



# Βιοϊατρική τεχνολογία

## Ενότητα 13: Οπτική και αρχές μικροσκοπίας

Αν. καθηγητής Αγγελίδης Παντελής

e-mail: [paggelidis@uowm.gr](mailto:paggelidis@uowm.gr)

ΕΕΔΙΠ Μπέλλου Σοφία

e-mail: [sbellou@uowm.gr](mailto:sbellou@uowm.gr)

Τμήμα Μηχανικών Πληροφορικής και Τηλεπικοινωνιών

---



# Άδειες Χρήσης

---

- Το παρόν εκπαιδευτικό υλικό υπόκειται σε άδειες χρήσης Creative Commons.
- Για εκπαιδευτικό υλικό, όπως εικόνες, που υπόκειται σε άλλου τύπου άδειας χρήσης, η άδεια χρήσης αναφέρεται ρητώς.



# Χρηματοδότηση

- Το παρόν εκπαιδευτικό υλικό έχει αναπτυχθεί στα πλαίσια του εκπαιδευτικού έργου του διδάσκοντα.
- Το έργο «**Ανοικτά Ψηφιακά Μαθήματα στο Πανεπιστήμιο Δυτικής Μακεδονίας**» έχει χρηματοδοτήσει μόνο τη αναδιαμόρφωση του εκπαιδευτικού υλικού.
- Το έργο υλοποιείται στο πλαίσιο του Επιχειρησιακού Προγράμματος «Εκπαίδευση και Δια Βίου Μάθηση» και συγχρηματοδοτείται από την Ευρωπαϊκή Ένωση (Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο) και από εθνικούς πόρους.



Ευρωπαϊκή Ένωση  
Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο



ΥΠΟΥΡΓΕΙΟ ΠΑΙΔΕΙΑΣ ΚΑΙ ΘΡΗΣΚΕΥΜΑΤΩΝ  
ΕΙΔΙΚΗ ΥΠΗΡΕΣΙΑ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗΣ

Με τη συγχρηματοδότηση της Ελλάδας και της Ευρωπαϊκής Ένωσης



# Σκοπός

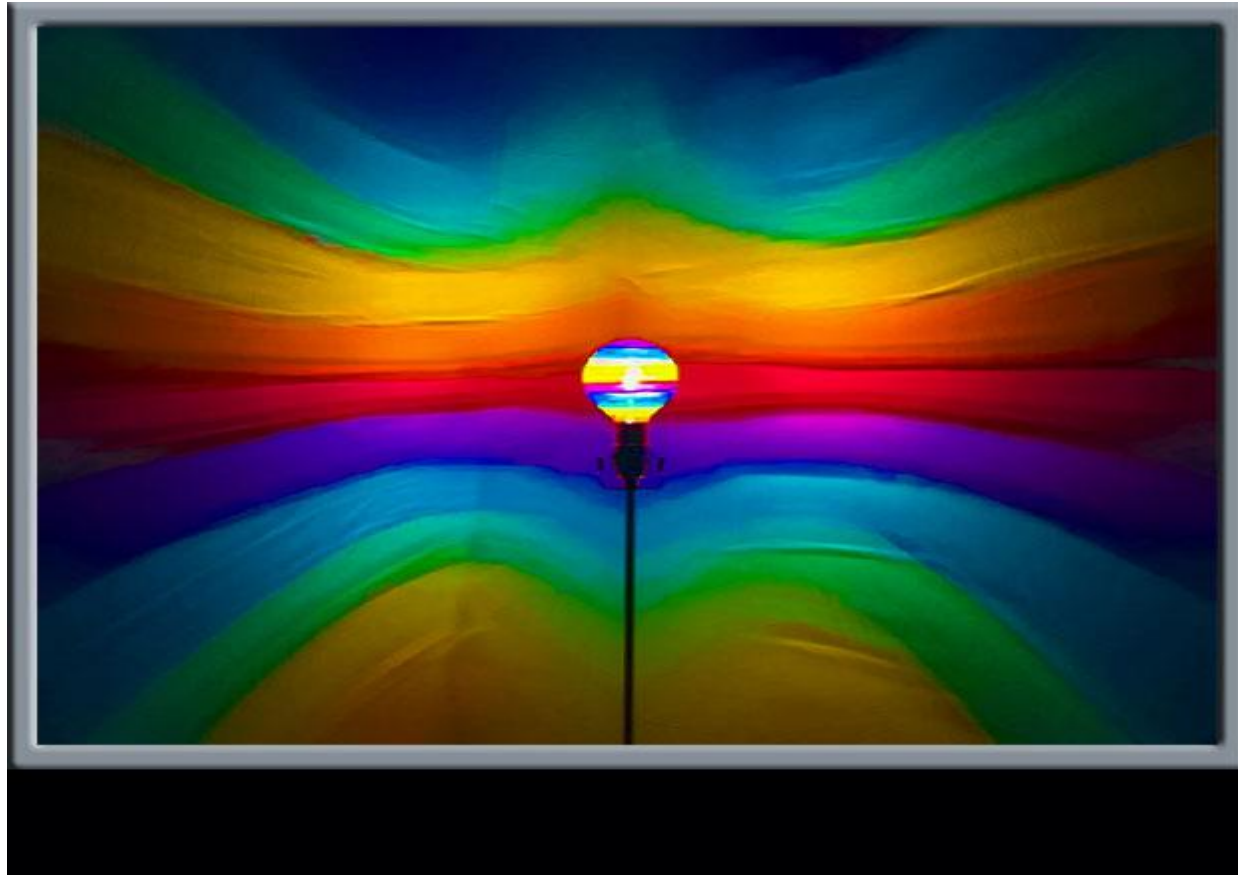
---

- Φύση του φωτός.
- Γεωμετρική οπτική.
- Οπτικό μικροσκόπιο.
- Ορθό και ανάστροφο μικροσκόπιο.



# Οπτική και αρχές μικροσκοπίας

---



Σοφία Μπέλλου, sbellou@uowm.gr



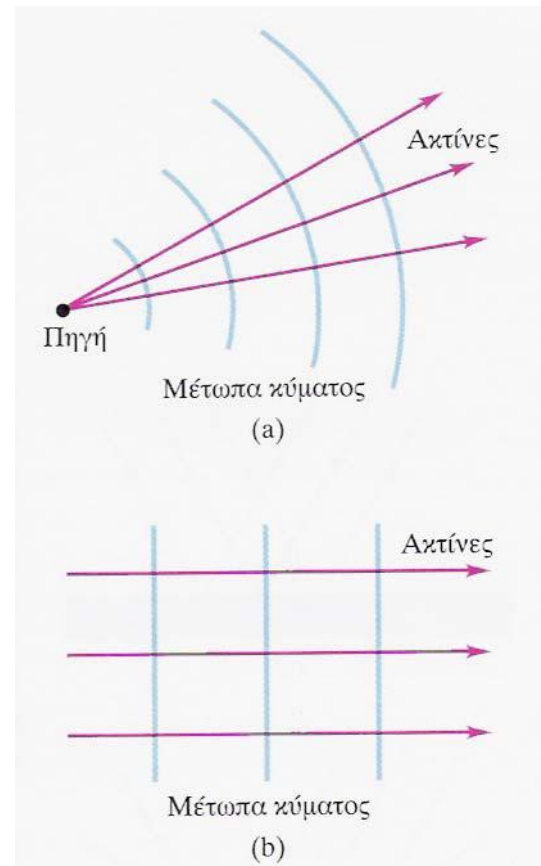
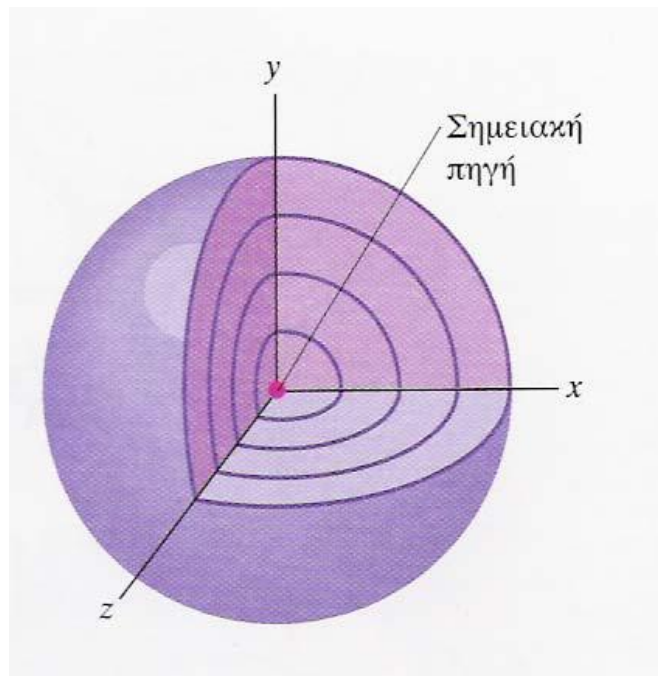
# Φύση του φωτός (1/2)

---

- Το φως είναι ηλεκτρομαγνητικό κύμα.
- Η διάδοση του φωτός περιγράφεται από το κυματικό μοντέλο.
- Η κατανόηση της εκπομπής και της απορρόφησης πραγματοποιείται από την προσέγγιση της σωματιδιακής άποψης.
- Η ενέργεια που μεταφέρεται από τα φωτεινά κύματα είναι κβαντισμένη.
- Από την κυματική σκοπιά, μία ακτίνα είναι μία υποθετική γραμμή κατά μήκος της κατεύθυνσης όδευσης του κύματος.
- Αν τα κύματα οδεύουν σε ισότροπο υλικό, οι ακτίνες είναι πάντα ευθείες γραμμές κάθετες στα μέτωπα των κυμάτων.



# Πηγές φωτός και μέτωπα κύματος



# Φύση του φωτός (2/2)

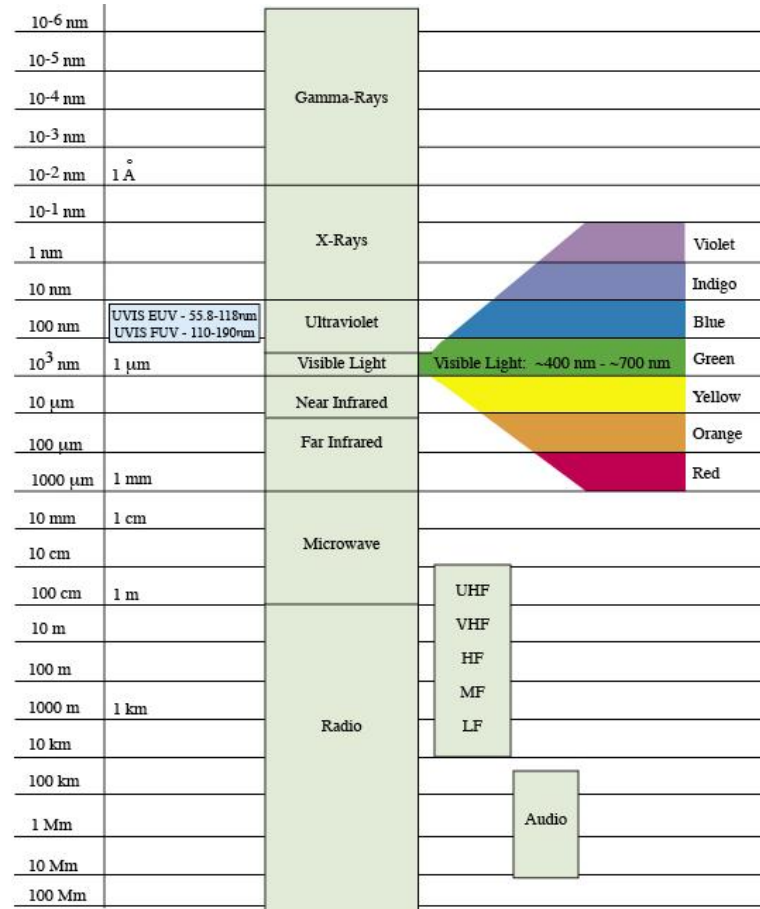
- Οι πρωταρχικές πηγές της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας είναι ηλεκτρικά φορτία που εκτελούν επιταχυνόμενη κίνηση.
- Όλα τα σώματα εκπέμπουν ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία λόγω της θερμικής κίνησης των μορίων τους (θερμική ακτινοβολία).
- Η ύλη κάθε μορφής εκπέμπει αρκετό φως αν η θερμοκρασία της είναι επαρκώς υψηλή.
- Η θερμή ύλη οποιασδήποτε μορφής είναι μία πηγή φωτός.

