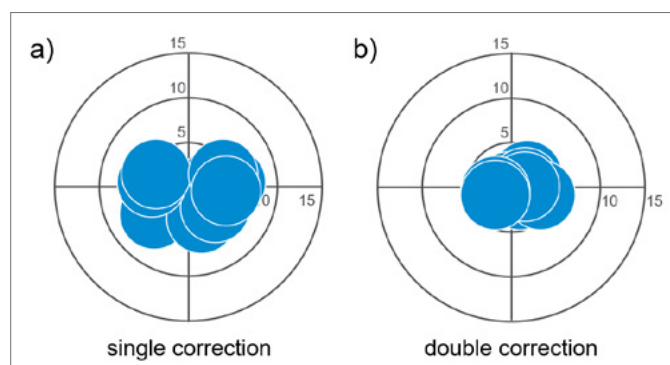
Die Ergebnisse werden in Tabelle 1 zusammengefasst. Bezugsmarker 1 wurde für die lokale Versatzkorrektur genutzt. Die durchschnittliche Zielgenauigkeit für die Bezugsmarker 2–9 lag bei  $\bar{d} = (1,4 \pm 0,6) \mu\text{m}$ .

Zur Verifizierung, dass der Wert  $\bar{d} \leq 2 \mu\text{m}$  für jeden Bereich im Schreibfeld des Lasers erreichbar ist, wurde ein zweites Experiment aufgesetzt. Insgesamt wurden vier Crossbeam-Lasersysteme untersucht. Für jedes System wurden neun Bereiche berücksichtigt, verteilt über das gesamte zentrale Scanfeld von  $25 \times 25 \text{ mm}$  (siehe Abb. 6). Jeder Bereich beinhaltete eine Gruppierung aus Bezugsmarkern, die wie im vorherigen Experiment mit Lasern anvisiert wurden.

Als Beispiel zeigt Abbildung 7 die von einem der vier Instrumente gemessenen Werte ( $\Delta x$ ,  $\Delta y$ ) nach der Durchführung a) der ersten und b) der zweiten lokalen Versatzkorrektur. Im Streumuster ist der Laserpunkt um bis zu 50 % seiner Nenngroße von  $15 \mu\text{m}$  reduziert. Nach der ersten Versatzkorrektur liegt die gemessene durchschnittliche Zielgenauigkeit bei  $\bar{d}_1 = (4,3 \pm 0,8) \mu\text{m}$ . Dieser Wert verbessert sich auf  $\bar{d}_2 = (1,8 \pm 0,7) \mu\text{m}$ , wenn zwei lokale Versatzkorrekturen durchgeführt werden. Eine dritte lokale Versatzkorrektur verbesserte das Ergebnis nicht weiter. Erwähnenswert ist, dass sowohl  $\bar{d}_1$  als auch  $\bar{d}_2$  erheblich kleiner sind als der Durchmesser des Laserpunkts.



**Abbildung 6:** Schematische Darstellung der neun Bereiche, für die die Zielgenauigkeit nach einzelner und doppelter Versatzkorrektur gemessen wurde. Die Bereiche umfassen eine Fläche von  $25 \times 25 \text{ mm}$ .

