

## **Abschlussbericht**

### **zur Bekanntmachung**

### **Enabling Technologies für die Quantentechnologien**

**Verbundnamen:** Entwicklung von Lichtquellen für verschränkte Zweiphotonenabsorption zur Anwendung für quanten-gestützte Fluoreszenzmikroskopie

**Akronym:** LIVE2QMIC  
**FKZ:** 13N15954

**Teilvorhaben:** Entwicklung von Photonenpaarquellen für verschränkte Zweiphotonenabsorption zur Anwendung für quanten-gestützte Fluoreszenzmikroskopie  
[kurz: LIVE2QMIC-Photonenpaarquellen]

#### **Schlagworte zum Verbund (max. 10):**

Quantum Imaging, Fluoreszenzmikroskopie, verschränkte Zweiphotonenabsorption (ETPA)

#### **Teilprojektleiter:**

Tobias B. Gäbler  
Fraunhofer-Institut für Angewandte Optik und Feinmechanik IOF  
Albert-Einstein-Straße 7; 07745 Jena  
03641/807485  
tobias.bernd.gaebler@iof.fraunhofer.de

## Teil I: Kurzbericht

Das Gesamtziel des Forschungsvorhabens LIVE2QMIC war die Bereitstellung von Lichtquellen für verschränkte Zweiphotonenabsorption (ETPA) in Fluorophoren mittels derer eine quanten-gestützte bildgebende Fluoreszenzmikroskopie in den Lebenswissenschaften und in der Medizin erstmals möglich gemacht werden. Um dieses hochgesteckte Ziel zu erreichen waren sowohl Innovationen auf dem Gebiet der Erzeugung der Photonenpaaren als auch auf den dafür notwendigen Laser-Pumpquellen notwendig.

Das Teilvorhaben LIVE2QMIC-Photonenpaarquellen beschäftigte sich mit der wissenschaftlich-technischen Realisierung von Photonenpaarquellen, die die ETPA antreiben und damit die Fluoreszenz auslösen. Ziel war es ein Optimum an Laserparametern zu finden und zu verifizieren, die eine effiziente ETPA-Anregung ermöglichen. Um die Anwendbarkeit zu maximieren wurden ETPA-Laborquellen sowohl im Dauerstrich (Continuous Wave, CW) als auch im gepulsten Regime für verschiedene Pumpwellenlängen entwickelt, aufgebaut, und auf einfachen offenen Mikroskopiesystemen erprobt.

Zum einen wurde eine hocheffiziente CW Laborquelle aufgebaut, welches einen periodisch gepolten Lithiumniobat-Wellenleiter als Konvertierungsmedium verwendete.<sup>a</sup> Mit dieser Quelle werden verschränkte Photonen mit einer Wellenlänge von 810nm erzeugt. Die Möglichkeit der Fluoreszenzanregung mithilfe dieser Quelle wurde anhand von Quantenpunkt-Lösungen mit sehr hohen Fluoreszenzeffizienten getestet. Allerdings konnte keine Fluoreszenzemission aufgrund der limitierten Laserleitung nachgewiesen werden. Eine geplante Umsetzung dieser ETPA-Quelle mit einem CW Laser mit höherer Leistung konnte aufgrund des Rückzuges des Projektpartners MSquared Lasers GmbH (MSL) nicht realisiert werden.

Zwei weitere ETPA-Laborquellen mit verschiedenen Konvertierungswellenlängen von 988nm bzw. 1064nm, welche auf gepulsten Lasern des Projektpartners PicoQuant GmbH (PQ) basieren, wurden ebenfalls aufgebaut und getestet. Ausgehend von den theoretischen Ergebnissen des Projektpartners Friedrich-Schiller-Universität (FSU), wurde mit einer dieser Quellen in den Laboren von PQ ein anwendungsnaher Test am Farbstoff Nil Rot durchgeführt.<sup>b</sup> Trotz der Optimierung des Aufbaus auf Grundlage der theoretischen Berechnungen der FSU und der Verwendung hochsensitiver Detektoren der PQ konnte ebenfalls keine Zwei-Photonen-Fluoreszenzemission festgestellt werden. Auch konnte durch Vergleichsmessungen an der FSU gezeigt werden, dass für signifikante Zwei-Photonen-Fluoreszenzsignale Anregungsleistungen von über 1mW notwendig sind. Diese notwendige Leistung wird derzeit von keiner wissenschaftlich oder kommerziell bekannten Photonenpaarquelle erreicht.

Der fehlende Nachweis von Fluoreszenz angetrieben durch ETPA entspricht auch dem aktuellen wissenschaftlichen Kenntnisstand. Derzeit konzentriert sich die

---

<sup>a</sup> T. B. Gäbler et al., Photon Pair Source based on PPLN-Waveguides for Entangled Two-Photon Absorption, *Advanced Physics Research* 3 (2), 2300037 (2023)

<sup>b</sup> A. Krstić et al., Enhancing entangled two-photon absorption of Nile Red via temperature-controlled SPDC, *APL Quantum* 2, 016108 (2025)

Forschungstätigkeit im Bereich ETPA auf die Abschätzung von Detektionsgrenzen<sup>c</sup> und Optimierung der Licht-Materie-Wechselwirkung.<sup>d</sup>

Alle entwickelten Quellen zeigen dennoch eine höhere Helligkeit als alle bisher kommerziell erwerblichen Photonenpaarquellen (siehe Tabelle 1 in Teil II des Abschlussberichtes) und erlauben somit einen Einsatz in anderen Anwendungsfeldern, wie zum Beispiel in der Quantenkommunikation oder im optischen Quantum Computing. Auf Basis des Technologietransfers an PQ konnten die gewonnenen Erkenntnisse in einem Demonstrator umgesetzt werden, welcher nun für weitere quantentechnologischen Anwendungen kommerziell erhältlich ist.

Final sollten die Demonstratoren an kommerzielle Mikroskope angeschlossen und ihre Funktionstüchtigkeit erprobt werden. Dies konnte leider aufgrund des fehlenden Nachweises von ETPA-angetriebener Zwei-Photonen-Fluoreszenz nicht bewerkstelligt werden.