Ταχύτητα του φωτός:  $c = 2.99792458 \times 10^8$  m/sec





# Φάσμα ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας

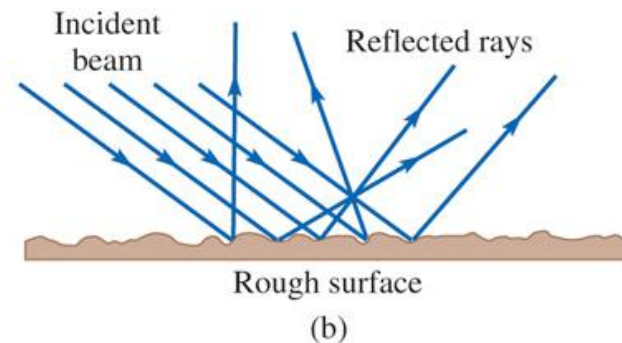
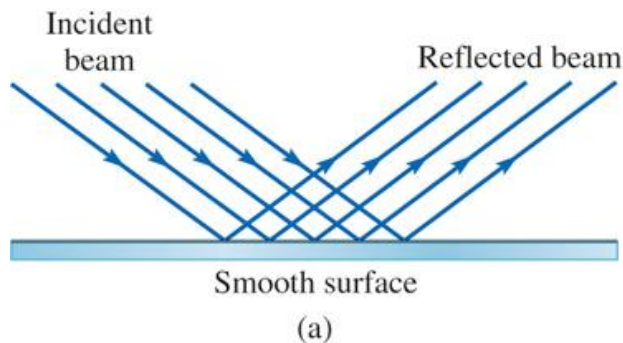


nm=nanometer, Å=angstrom, μm=micrometer, mm=millimeter,  
cm=centimeter, m=meter, km=kilometer, Mm=Megameter



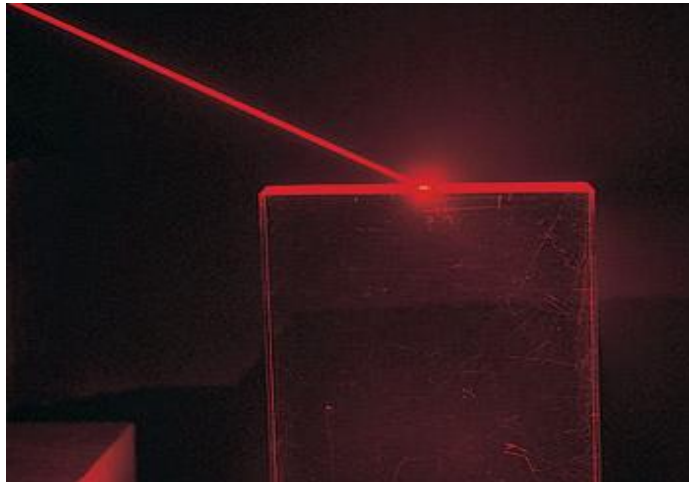
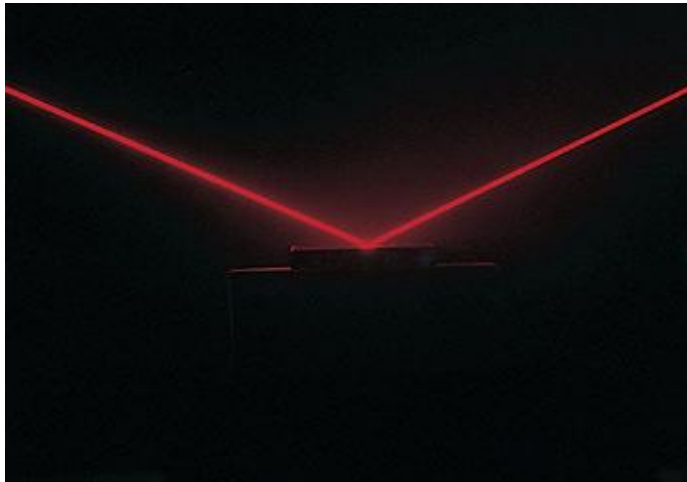
# Ανάκλαση και διάθλαση (1/4)

- Όταν ένα κύμα προσκρούει σε ομαλή διαχωριστική επιφάνεια, το κύμα εν μέρει ανακλάται και εν μέρει διαθλάται (διαδίδεται) στο δεύτερο υλικό.
- **Κατοπτρική ανάκλαση:** Η ανάκλαση υπό συγκεκριμένη γωνία από μία εντελώς λεία επιφάνεια.
- **Διάχυτη ανάκλαση:** Η ανάκλαση λόγω σκέδασης από μία ανώμαλη επιφάνεια.



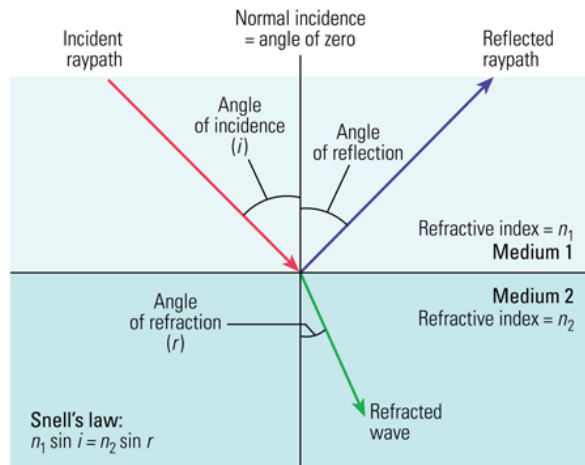
# Ανάκλαση και διάθλαση (2/4)

---



# Ανάκλαση και διάθλαση (3/4)

1. Οι προσπίπτουσα, ανακλώμενη και διαθλώμενη ακτίνα κείνται όλες στο ίδιο επίπεδο, στο οποίο βρίσκεται και η κάθετος προς την επιφάνεια.
2. Η γωνία ανάκλασης,  $\theta_r$ , είναι ίση με τη γωνία πρόσπτωσης,  $\theta_i$ :  $\theta_i = \theta_r$
3. Ισχύει ο νόμος του Snell:  $n_1 \sin \theta_i = n_2 \sin \theta_2$



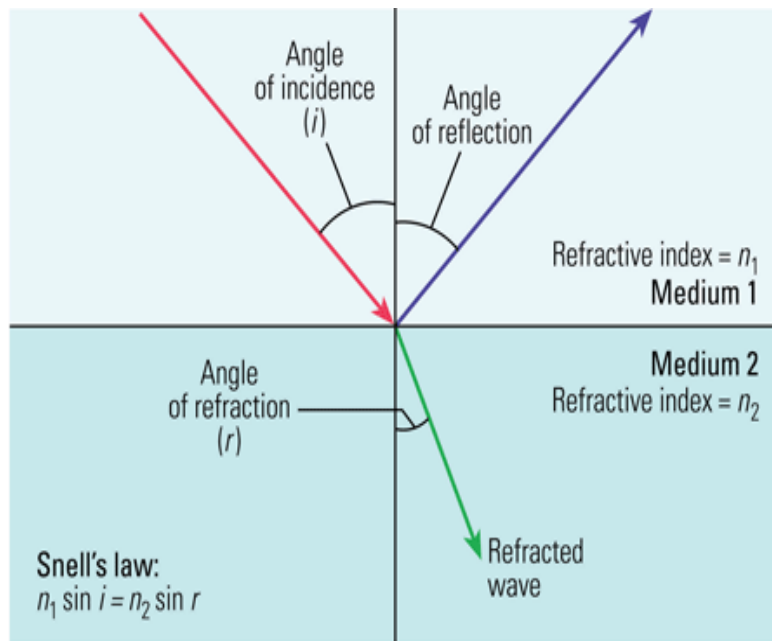
- Δείκτης διάθλασης:

- $c$ , ταχύτητα του φωτός στο κενό
- $u$ , ταχύτητα του φωτός στο υλικό
- Τιμή  $< 1$
- Για μεγαλύτερο  $n$ , μικρότερο  $u$

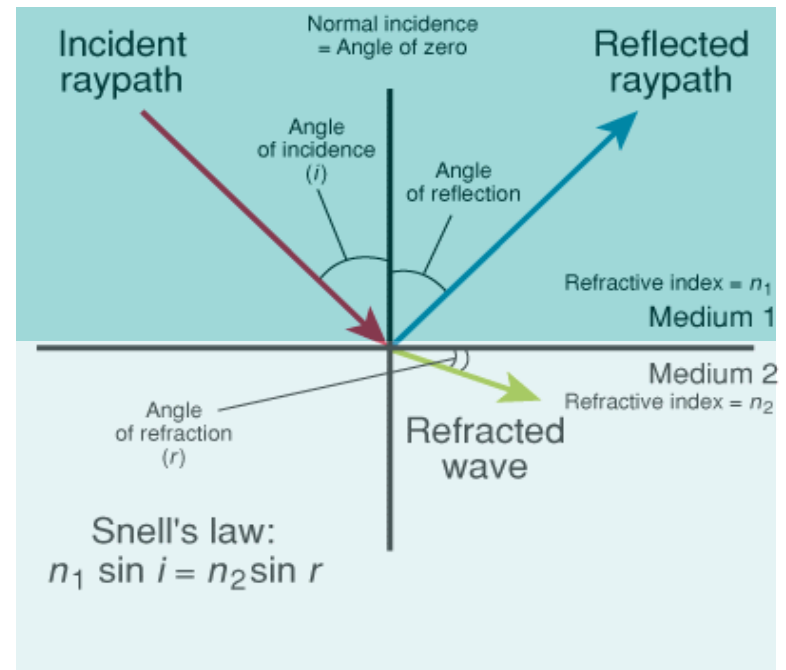


# Ανάκλαση και διάθλαση (4/4)

Όταν η ακτίνα κινείται από ένα υλικό α, σε ένα υλικό β μεγαλύτερου δείκτη διάθλασης, τότε η ακτίνα κάμπτεται.



Όταν ο δεύτερος δείκτης διάθλασης είναι μεγαλύτερος, τότε η ακτίνα απομακρύνεται από την κάθετο.