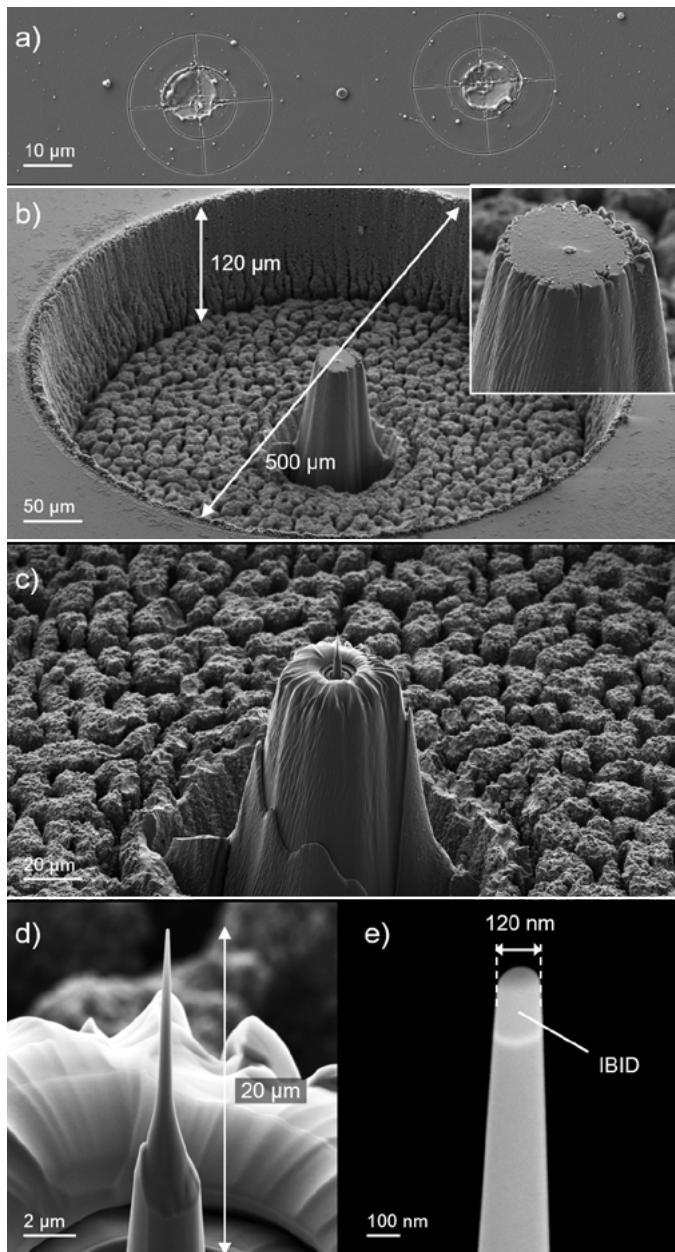


**Abbildung 7:** Visualisierung der Zielgenauigkeit verteilt über einen Bereich von  $25 \times 25 \text{ mm}$  (Verteilung wie in Abb. 6). Für bessere Übersicht sind die Laserpunkte nur halb so groß wie ihre Nenngroße von  $15 \mu\text{m}$ .

### Positionsspezifische Probenpräparation mithilfe der doppelten lokalen Versatzkorrektur – ein Beispiel

Abbildung 8 zeigt die Präparation einer Probe in Silizium für eine LEAP-Untersuchung (Local Electrode Atom Probe, Atomsonden-Tomographie) mit doppelter lokaler Versatzkorrektur.

Die ROI wurde markiert und mit kreisförmiger Ionenstrahlzerstäubung mit Kohlenstoff überzogen (Durchmesser:  $2 \mu\text{m}$ ; FIB-Parameter: 30 kV, 50 pA). Das Überziehen der ROI und die FIB-Bearbeitung der Zielbezugsmarker (30 kV, 1,5 nA) wurde unter Verwendung eines vorgeschriebenen Rezepts durchgeführt. Die Gesamtbelichtungszeit betrug 4 Minuten und 17 Sekunden. Eine doppelte lokale Versatzkorrektur wurde vorgenommen; diese nahm ca. 15 Minuten in Anspruch. Im Anschluss wurde mit dem Laser eine Säule in die Probe gefräst, welche die ROI enthält (siehe Bildausschnitt 8b). Der laserbearbeitete Bereich hat einen äußeren Durchmesser von  $500 \mu\text{m}$  und einen inneren Durchmesser von  $38 \mu\text{m}$ . Das Material um die ROI wurde  $120 \mu\text{m}$  tief abgetragen – und das in gerade einmal 29 Sekunden. In der Folge wurde der Probenbereich für die Atomsonden-Tomographie mit normalem FIB-Abtrag geformt. Hierzu wurde um die ROI [8] zentriert ein Muster konzentrischer Ringe mit abnehmenden Größen und FIB-Stromstärken (im Bereich von 30 nA bis 700 pA) genutzt (Abb. 8c). Dieser Schritt nahm 22 Minuten und 29 Sekunden in Anspruch. Die fertige LEAP-Probe wird in Abbildung 8d gezeigt. Sie ist  $20 \mu\text{m}$  hoch; der Radius der Spitze beträgt  $60 \text{ nm}$ . Die Schicht der Ionenstrahlzerstäubung ist deutlich auf dem oberen Ende der Spitze zu sehen. Die gesamte Vorbereitungszeit betrug damit nicht mehr als 45 Minuten.