Neben der Erprobung von ETPA wurde die Möglichkeit für die Fluoreszenz-Lebenszeit-Mikroskopie (FLIM) untersucht. Dabei zeigte sich, dass verschränkte Photonen aufgrund ihrer Energie- und Zeitkorrelationen geeignet sind, FLIM im Zeitbereich unter Verwendung von CW Pumplasern zu ermöglichen.<sup>e</sup> Die übliche Methodik für FLIM im Zeitbereich basiert auf der gepulsten Anregung von Fluoreszenzfarbstoffen. Bei einem Vergleichstest konnte auch gezeigt werden, dass ähnliche Genauigkeiten wie ein kommerzielles FLIM-Mikroskop des Projektpartners FSU erreicht werden können. Allerdings sind noch weitere Verbesserungen von FLIM mit verschränkten Photonen im Hinblick auf die benötigte Messzeit und Auflösung notwendig. Diese Thematik bietet einen möglichen Anschlusspunkt für nachfolgende Forschungsprojekte.

---

<sup>c</sup> Unter anderen in: T. Landes et al., Limitations in fluorescence-detected entangled two-photon-absorption experiments: Exploring the low- to high-gain squeezing regimes, *Physical Reviews A* 110, 033708 (2024)

<sup>d</sup> Unter anderen in: K. M. Parzuchowski et al., A Liquid-Core Fiber Platform for Classical and Entangled Two-Photon Absorption Measurements, arXiv:2410.14828 (2024)

<sup>e</sup> T. B. Gäbler et al., Benchmarking of Fluorescence Lifetime Measurements using Time-Frequency Correlated Photons, arXiv:2501:08870 (2025)

## Teil II: Eingehende Darstellung

Um das gesetzte Ziel von hocheffizienten Photonenpaarquellen zu erreichen, konzentrierte sich die durchgeführte Forschungsarbeit zunächst auf die Optimierung des Erzeugungsprozesses der parametrischen Fluoreszenz (engl.: Spontaneous parametric Down-Conversion, kurz: SPDC). Der erste Schritt hierfür stellt die Untersuchung verschiedener, optisch nichtlinearer Kristallmaterialien, insbesondere periodisch gepolter Lithiumniobat (kurz: ppLN) und periodisch gepoltes Kaliumtitanylphosphat (kurz: ppKTP), mit unterschiedlichen Geometrien und Kristallorientierungen dar. Das ist notwendig, da die Phasenanpassungsbedingungen und damit auch die Erzeugungseffizienzen stark davon abhängig sind, wie das Pumplicht durch das Material propagiert. Hierfür wurden mehrere Kristalle bzw. Wellenleiter von externen Anbietern eingekauft. Um eine optimale Lichtausbeute zu erreichen, wurden zudem die nichtlinearen Materialien als auch die Fokussierungsoptiken auf feinjustierbaren Mechaniken befestigt. Diese wurden für die schnellere Handhabung zu einem späteren Zeitpunkt teilweise motorisiert<sup>f</sup>. Eine hervorzuhebende Erkenntnis dabei war, dass optisch nichtlineare Wellenleiter im Vergleich zu voluminösen Kristallen zwar schmalere Photonenpaarspektren aufzeigen, aber eine wesentlich höhere Paarerzeugungsrate aufweisen (siehe Abbildung 1 und Abbildung 2).

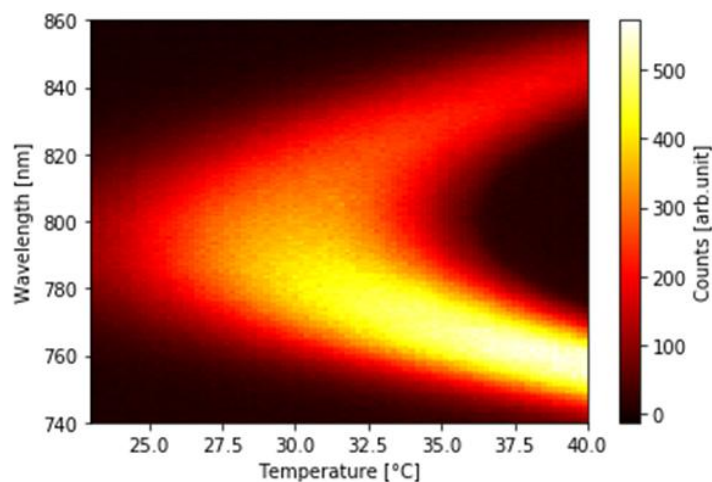


Abbildung 1: Einzelphotonenspektrum eines ppKTP-Kristalls mit den Abmessungen 1mm x 1mm x 20mm

<sup>f</sup> E. Prenzel, Automatization and Characterization of an Entangled Photon Pair Source for Two-Photon Fluorescence Applications, Bachelorarbeit, Friedrich-Schiller-Universität Jena (2023)

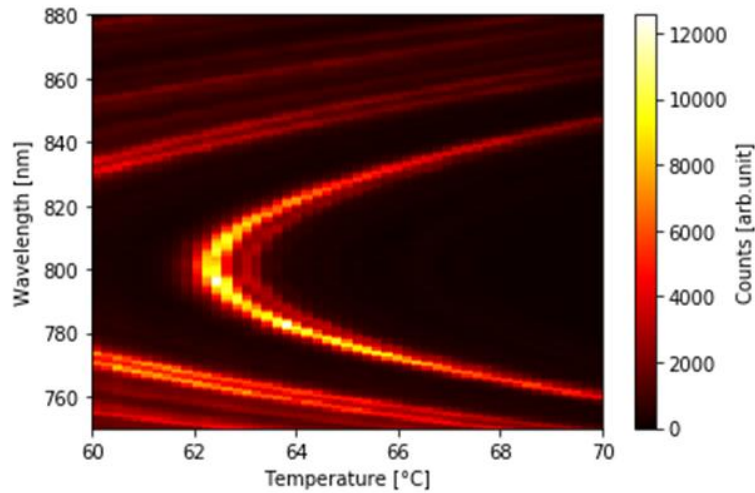
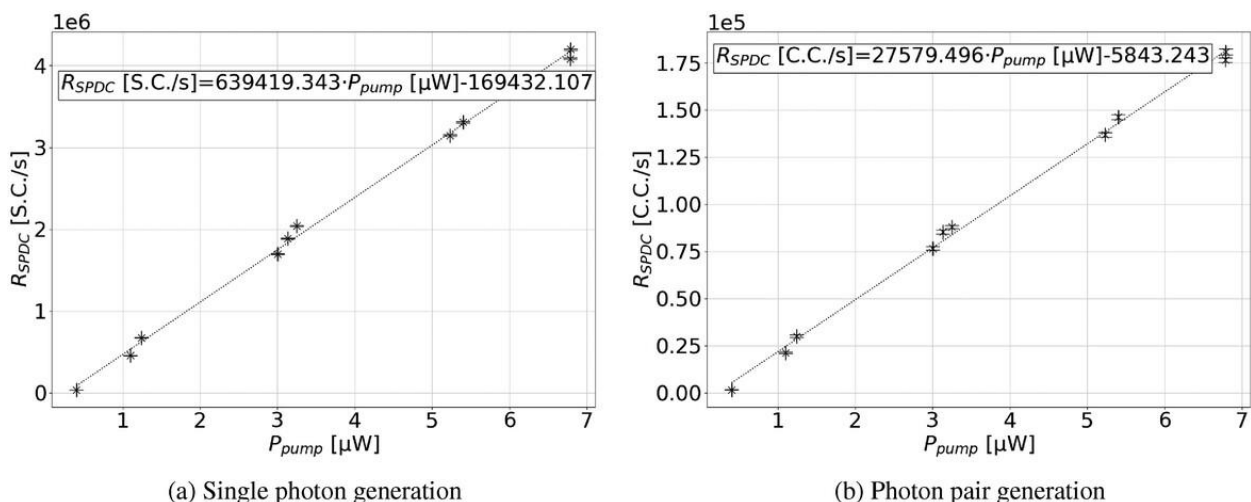