# Ολική εσωτερική ανάκλαση

- Η ακτίνα κινείται από υλικό με μεγάλο δείκτη διάθλασης προς υλικό με μικρό δείκτη διάθλασης.
- **Κρίσιμη γωνία:** Η γωνία πρόσπτωσης για την οποία η διαθλώμενη ακτίνα αναδύεται εφαπτομενικά προς την επιφάνεια.

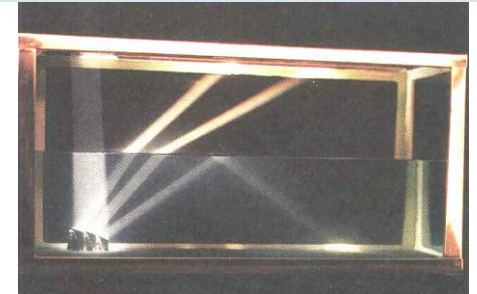
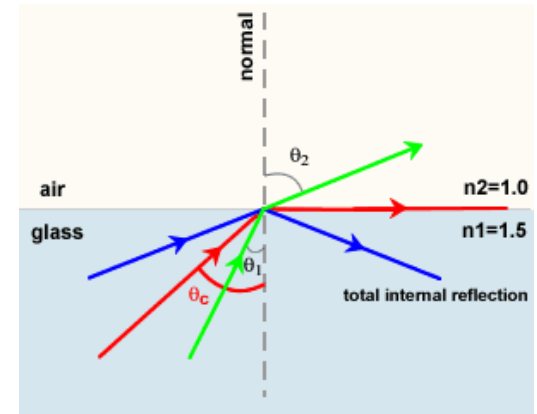
$$\sin \theta_b = \frac{\eta_a}{\eta_b} \sin \theta_a \rightarrow 1 \quad \text{Άρα, } \sin \theta_b = 1 \Rightarrow \theta_b = 90^\circ$$

- Αν γωνία πρόσπτωσης > κρίσιμη γωνία, η ακτίνα παγιδεύεται στο κάτω υλικό και ανακλάται εξ ολοκλήρου εσωτερικά στη διαχωριστική επιφάνεια.
- Υπολογίζουμε την κρίσιμη γωνία:

$$\theta_b = 90^\circ \Rightarrow \sin \theta_b = 1$$

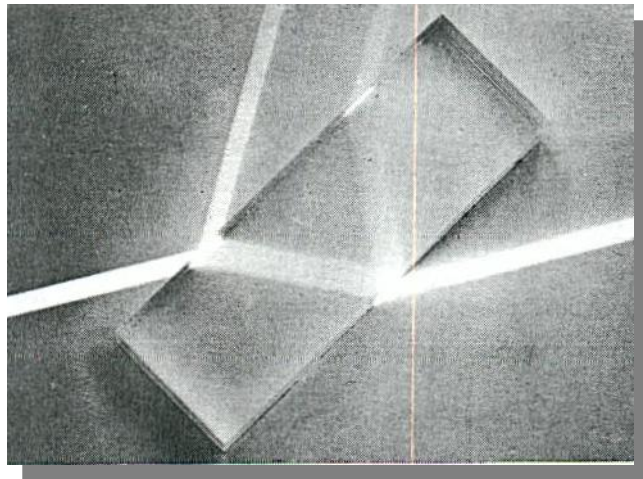
$$\text{Κρίσιμη γωνία: } \sin \theta_{crit} = \frac{\eta_b}{\eta_a}$$

Για την επιφάνεια γυαλιού-αέρα με  $\eta=1,52$  για το γυαλί:  $\theta_{crit} = 41.1$

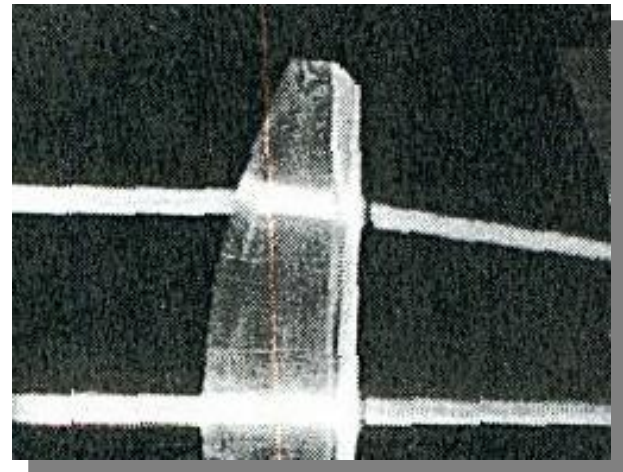


# Ανάκλαση σε επίπεδα και σε σφαιρική επιφάνεια

---



Flat surface



Curved surface

# Γεωμετρική οπτική (1/2)

---

- Σχηματισμός ειδώλων από κάτοπτρα και φακούς.
- Τα είδωλα σχηματίζονται στο σημείο όπου οι φωτεινές ακτίνες ή οι προεκτάσεις τους συγκλίνουν.
- Τα είδωλα μπορεί να είναι πραγματικά ή φανταστικά.
- **Πραγματικό είδωλο:**
  - τομή πραγματικών φωτεινών ακτίνων.
- **Φανταστικό είδωλο:**
  - τομή προεκτάσεων φωτεινών ακτίνων.





# Γεωμετρική οπτική (2/2)

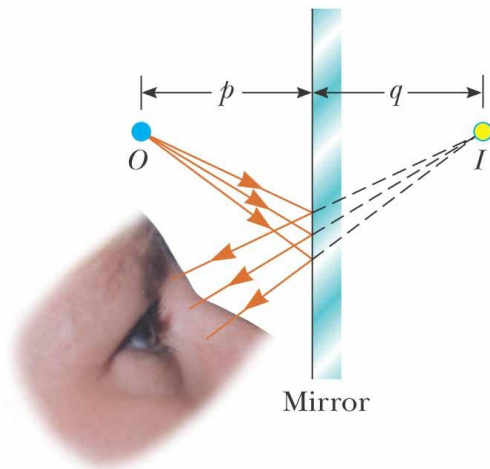
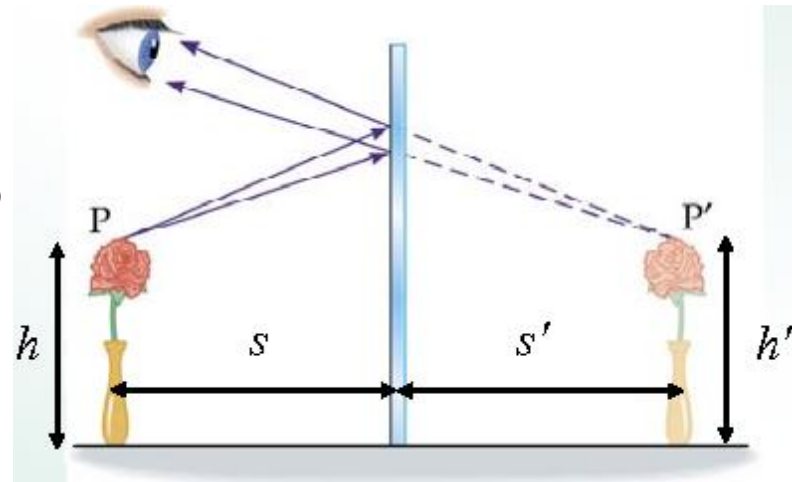
---

- Τα πραγματικά είδωλα μπορούμε να τα σχηματίσουμε **πάνω σε οθόνη**.
- Τα φανταστικά είδωλα δεν είναι δυνατόν να σχηματιστούν ποτέ σε μία οθόνη.
- **Εγκάρσια μεγέθυνση  $M$** 
  - $M = \text{ύψος ειδώλου} / \text{ύψος αντικειμένου}$ .
  - $M < 0 \Leftrightarrow$  ανεστραμμένο είδωλο.



# Ανάκλαση σε επίπεδη επιφάνεια (Καθρέφτης)

- P: σημειακό αντικείμενο
- P': σημειακό είδωλο
- s: απόσταση αντικειμένου από το κάτοπτρο
- s': απόσταση ειδώλου από το κάτοπτρο

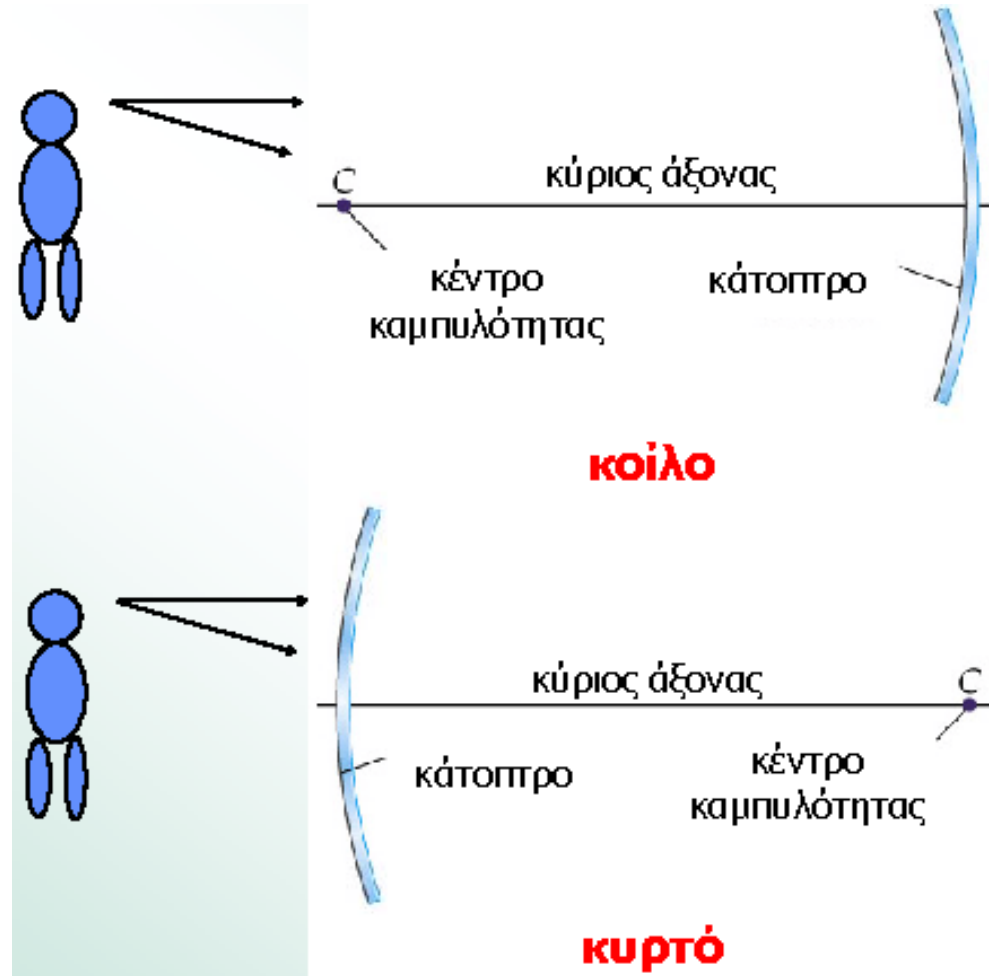


1. Είδωλο και αντικείμενο  
ισαπέχουν από το κάτοπτρο.
2. Είδωλο:
  - Φανταστικό
  - Όρθιο
  - Αναστροφή δεξιού-αριστερού
3. Εγκάρσια μεγέθυνση,  $M = 1$