**Abbildung 8:** Laserassistierte Präparation einer Probe für eine LEAP. a) Die doppelte lokale Versatzkorrektur ermöglicht ein Anvisieren der ROI mit einer Präzision von  $< 2 \mu\text{m}$ . b) Probe nach der Laserbearbeitung. Der Bildausschnitt zeigt die ROI der Säule. c) Die Säule nach der FIB-Bearbeitung. d) Die LEAP-Probeprobe mit einer Höhe von  $20 \mu\text{m}$ . e) Das Inlens-SE-Bild zeigt die Schicht der Ionenstrahlzerstäubung. Der Krümmungsradius der Spitze beträgt  $60 \text{nm}$ .

## Zusammenfassung

In dieser Technical Note haben wir den Prozess der Laser-Registrierung beschrieben, der eine positionsspezifische Probenpräparation mit einem ZEISS Crossbeam Laser ermöglicht.

Verschiedene Faktoren können die Zielgenauigkeit des Lasers negativ beeinflussen. Glücklicherweise kann der Einfluss all dieser Faktoren – bis auf einen – experimentell bestimmt und mit der lokalen Versatzkorrektur so gut wie eliminiert werden. Nach der ersten lokalen Versatzkorrektur hat sich die Zielgenauigkeit etwa um den Faktor 3 verbessert. Mit einem zweiten Durchlauf, d. h. nach einer doppelten lokalen Versatzkorrektur, kann die Zielgenauigkeit des Lasers auf  $< 2 \mu\text{m}$  verbessert werden.

Eine solch hohe Genauigkeit ermöglicht sehr effiziente Arbeitsabläufe in der positionsspezifischen Probenpräparation, die einen massiven Materialabtrag und eine hochpräzise FIB-Bearbeitung erfordern, wie anhand der beispielhaft vorgestellten Probenpräparation für eine LEAP gezeigt wurde.

## Referenzen

- [1] J. Meijer et al., Laser Machining by short and ultrashort pulses, state of the art and new opportunities in the age of the photons, CIRP Ann.Manuf. Technol. 51 (2002), pp. 531–550.
- [2] <https://3d-micromac.com/laser-micromachining/products/microprep/>
- [3] M.P. Echlin et al., The TriBeam system: Femtosecond laser ablation in situ SEM, Mater. Charact. 100 (2015), pp 1–12.
- [4] B. Tordoff et al., The LaserFIB: New Application Opportunities Combining a High-Performance FIB-SEM with Femtosecond Laser Processing in a Second Integrated Chamber, Appl. Microsc. 50 (2020), pp. 1–11.
- [5] Die Laserscanfläche ist insgesamt  $40 \times 40 \text{mm}$  groß.
- [6] <https://www.zeiss.com/microscopy/int/products/microscope-software/zen-intellectis-image-segmentation-by-deep-learning.html>
- [7] [www.appeer.com](http://www.appeer.com)
- [8] FIB-SEM Fabrication of Atom Probe Specimens with ZEISS Crossbeam, ZEISS Application Note (2021), [https://zeiss.widen.net/s/bjrw8phmjs/en\\_wp\\_crossbeam\\_fib-sem\\_atom\\_probe\\_specimens](https://zeiss.widen.net/s/bjrw8phmjs/en_wp_crossbeam_fib-sem_atom_probe_specimens)