Abbildung 2: Einzelphotonenspektrum eines ppLN-Wellenleiters mit den Abmessungen  $6\mu\text{m} \times 10\mu\text{m} \times 20\text{mm}$

Ein limitierender Faktor stellt dabei die maximale Laserpumpleistung dar. Während voluminöse nichtlineare Kristalle für untersuchte Pumpleistungen bis zu  $500\text{ mW}$  thermisch stabil blieben, zeigten Wellenleiter bereits Beschädigungen ab Pumpleistungen von  $50\text{ mW}$  auf. Aufgrund dieser Limitierung wurde Photonenpaarquellen mit beiden Materialklassen aufgebaut.

Im Rahmen des Projektes wurde zunächst der Fokus auf den Aufbau einer CW Laborquelle mit einer Pumpwellenlänge von  $405\text{ nm}$  und Zentralwellenlänge der verschränkten Photonenpaare von  $810\text{ nm}$  gelegt.<sup>9</sup> Diese wurde bzgl. der erzielbaren Photonenpaarrate, Korrelationsintensität und Verschränkungszeit charakterisiert und die ETPA-Anregung an verschiedenen Fluoreszenzfarbstoffen getestet. Dabei konnten generierte Photonenraten von etwa  $6,4 \cdot 10^5 \frac{\text{Einzelphotonen}}{\text{s} \cdot \mu\text{W}_{\text{pump}}}$  and Paarraten von  $2,7 \cdot 10^4 \frac{\text{Paare}}{\text{s} \cdot \mu\text{W}_{\text{pump}}}$  gemessen werden (Abbildung 3). Dies führt zu einer Intensität der Photonenpaarquelle von  $0,28 \frac{\text{nW}_{\text{SPDC}}}{\text{mW}_{\text{pump}}}$  (Abbildung 4).



(a) Single photon generation

(b) Photon pair generation

Abbildung 3: Einzelphotonen- und Photonenpaaremission der Laborquelle für  $810\text{ nm}$

<sup>9</sup> T. B. Gäbler et al., Photon Pair Source based on PPLN-Waveguides for Entangled Two-Photon Absorption, Advanced Physics Research 3 (2), 2300037 (2023)

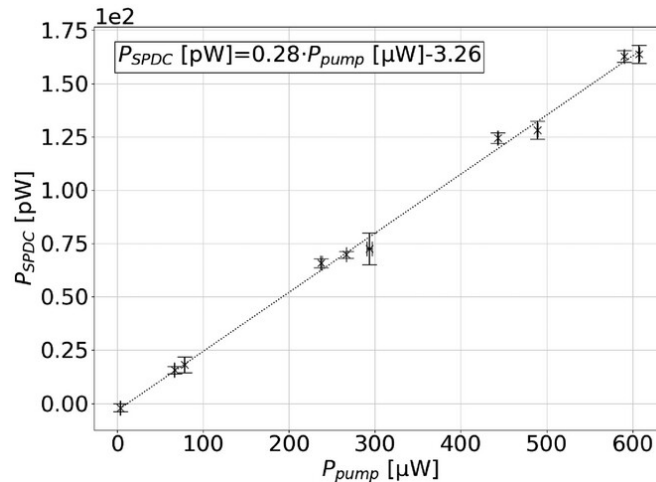


Abbildung 4: Emittierte Lichtleistung der Laborquelle für 810 nm im Bereich kleiner Pumpleistungen

Die Verschränkungszeit, welche ein Maß für den Laufzeitunterschied zwischen zwei miteinander verschränkten Photonen darstellt, konnte auf etwa 410 fs abgeschätzt werden (siehe Abbildung 5).

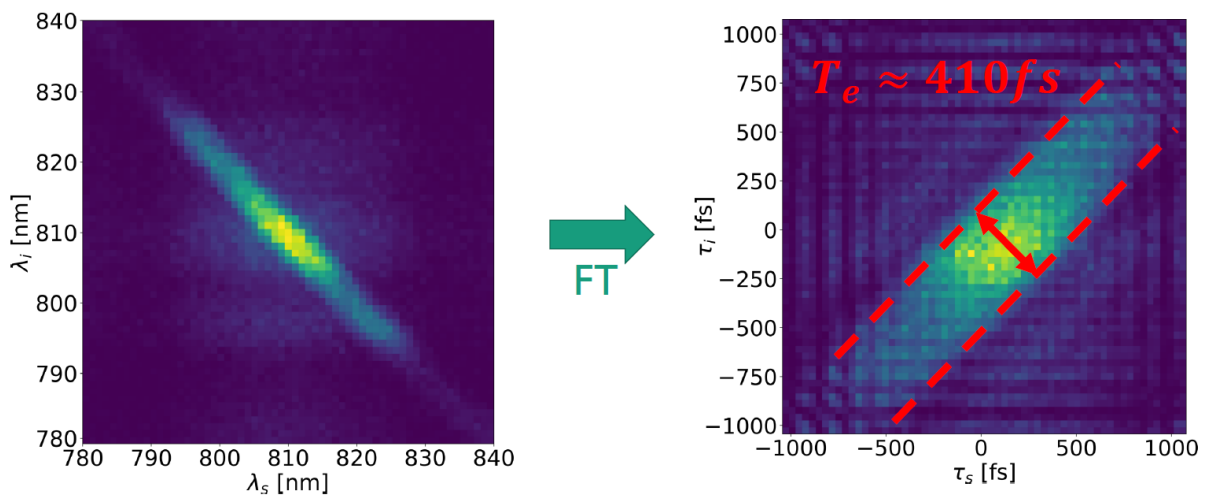


Abbildung 5: Joint Spectral Intensity (links) und Joint Temporal Intensity (rechts) für die Abschätzung der Verschränkungszeit der CW Laborquelle