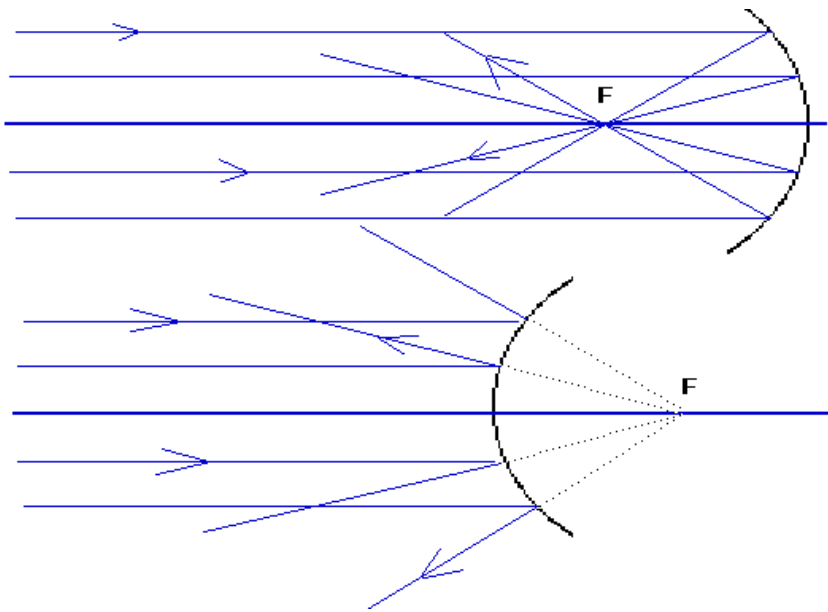
©2004 Thomson - Brooks/Cole



# Ανάκλαση σε σφαιρικά κάτοπτρα



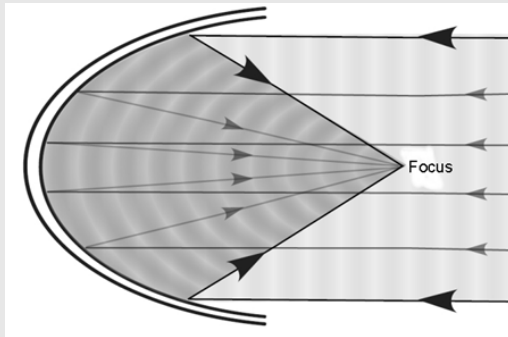
# Εστία & εστιακή απόσταση σφαιρικών κατόπτρων



- **Εστία, F:** σημείο από το οποίο διέρχονται οι παράλληλες προς τον άξονα ακτίνες μετά την ανάκλαση τους.
- **Εστιακή απόσταση f:** απόσταση της εστίας από την κορυφή του κατόπτρου.
  - $R$  = ακτίνα καμπυλότητας.
  - $f = R/2$ .

# Ανάκλαση σε σφαιρική επιφάνεια

- Όταν το σημειακό αντικείμενο είναι **πολύ μακριά από το κάτοπτρο** ( $s = \infty$ ), οι προσπίπτουσες **ακτίνες είναι παράλληλες**.
- Οι ανακλώμενες ακτίνες **εστιάζονται στο εστιακό σημείο,  $f$ , οπότε  $s' = f$** .



$$\frac{1}{s} + \frac{1}{s'} = \frac{2}{R} \Rightarrow f = \frac{R}{2}$$

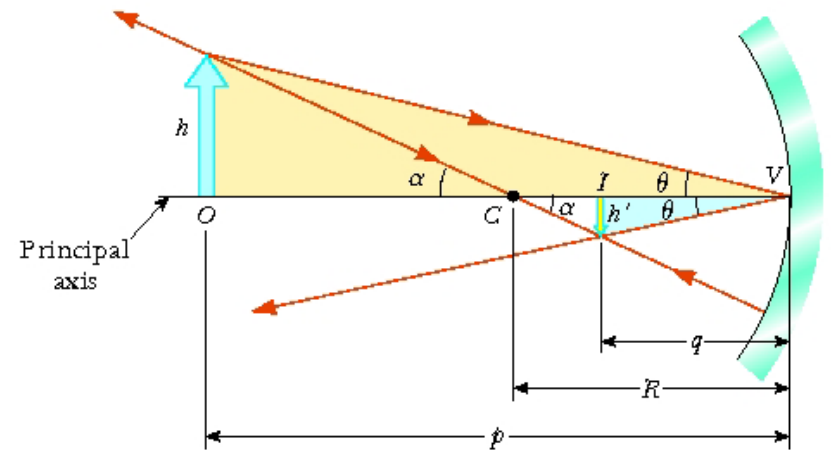
1. Κάθε ακτίνα που προσπίπτει παράλληλα προς τον οπτικό άξονα διέρχεται, μετά την ανάκλαση, από το εστιακό σημείο.
2. Κάθε προσπίπτουσα ακτίνα που διέρχεται από το εστιακό σημείο ανακλάται παράλληλα προς τον οπτικό άξονα.

# Είδωλο από σφαιρικό κάτοπτρο (1/2)

## Διάγραμμα ακτίνων:

### 1<sup>η</sup> ακτίνα:

- Διέρχεται από το κέντρο καμυλότητας.
- Προσπίπτει κάθετα στην σφαιρική επιφάνεια του κατόπτρου.
- Ανακλάται ακριβώς προς τα πίσω σχηματίζοντας  $180^\circ$  με την αρχική της κατεύθυνση.

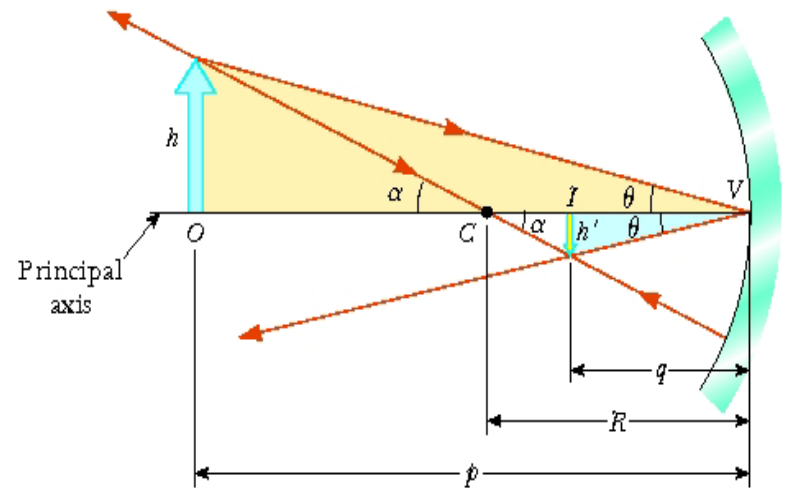


# Είδωλο από σφαιρικό κάτοπτρο (2/2)

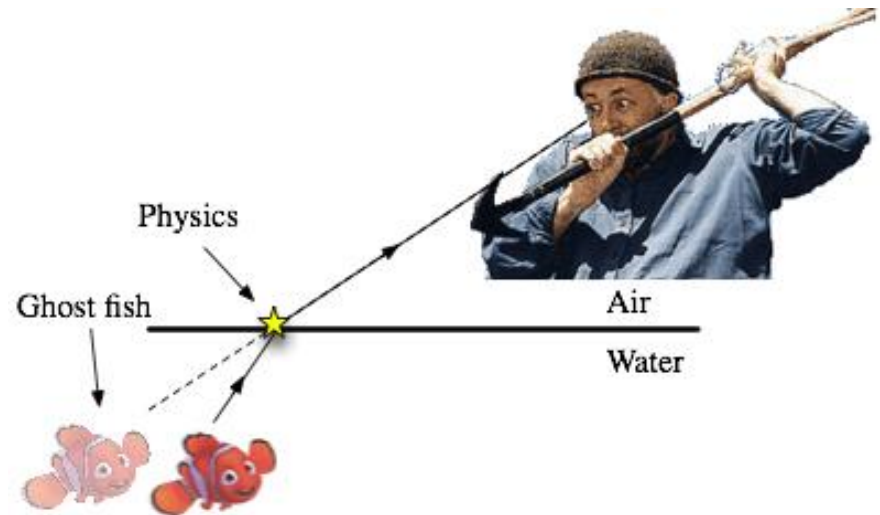
## Διάγραμμα ακτίνων:

### 2<sup>η</sup> ακτίνα:

- Προσπίπτει στην κορυφή του κατόπτρου σχηματίζοντας γωνία  $\theta$  με τον κύριο άξονα.
- Ανακλάται προς τα κάτω, κατά την κατεύθυνση που σχηματίζει γωνία  $\theta$  με τον κύριο άξονα.



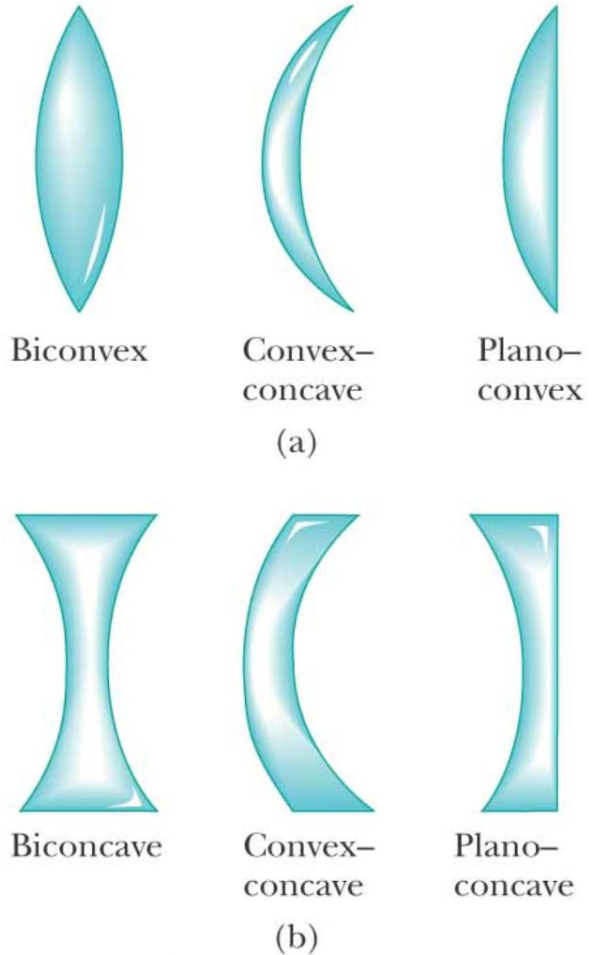
# Σχηματισμός ειδώλων από διάθλαση





# Τύποι φακών

- **Συγκλίνοντες φακοί (converging lenses):** Πιο παχείς στο μέσο παρά στα άκρα.
- **Αποκλίνοντες (diverging lenses):** Πιο παχείς στα άκρα παρά στο μέσο.