Im Kontext von verschränkter Zwei-Photonen-Absorption bedeutet dies, dass ein molekularer Zwischenzustand eines Farbstoffes möglichst diese Zeit als Lebenszeit aufweisen muss. Zum Vergleich weisen die Zwischenzustände von Goldnanopartikel eine Lebenszeit von 3,1 ps<sup>h</sup> oder Quantenpunktssysteme eine Lebenszeit von 40 ps<sup>i</sup> auf, welche wesentlich länger sind als die abgeschätzte Verschränkungszeit der generierten Photonenpaare.

Bei Messungen an verschiedenen Cadmiumselenid-Zinksulfid-Quantenpunktenlösungen konnte ein Absorptionsverhalten festgestellt werden, welches dem von ETPA entspricht (Abbildung 6). Allerdings war es nicht möglich, andere möglicherweise auch auftretende

<sup>h</sup> X.-F. Jiang et al., Excitation Nature of Two-Photon Photoluminescence of Gold Nanorods and Coupled Gold Nanoparticles Studied by Two-Pulse Emission Modulation Spectroscopy, J. Phys. Chem. Lett. 4 (10), 1634-1938 (2013)

<sup>i</sup> P. Aivaliotis et al., Two photon absorption in quantum dot-in-a-well infrared photodetectors, Appl. Phys. Lett. 92, 023501 (2008)

Effekte, die ein ähnliches Verhalten hervorrufen, auszuschließen (Abbildung 7). Derartige Effekte wurden während der Laufzeit des Projektes von anderen Forschergruppen genauer betrachtet<sup>i</sup> und als mögliche Ursache für den scheinbaren Nachweis von ETPA in vorherigen Studien aufgeführt.

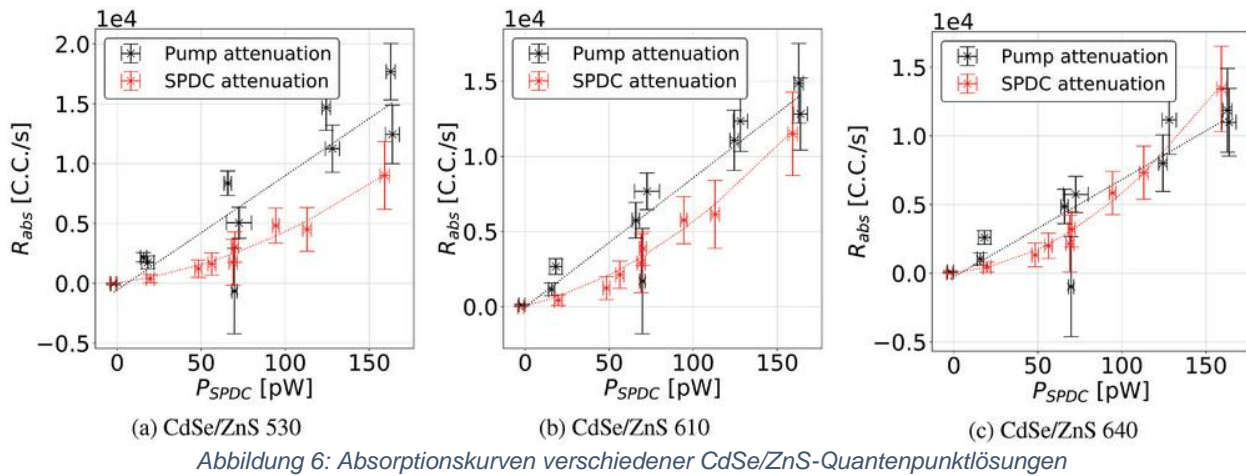


Abbildung 6: Absorptionskurven verschiedener CdSe/ZnS-Quantenpunkt-Lösungen

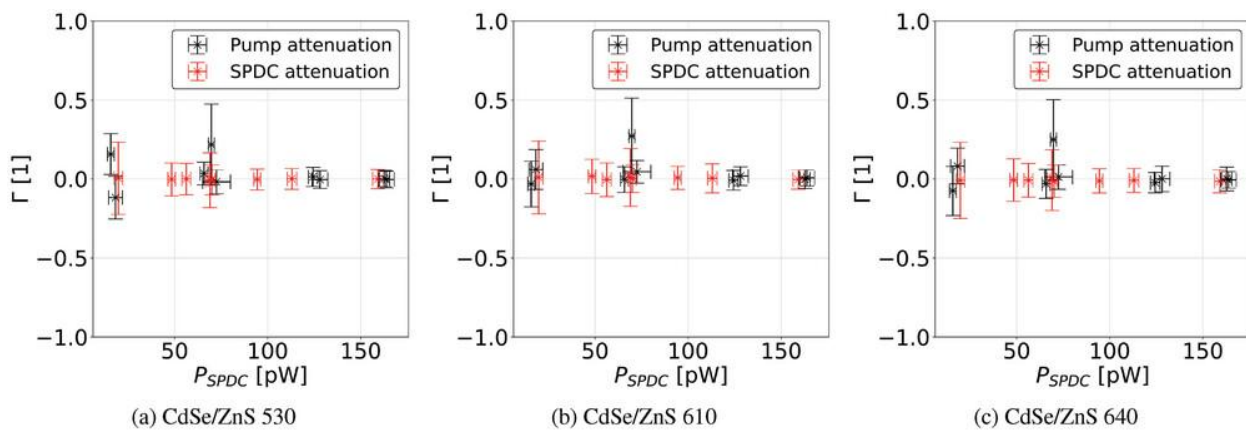


Abbildung 7: Zwei-Photon-Absorptionsrate  $\Gamma$  verschiedener CdSe/ZnS-Quantenpunkt-Lösungen. Da keine signifikanten Werte abweichend von  $\Gamma = 0$  auftreten, kann nicht eindeutig eingeordnet werden ob das gemessene Absorptionsverhalten aus Einzelphoton- oder Zwei-Photonen-Absorption resultiert

Weiterhin konnte mit der CW Laborquelle keine Fluoreszenzemission detektiert werden. Legt man die gemessenen Absorptionsquerschnitte zu Grunde, so lässt sich eine maximal erwartbare Rate von Fluoreszenzphotonen von  $2,4 \cdot 10^{-11} s^{-1}$  berechnen. Mit dem derzeitigen Stand der Technik ist es nicht möglich, diese äußerst geringe Photonenrate zu detektieren.