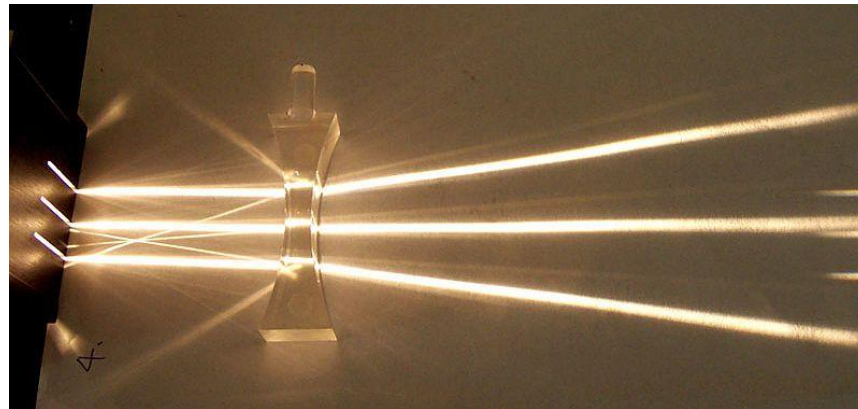
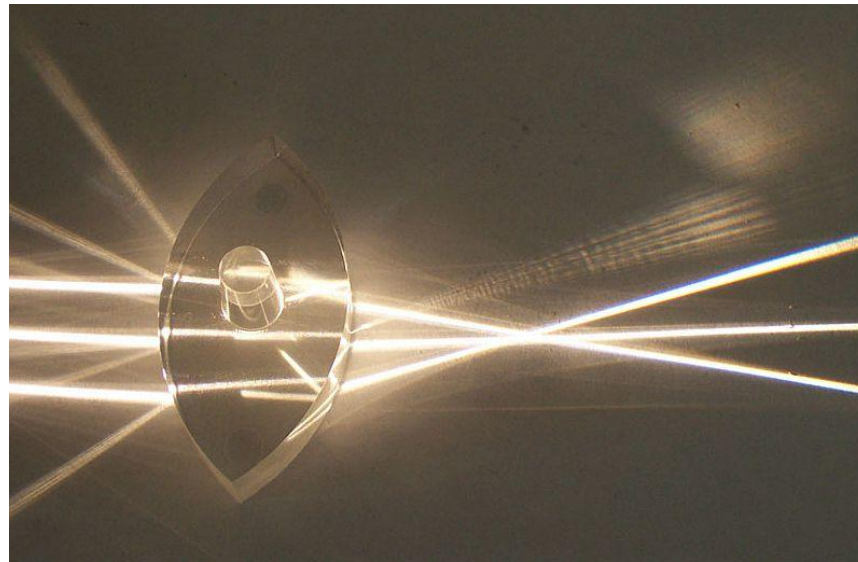


©2004 Thomson - Brooks/Cole

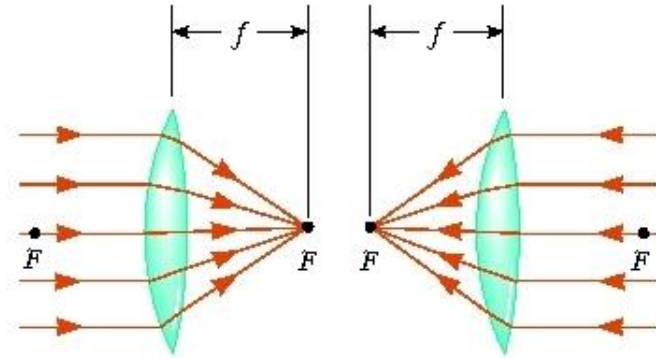
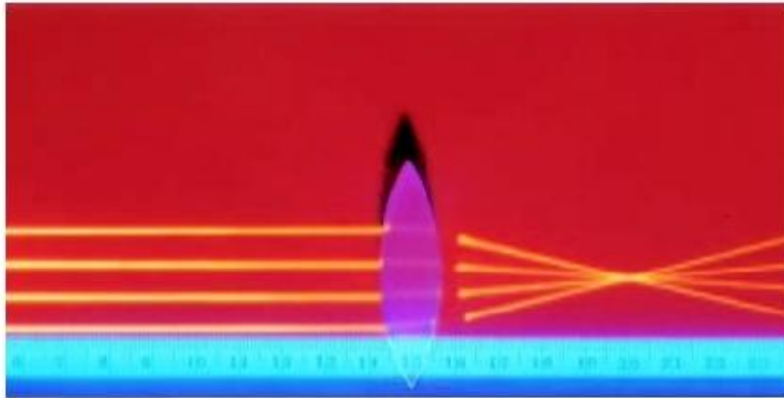


# Διάθλαση σε σφαιρική επιφάνεια (Φακός) (1/2)

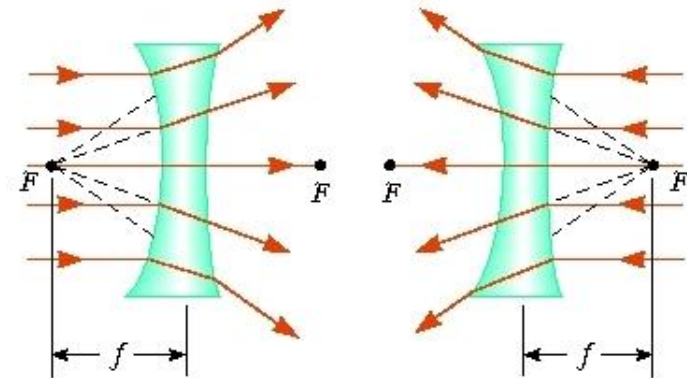
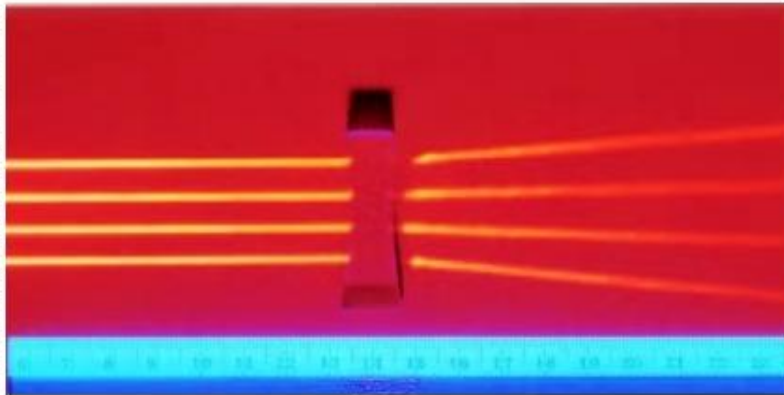
---



# Διάθλαση σε σφαιρική επιφάνεια (Φακός) (2/2)



(a)



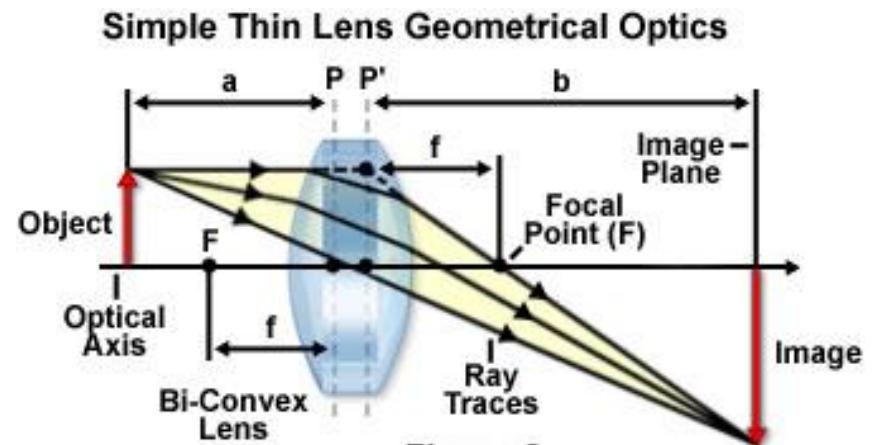
(b)

Photos courtesy of Henry Leap and Jim Lehman



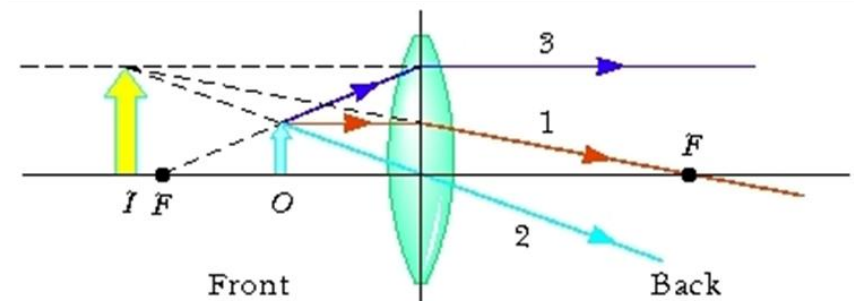
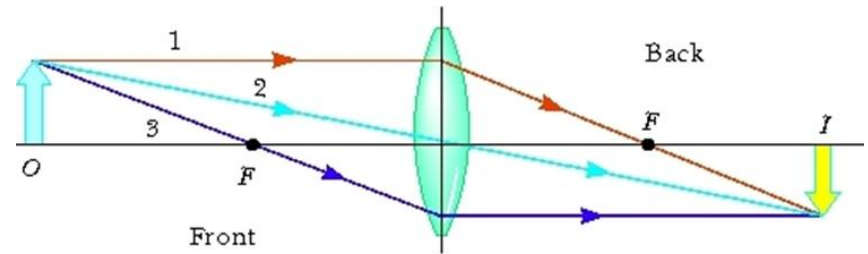
# Διαγράμματα ακτίνων για λεπτούς φακούς (1/3)

- **Ακτίνα παράλληλη προς τον οπτικό άξονα.**
  - Μετά τη διάθλασή της διέρχεται (η ίδια ή η προέκτασή της) από μία από τις εστίες.
- **Ακτίνα διερχόμενη από το κέντρο του φακού.**
  - Διαδίδεται ευθύγραμμα.
- **Ακτίνα διερχόμενη από την εστία.**
  - Μετά τη διάθλαση, γίνεται παράλληλη προς τον οπτικό άξονα.



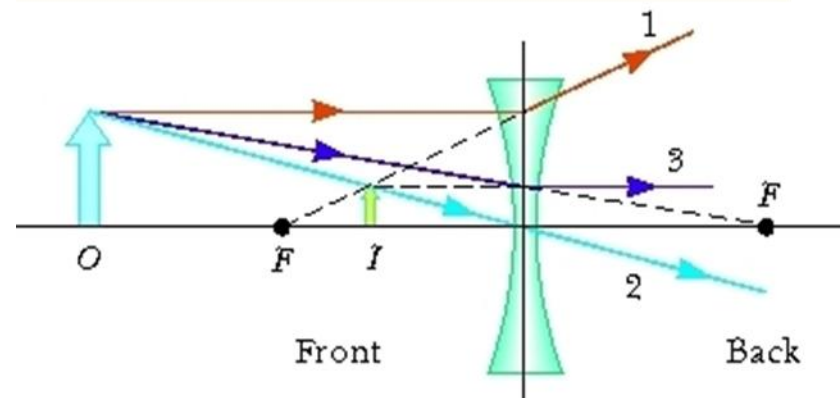
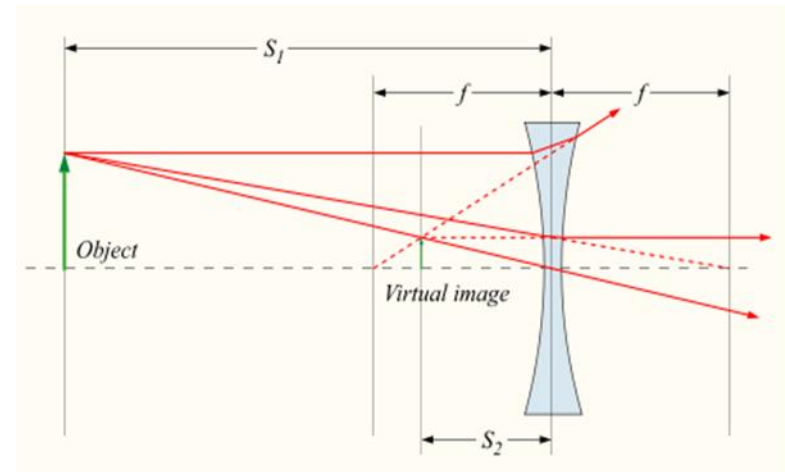
# Διαγράμματα ακτίνων για λεπτούς φακούς (2/3)

- **Ακτίνα παράλληλη προς τον οπτικό άξονα.**
  - Μετά τη διάθλασή της διέρχεται (η ίδια ή η προέκτασή της) από μία από τις εστίες.
- **Ακτίνα διερχόμενη από το κέντρο του φακού.**
  - Διαδίδεται ευθύγραμμα.
- **Ακτίνα διερχόμενη από την εστία.**
  - Μετά τη διάθλαση, γίνεται παράλληλη προς τον οπτικό άξονα.



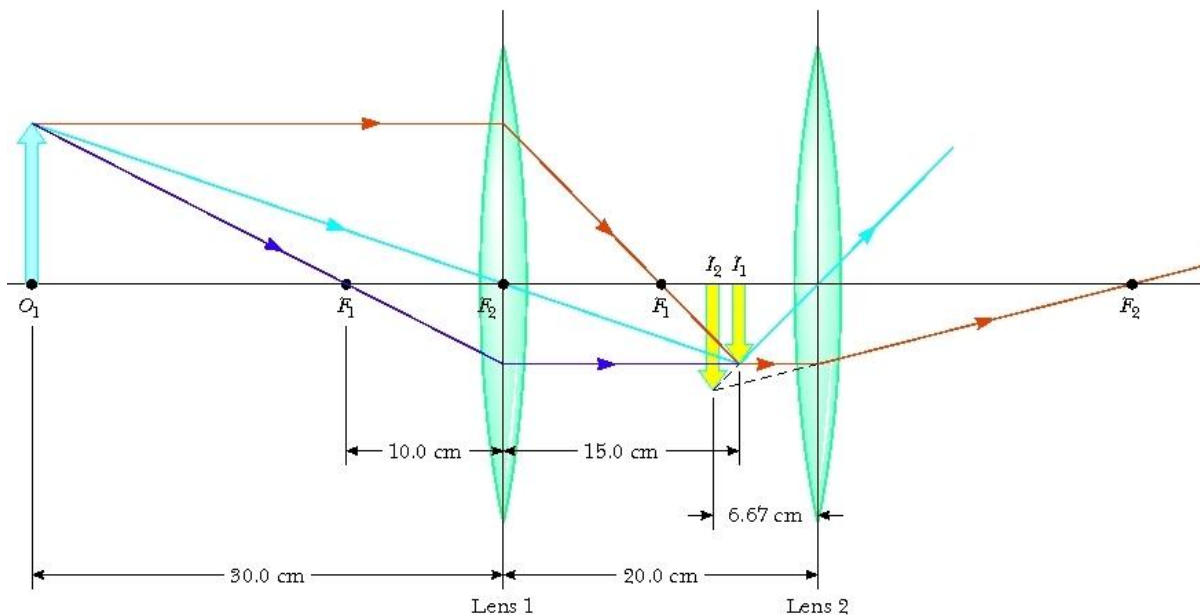
# Διαγράμματα ακτίνων για λεπτούς φακούς (3/3)

- **Ακτίνα παράλληλη προς τον οπτικό άξονα.**
  - Μετά τη διάθλασή της διέρχεται (η ίδια ή η προέκτασή της) από μία από τις εστίες.
- **Ακτίνα διερχόμενη από το κέντρο του φακού.**
  - Διαδίδεται ευθύγραμμα.
- **Ακτίνα διερχόμενη από την εστία.**
  - Μετά τη διάθλαση, γίνεται παράλληλη προς τον οπτικό άξονα.

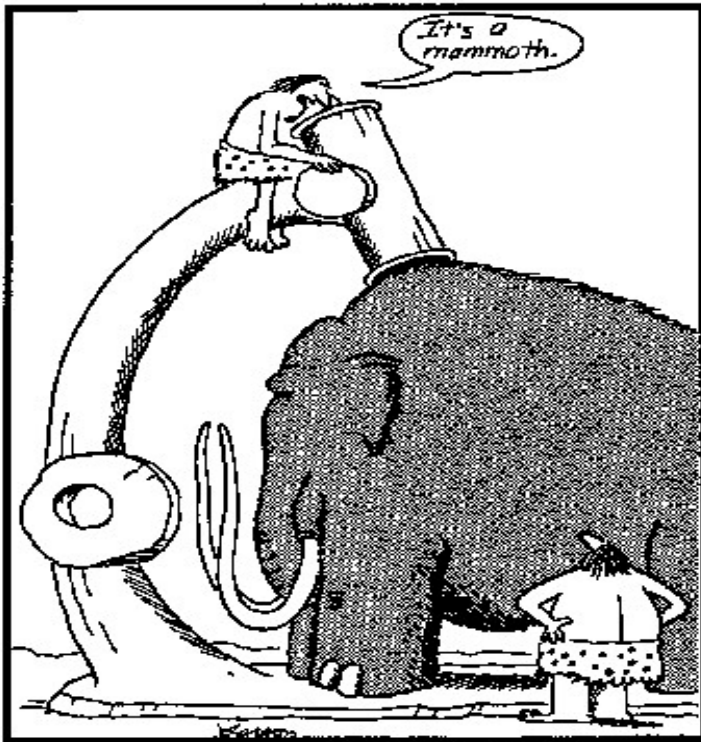


# Σύστημα ομοαξονικών λεπτών φακών (1/2)

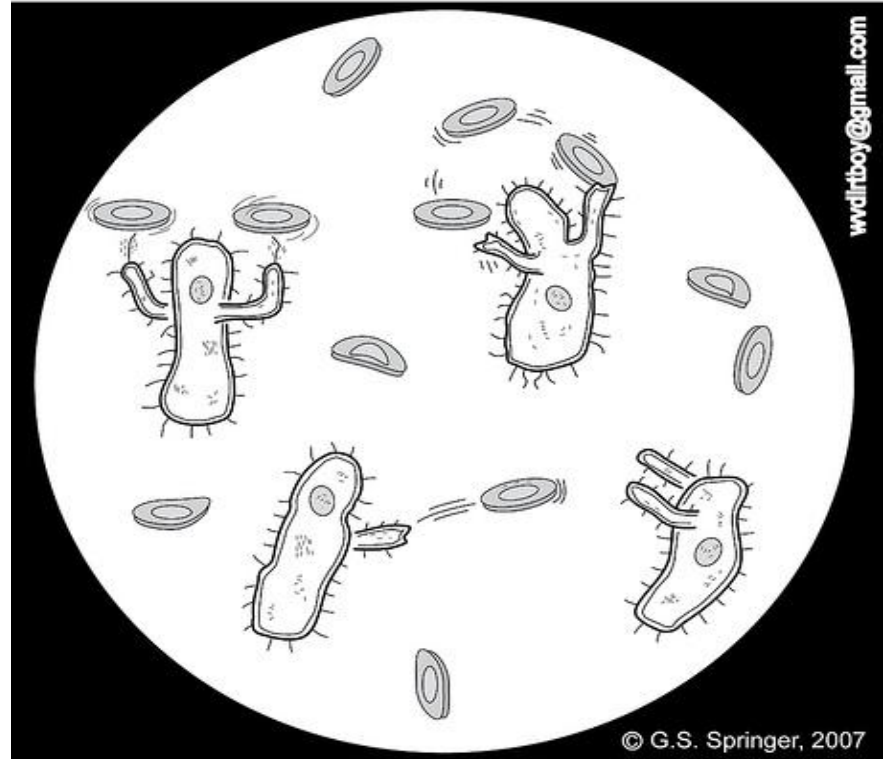
1. Είδωλο του πρώτου φακού = Αντικείμενο του δεύτερου φακού.
2. Είδωλο του δεύτερου φακού = Τελικό είδωλο.



# Απεικονιστική μικροσκοπία



Early microscope



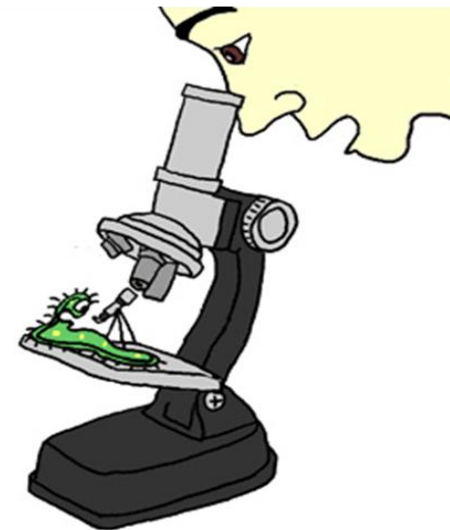
Blood pathogens on afternoon break



# Στόχοι

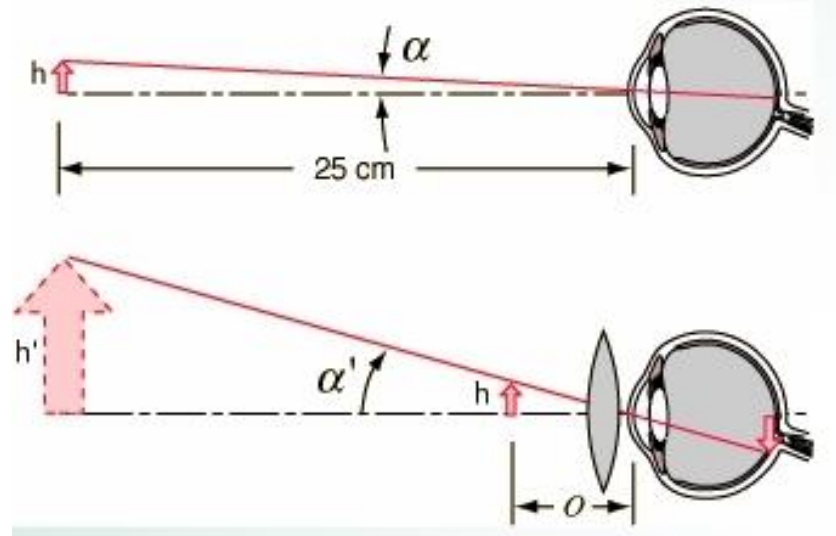


1. **Μεγέθυνση** της εικόνας του δείγματος.
2. **Διαχωρισμός** των λεπτομερειών.
3. **Μεταφορά** των στοιχείων της εικόνας για:
  - Παρατήρηση.
  - φωτογραφική καταγραφή.