Zwei weitere Laborquelle mit Pumpwellenlängen bei  $488 \text{ nm}$  und  $532 \text{ nm}$  wurden auf Grundlage von gepulsten Lasern des Projektpartners PQ entwickelt, welche die Erzeugung von verschränkten Photonennpaaren bei Zentralwellenlängen von  $976 \text{ nm}$  bzw.  $1064 \text{ nm}$  ermöglichen. Beide Quellen wurden bzgl. ihrer wesentlichen Eigenschaften der Photonennpaarerzeugung getestet. Insbesondere bei der Entwicklung der Quelle für Photonennpaare bei  $1064 \text{ nm}$  erfolgte ein enger Austausch mit der FSU. Auf Basis deren theoretischen Modells zum ETPA-Absorptionsverhalten von Fluoreszenzfarbstoffen wurde diese Laborquelle so angepasst, um optimale

<sup>i</sup> A. Mikhaylov et al., Hot-band absorption can mimic entangled two-photon absorption, Phys. Chem. Lett. 13 (6), 1489–1493 (2022)

Voraussetzungen zur Anregung von Fluoreszenz am Farbstoff Nil Rot zu schaffen. Dieser Test wurde im November 2023 beim Projektpartner PQ durchgeführt, um dessen verfügbare hochsensitive Detektortechnologie zu nutzen.<sup>k</sup> Allerdings konnte auch hierbei keine Fluoreszenzemission festgestellt werden. Das gemessene Absorptionsverhalten folgt dem theoretischen Model der FSU leider nur unzureichend, so dass keine abschließende Validierung des Modells möglich war (siehe Abbildung 8).

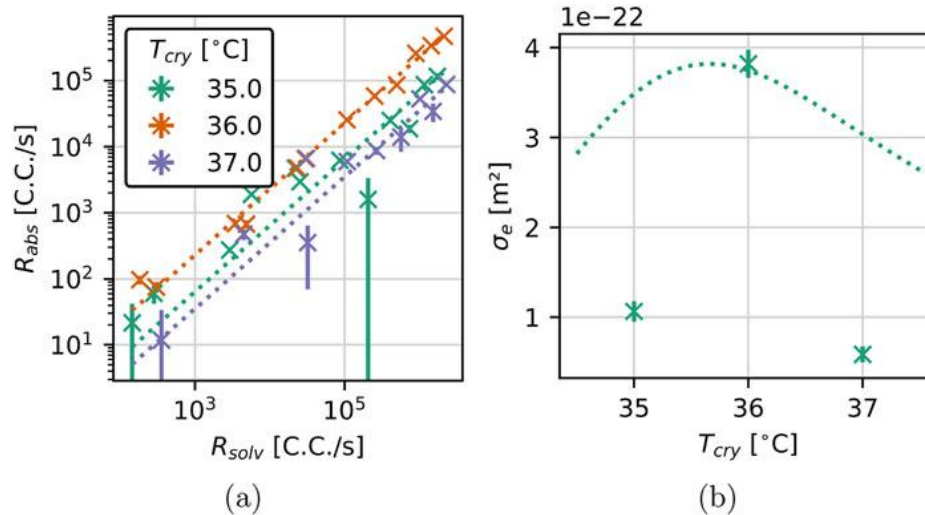


Abbildung 8: Absorption von Photonengruppen in Nil Rot (a) und die dazugehörigen Absorptionsquerschnitte (b). Die gepunktete Linie in (b) zeigt das von der Modellierung vorhergesagte Verhalten an

Im Zuge der Untersuchungen am Fluoreszenzfarbstoff Nil Rot wurde auch die minimale Detektionsgrenze für klassische Zwei-Photonen-Fluoreszenz ermittelt. Dies ermöglicht eine Abschätzung, welche Intensität eine Photonengruppenquelle aufweisen muss, um eine Fluoreszenzanregung zu ermöglichen. Bei einem Test mit einem an der FSU verfügbaren Leica Stellaris 8 Mikroskop wurde eine Grenze von 1 mW Anregungsleistung sichtbar. Für Anregungsleistungen unterhalb von 1 mW konnte kein signifikantes Fluoreszenzsignal gemessen werden (siehe Abbildung 9). Im Vergleich erreichen die Photonengruppenquellen, welche im Rahmen dieses Projektes entwickelt wurden, lediglich Leistungen im Bereich von wenigen nW. Auch wenn ETPA getriebene Fluoreszenz einen Vorteil bzgl. der Fluoreszenzanregungsrate im Bereich kleiner Photonengruppen gegenüber klassischer Zwei-Photonen-Absorption bietet, gibt diese festgestellte Grenze einen Anhaltspunkt, welche Leistungsbereiche Photonengruppenquellen erreichen müssen. Bezüglich dieses Faktors verhinderte die fehlende Mitwirkung des Projektpartners MSquared Lasers GmbH eine weitere signifikante Leistungssteigerung der Photonengruppenquellen. Der ursprünglich geplante Einsatz eines Hochleistungslasers vom MSL hätte Leistungen in den Bereich von bis zu mehreren 100 µW ermöglicht, welche die Wahrscheinlichkeit auf Erreichung des Projektzieles erhöht hätte.

Daraus folgend, und auch in Übereinstimmung mit der verfügbaren wissenschaftlichen Literatur, musste bereits am Ende des zweiten Projektjahres festgestellt werden, dass das formulierte Projektziel eines Zwei-Photonen-Mikroskops mit verschränkten Photonen nicht bis Projektende erreichbar ist.

<sup>k</sup> A. Krstić et al., Enhancing entangled two-photon absorption of Nile Red via temperature-controlled SPDC, APL Quantum 2, 016108 (2025)

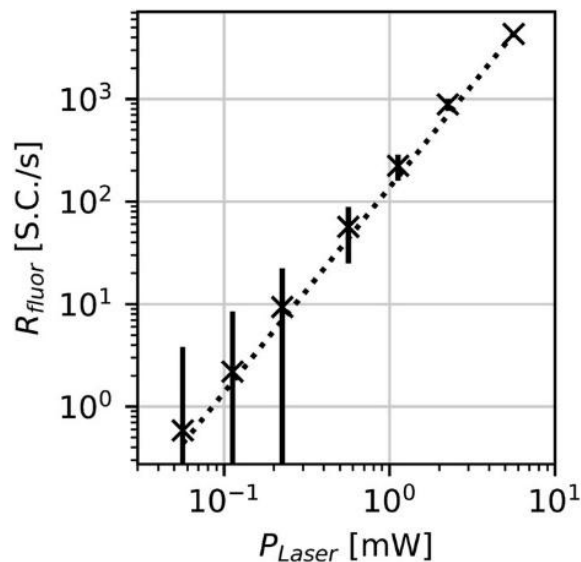


Abbildung 9: klassische Zwei-Photonen-Fluoreszenz für stark reduzierte Anregungsleistungen

Alle während des LIVE2QMIC-Projekts entwickelten Laborquellen weisen eine höhere Photonenpaarrate auf als die meisten, zu Projektende kommerziell erhältlichen Quellen (siehe Tabelle 1). Außerdem beschränkten sich kommerzielle Quellen auf die für die Telekommunikation bedeutenden Wellenlängen bei 800 nm und 1550 nm, wohingegen insbesondere die Laborquellen basierend auf den gepulsten Lasern von PQ Wellenlängenbereiche adressieren, welche für Anwendungen in der medizinischen und biologischen Bildgebung interessant sind. Mit Blick auf das gesetzte Ziel der Entwicklung lichtstarker Quellen von verschränkten Photonenpaaren ist das Projekt somit als Erfolg zu bewerten. Das gesetzte Ziel einer durchstimmbaren CW Quelle konnte aufgrund fehlender Mitwirkung des Projektpartners MSL nur im eingeschränkten Maße erreicht werden. Die Durchstimmbbarkeit beschränkt sich auf die Möglichkeit, über die Temperatur des verwendeten nichtlinearen Kristalls, welche die Phasenanpassungsbedingung beeinflusst, die Wellenlänge der generierten verschränkten Photonen zu verändern.

Manufacturer	Live2QMic-Projekt			Thorlabs		OZ Optics	Aurea Technology	NuCrypt	Quantum Optics Jena			Quantum Industries GmbH
	810	1064	976	SPDC81 ON	SPDC8 10	DTS01 92	TPS_1550_T YPE_II	EPS-1000-W	HD 800	HD 1300	HD 1500	-
Max. Photon Pair Rate[Mio./s]	1.4x10 <sup>3</sup>	6.0x10 <sup>4</sup>	2.1x10 <sup>2</sup>	> 0.1	> 0.45	< 10	> 1	?	> 50	> 40	> 40	> 3x10 <sup>4</sup>
Wavelength [nm]	810	1064	976	810	810	810 or 1550	1550	1550	800	1300	1500	1550
Spectral Bandwidth [nm]	20	60	40	< 0.25	10	3.0 or 80.0	2	16	0.6 or 3.0	0.6 or 3.0	0.6 or 3.0	30
Tunability [nm]	± 25	± 90	± 50	± 8	0	?	± 2	?	?	?	?	?
CW / IPL	CW	IPL	IPL	CW	CW	CW	CW	IPL	CW	CW	CW	?
Max. Pump Power [mW]	50	300	165	40	150	15	5	?	?	?	?	?

Tabelle 1: Überblick von Photonenpaarquellen aufgebaut im LIVE2QMIC-Projekt verglichen zu kommerziell erhältlichen Quellen

Durch den Technologietransfer an PQ im konnten das Konzept der Laborquelle für 1064 nm erfolgreich in einen Demonstrator umgesetzt werden. Ein Demonstrator,

welcher auf der gleichen Technologie basiert, ist seit Projektende bei PQ für potenzielle Anwender erhältlich<sup>l</sup>.

Um dennoch realisierbare Anwendungen für verschränkte Photonen in Mikroskope aufzuzeigen, intensivierte sich die Forschungsarbeit des IOF im letzten Projektjahr auf die Möglichkeit der Fluoreszenz-Lebenszeit-Mikroskopie (FLIM).<sup>m</sup> Die Fluoreszenz wird dabei mittels Einzelphotonenabsorption angeregt, welche wesentlich höhere Quantenausbeuten im Vergleich zu Zwei-Photonen-Absorption erlaubt. Unter dieser Voraussetzung ist es möglich, Fluoreszenz mit den im Projekt entwickelten Photonenpaarquellen anzuregen. Grundlage für die Bestimmung der Lebenszeiten von Fluoreszenzfarbstoffen ist die Möglichkeit einer Separierung der Photonen eines Paares. Dies kann beispielsweise aufgrund der Polarisation oder der Wellenlänge geschehen. Eines der Photonen fungiert dabei als Zeittrigger indem es von einem Einzelphotonendetektor registriert wird. Das zugehörige Partnerphoton wird durch den Fluoreszenzfarbstoff absorbiert, so dass dieser ein Fluoreszenzphoton emittiert. Dieses Photon wird durch weiteren Einzelphotonendetektor registriert. Durch zeitkorrelative Messung beider Signale kann die Fluoreszenzlebenszeit bestimmt werden.

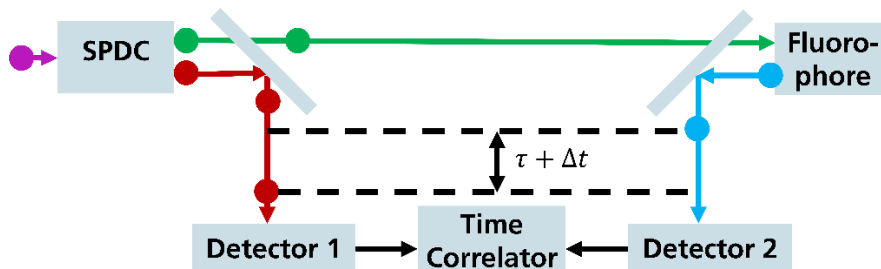


Abbildung 10: Prinzip von Fluoreszenz-Lebenszeit-Mikroskopie mithilfe verschränkter Photonen

Wesentlicher Vorteil dieser Method ist, dass FLIM im Zeitbereich im CW Anregung und minimaler Beleuchtungsleistung möglich ist. Im Gegensatz zu klassischen FLIM im Zeitbereich, welche nur mittels gepulster Anregung möglich ist, kann diese Methode das Risiko von Photobleichung reduzieren.