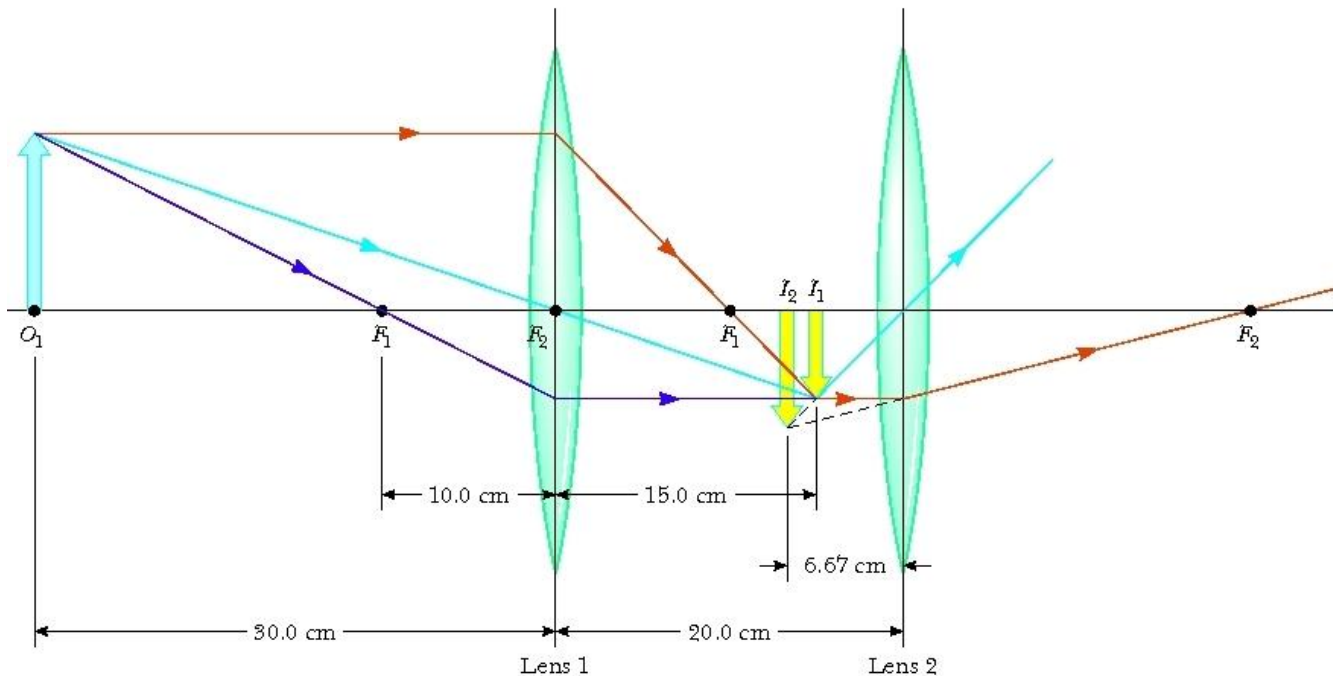
# Δημιουργία ειδώλου στον οφθαλμό

- **Αύξηση της γωνίας παρατήρησης  $\alpha'$  ενός αντικειμένου με τη χρήση συγκλίνοντα φακού.**
  - Το αντικείμενο τοποθετείται **μεταξύ** της εστίας του φακού και του οφθαλμού.
  - Γωνιακή μεγέθυνση:  $m = \alpha' / \alpha$ .
- **Ελάχιστη απόσταση ευκρινούς όρασης: 25cm.** Η γωνία  $\alpha$  έχει τη μέγιστη τιμή.



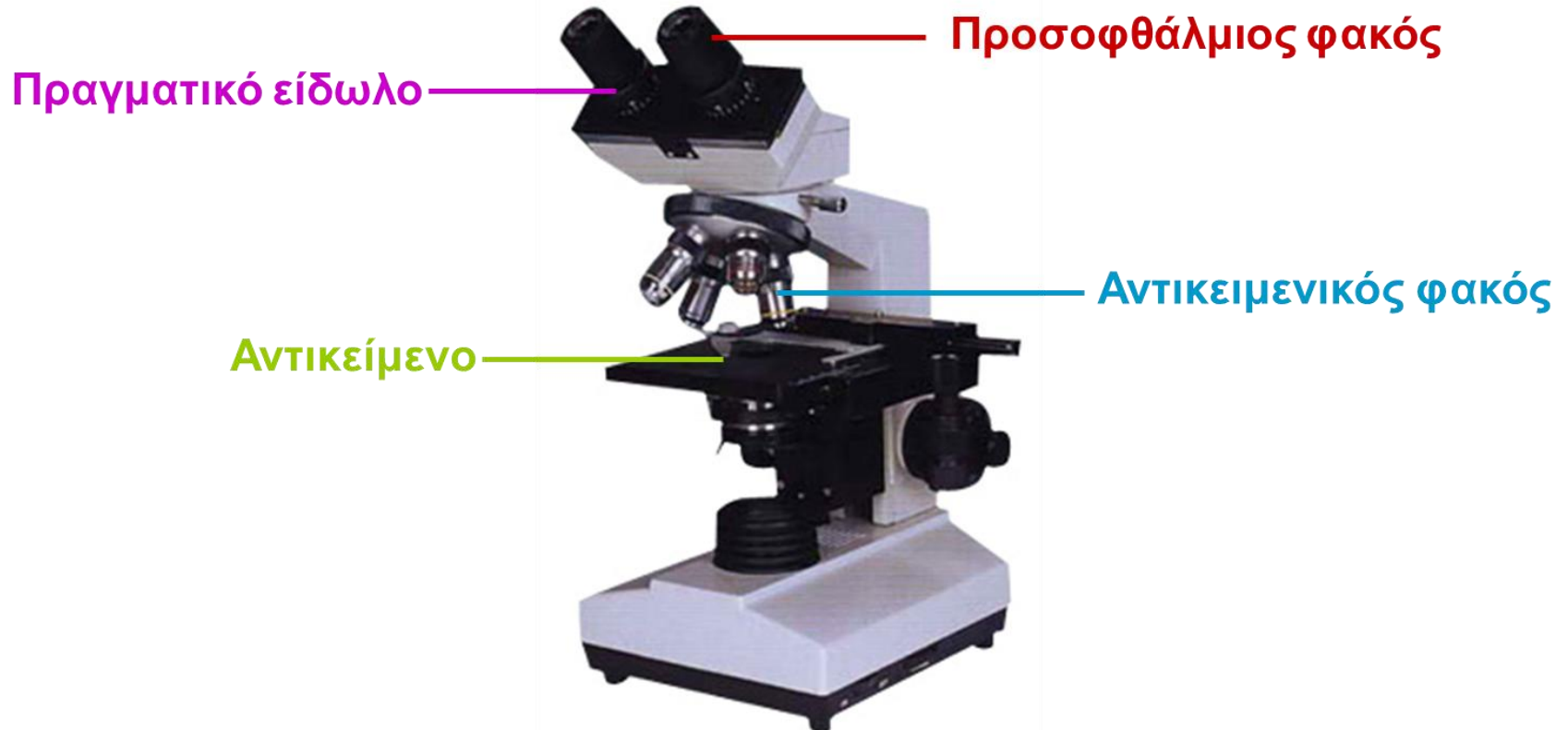
# Σύστημα ομοαξονικών λεπτών φακών (2/2)

1. Είδωλο του πρώτου φακού = Αντικείμενο του δεύτερου φακού
2. Είδωλο του δεύτερου φακού = Τελικό είδωλο



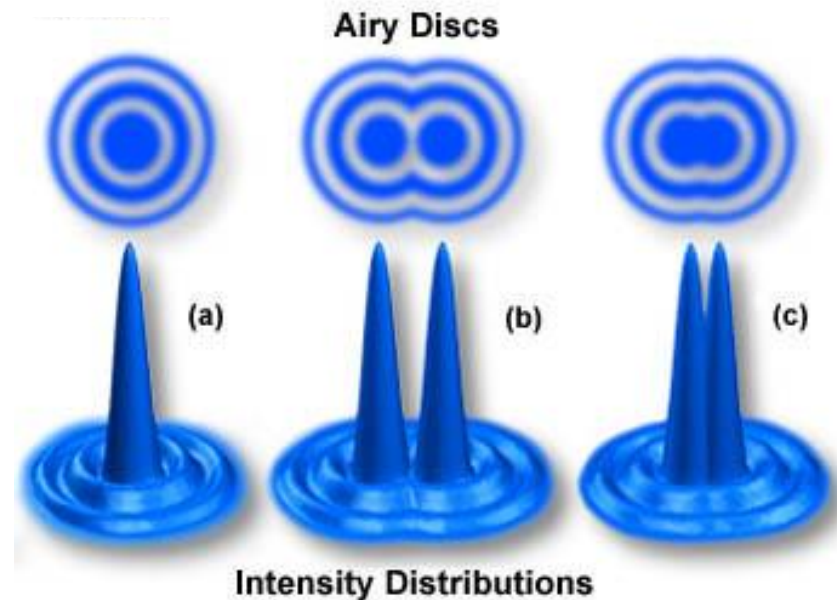
# Οπτικό μικροσκόπιο

---



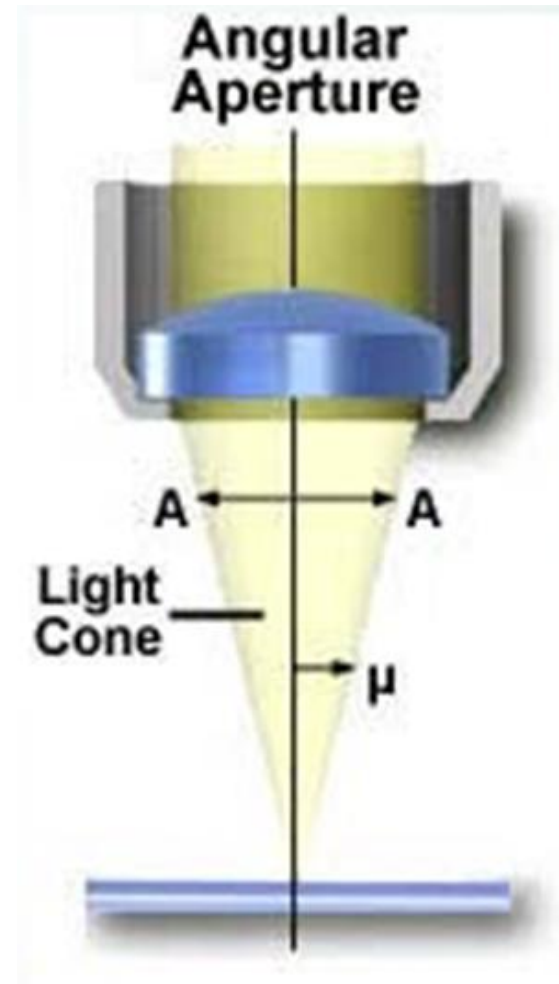
# Διακριτική ικανότητα – R (1/5)

- Ονομάζεται η **ελάχιστη απόσταση** ανάμεσα σε δύο σημεία που τα είδωλα τους **διακρίνονται ξεχωρισμένα** μεταξύ τους.
  - Μάτι  $\sim 100\mu\text{M}$ .
  - Οπτικό μικροσκόπιο  $\sim 0.2\text{-}0.3\mu\text{M}$ .