Für die experimentelle Umsetzung dieses Konzeptes wurde die entwickelte 810 nm Laborquelle verwendet (Abbildung 11). Die Separierung der verschränkten Photonen geschieht über dichroitische Spiegel. Dabei werden die langwelligeren Photonen zum Detektor geleitet, welcher die Zeitmessung auslöst. Die kurzwelligeren Photonen werden auf die Fluoreszenzprobe geführt. Als Probe wurde der Farbstoff IR-140 verwendet, da dessen Bande für Einzelphotonenabsorption bei etwa 800 nm aufweist. Die emittierten Fluoreszenzphotonen mit einer Wellenlänge um 850 nm wurden mittels eines zweiten dichroitischen Spiegels zu einem zweiten Einzelphotonendetektor geleitet.

<sup>l</sup> PicoQuant GmbH, Product Studies: High-power picosecond pulses at 488 nm, <https://www.picoquant.com/scientific/product-studies/high-power-picosecond-pulses-at-488-nm> (Zugriffsdatum 26.02.2025)

<sup>m</sup> T. B. Gäbler et al., Benchmarking of Fluorescence Lifetime Measurements using Time-Frequency Correlated Photons, arXiv:2501:08870 (2025)

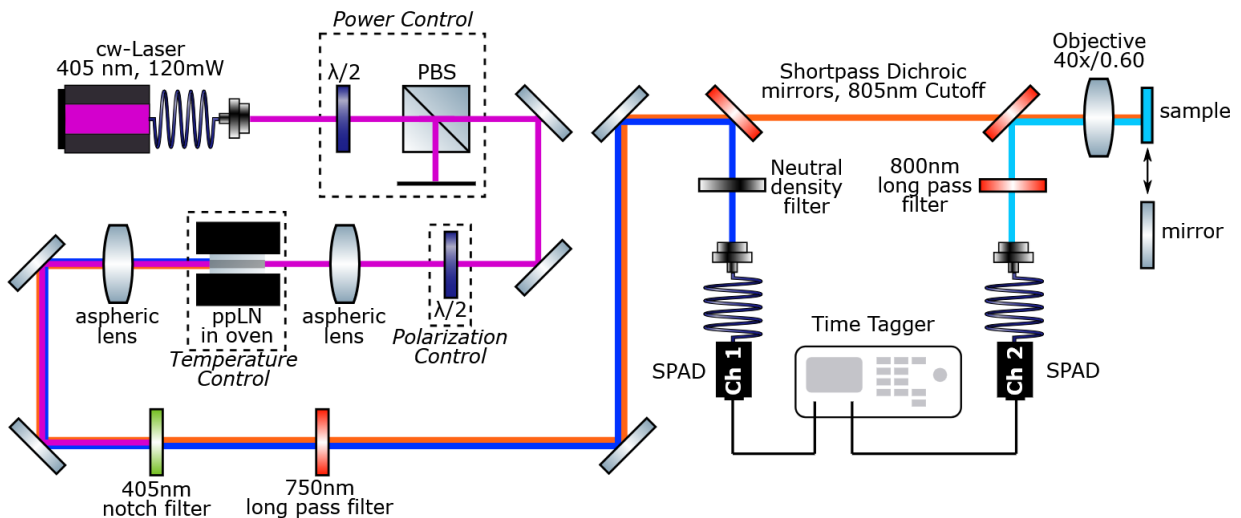


Abbildung 11: Experimentelle Umsetzung von FLIM mit verschränkten Photonen

Ähnlich wie in klassischer Fluoreszenzlebenszeitmikroskopie spielt das zeitliche Auflösungsvermögen der Detektionselektronik eine wichtige Rolle. Daher muss neben der Fluoreszenz auch die sogenannte Instrument Response Function (kurz: IRF) des Systems bestimmt werden. Diese Funktion beinhaltet all neben den zeitlichen Versatz beider Detektoren insbesondere auch deren elektrische Unschärfe, wenn diese ein Photon auffangen und in ein elektrisches Signal umwandeln. Für deren Bestimmung wurde die Probe mit einem Spiegel ausgetauscht und der 800nm-Langpassfilter entfernt, so dass zurückreflektierte Anregungsphotonen von dem zweiten Einzelphotonendetektor eingefangen werden. Für das verwendete Messsystem wurde eine zeitliche Unschärfe von etwa  $640 \text{ ps}$  festgestellt. Eine Lebenszeit kleiner als diese Unschärfe kann nicht bestimmt werden.

In Abbildung 12 ist ein Beispiel für die Histogramme von IRF und Fluoreszenzmessung dargestellt. Die unsymmetrische Verbreiterung des Fluoreszenzsignals wird durch Fluoreszenzlebenszeit verursacht. Durch eine numerische Parameteroptimierung beider Histogramme an vorgegebene Funktionen erfolgt die Bestimmung der Lebenszeit. Dabei ergab sich eine Lebenszeit von etwa  $900 \text{ ps}$  für den Farbstoff IR-140, wobei die Messsicherheit signifikant von der Messdauer abhängt (siehe Abbildung 13).

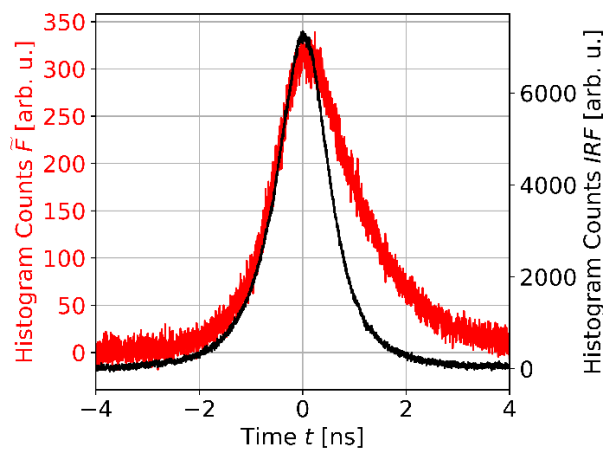


Abbildung 12: Instrument Response Function (schwarz) und Fluoreszenzsignal (rot) für eine Messzeit von 1h

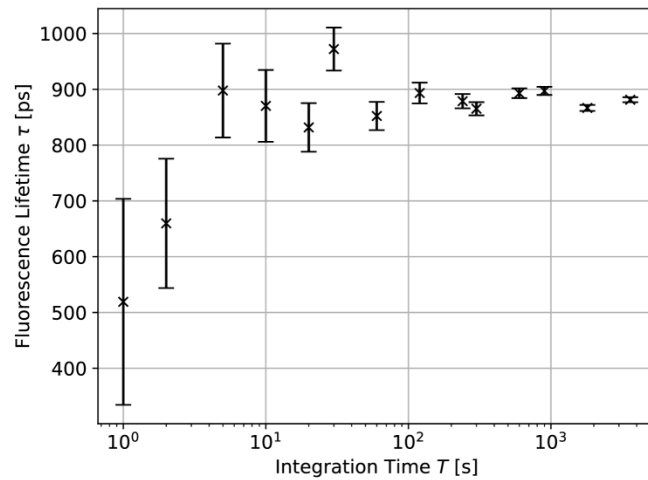


Abbildung 13: Fluoreszenzlebenszeit von IR-140 für verschiedene Messzeiten unter Verwendung verschränkter Photonen

Aufgrund der Durchstimmbarkeit der Wellenlänge der verschränkten Photonen, welche insbesondere unter Verwendung von nichtlinearen Wellenleitern möglich wird (siehe Abbildung 2), wurde weiterhin die Anwendbarkeit von spektral aufgelösten FLIM getestet. Dabei zeigte sich, dass dies konzeptionell umsetzbar ist. Allerdings konnte keine Abhängigkeit der Lebenszeit von IR-140 von der Anregungswellenlänge festgestellt werden (siehe schwarze Datenpunkte in Abbildung 14). Diese war auch aufgrund der Gültigkeit der Kasha-Regel nicht zu erwarten. Somit sind diesbezüglich weitere Studien notwendig, welche weitere Fluoreszenzfarbstoffe und einen weitreichenderen Wellenlängenbereich adressiert.

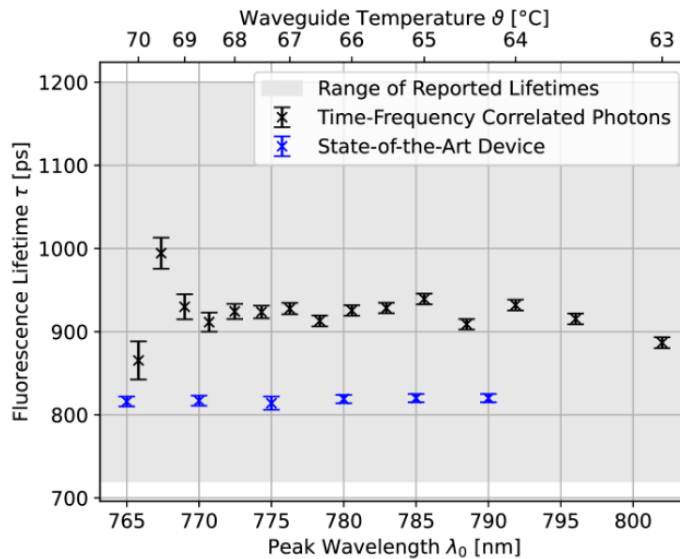


Abbildung 14: Fluoreszenzlebenszeit von IR-140 für verschiedene Anregungswellenlängen

Durch den Vergleich mit dem, bei Projektpartner FSU verfügbaren, Fluoreszenzmikroskop Leica Stellaris 8 konnten geringfügige Abweichungen zwischen der klassischen und quantenoptischen FLIM-Messmethode festgestellt werden (siehe blaue Datenpunkte in Abbildung 14). Jedoch liegen die Abweichungen innerhalb des Datenbereiches für die Lebenszeit von IR-140, welcher in der wissenschaftlichen Literatur angegeben ist.

Ein Vergleich der sogenannten Figure-of-Merit, welche durch das Verhältnis zwischen Messungengenauigkeit, gemessener Lebenszeit und detektierten Fluoreszenzphotonen

charakterisiert wird, ergab, dass FLIM mit verschränkten Photonen eine deutlich bessere Performance aufweist (siehe Abbildung 15). Das bedeutet, dass diese Methode mit einer wesentlich geringeren detektierten Photonenzahl identische Messgenauigkeiten erreichen kann.

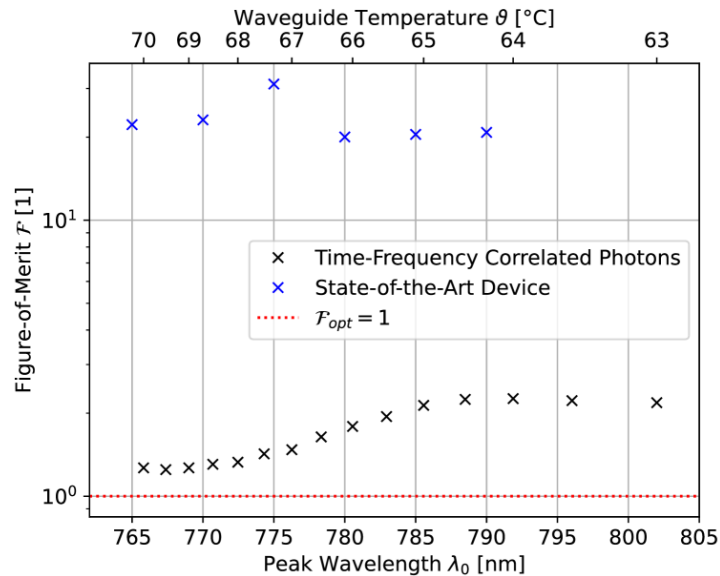


Abbildung 15: Figure-of-Merit von klassischem FLIM und FLIM mithilfe verschränkter Photonen

Aufgrund dieser vielversprechenden Ergebnisse zu FLIM mit verschränkten Photonen bietet sich diese Thematik für ein nachfolgendes Forschungsprojekt an. Dabei könnte eine Vielzahl von möglichen neuen Ansatzpunkten weiterverfolgt werden. Zum einen muss die Möglichkeit der Bildgebung weiterentwickelt werden, zum Beispiel durch Einbettung von einzelphotonendetektierenden Kameras (SPAD-Kameras), der Abrasterung der Probe oder der Kombination mit Ghost-Imaging. Durch den Einsatz der CW Anregung ist auch die Implementierung von FLIM im Frequenzbereich denkbar, bei der die Pumpleistung des nichtlinearen Materials amplitudenmoduliert wird. Zudem kann die Nutzungsmöglichkeit dieser Methode ausgeweitet werden, indem man weitere Wellenlängenbereiche adressiert, beispielsweise durch Verwendung durchstimmbarer Pumplaser.