# Διακριτική ικανότητα – R (2/5)

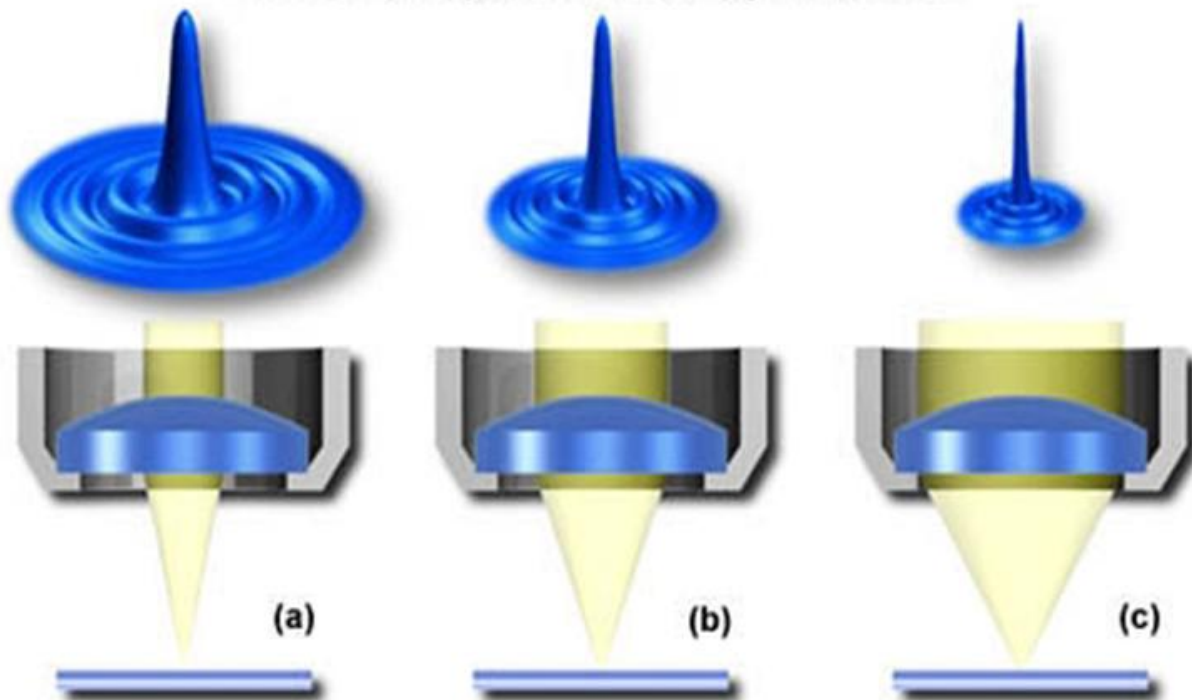
- **$R = 0.61\lambda / NA$** 
  - $\lambda$ : Μήκος κύματος του φωτός,
  - NA: αριθμητικό άνοιγμα φακού.
- **$NA = \eta \cdot \sin\mu$** 
  - $\eta$ : δείκτης διάθλασης,
  - $\mu$ : γωνία υποδοχής του φακού.



# Διακριτική ικανότητα – R (3/5)

$$R = 0.61\lambda / NA = 0.61\lambda / \eta \cdot \sin\mu$$

Numerical Aperture and Airy Disc Size



# Διακριτική ικανότητα – R (4/5)

- **Ορισμός:** Ελάχιστη απόσταση ανάμεσα σε δύο σημεία που τα είδωλα τους διακρίνονται ξεχωρισμένα μεταξύ τους.
- **Στόχος:** Μικρή διακριτική ικανότητα.

$$R = \frac{0.61 \cdot \lambda}{\eta \cdot \sin \mu}$$

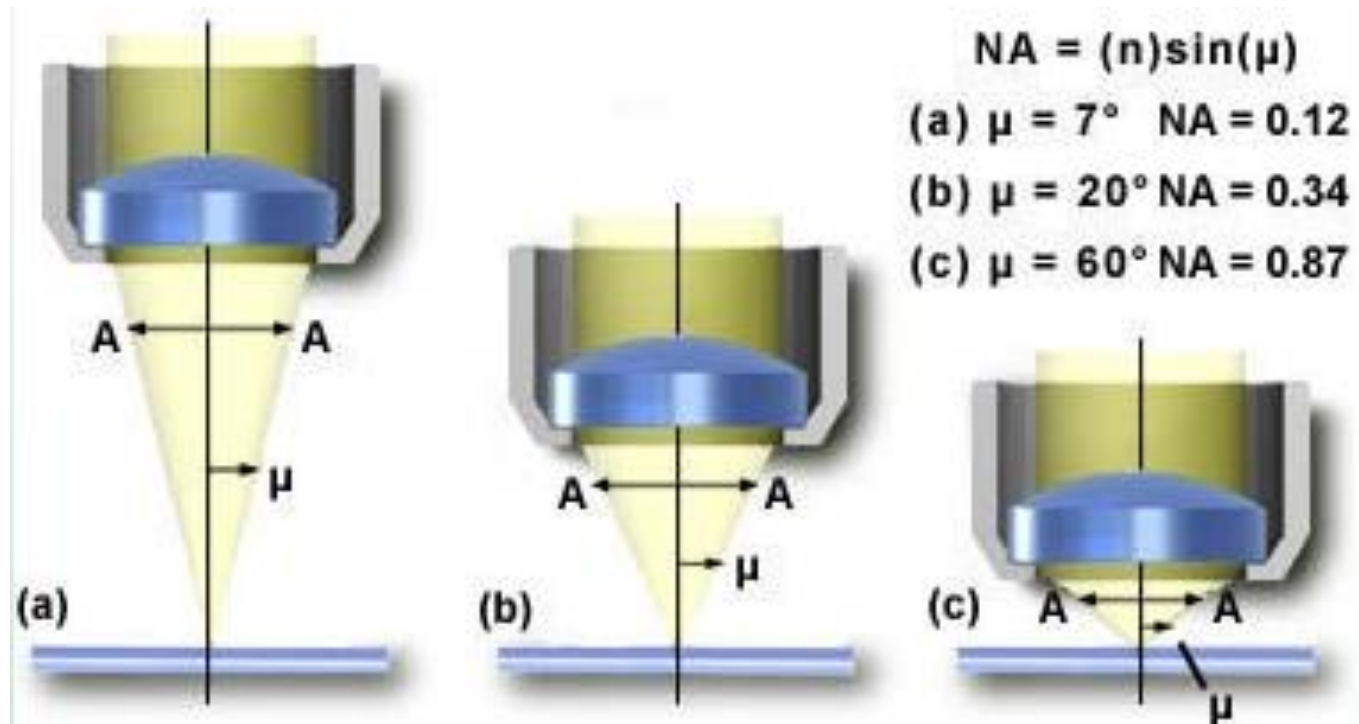
Τρόποι βελτίωσης της διακριτικής ικανότητας:

1. Μείωση του μήκους κύματος.
2. Αύξηση της γωνίας  $\mu$ .
3. Αύξηση του δείκτη διάθλασης (μεταξύ αντικειμενικού φακού και δείγματος παρεμβολή ενός υλικού με  $\eta > 1$ ).





# Διακριτική ικανότητα – R (5/5)



# Μεγέθυνση

---

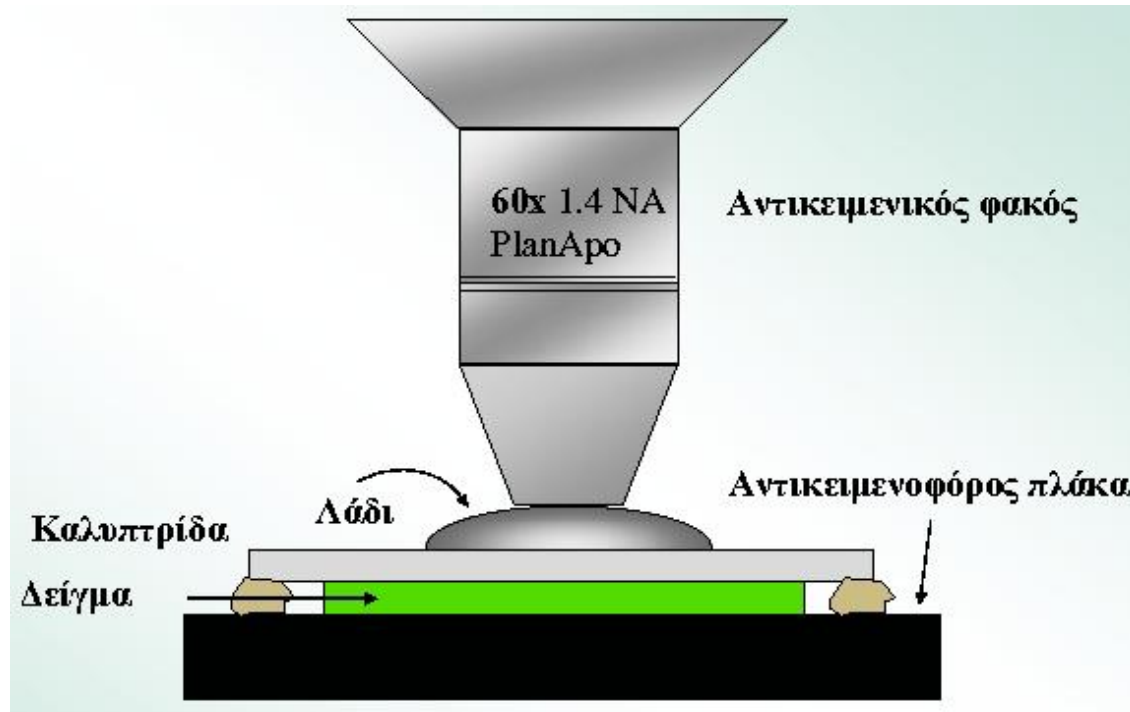
- **Σύστημα ομοαξονικών λεπτών φακών.**
  - Ολική μεγέθυνση 2 σταδίων.
  - Γινόμενο των επιμέρους μεγεθύνσεων.
- **Παράδειγμα: Ολική μεγέθυνση 250X.**
  - Αντικειμενικός 25X ( $NA=0.65$ ) και προσοφθάλμιος 10X.
  - Αντικειμενικός 10X ( $NA=0.25$ ) και προσοφθάλμιος 25X.

**Οπτικό μικροσκόπιο ~ 1500x.**



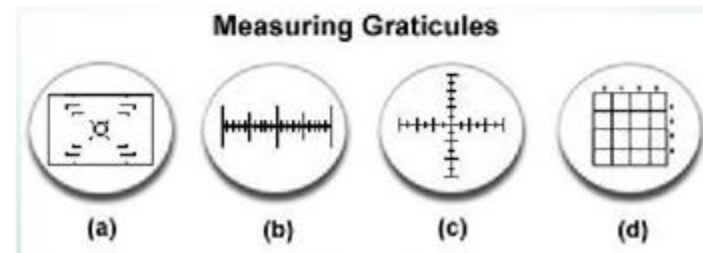
# Αντικειμενικός φακός

Καθορίζει την ποιότητα των συλλεγόμενων εικόνων.  
Το κόστος καθορίζεται από τις διορθώσεις των σφαλμάτων.



# Προσοφθάλμιος φακός

- Επιλογή σύμφωνα με τον αντικειμενικό φακό.
- Ειδική υποδοχή για τα μάτια.
- Ειδικά πλέγματα ή χάρακες για ποσοτικοποίηση των μετρήσεων.



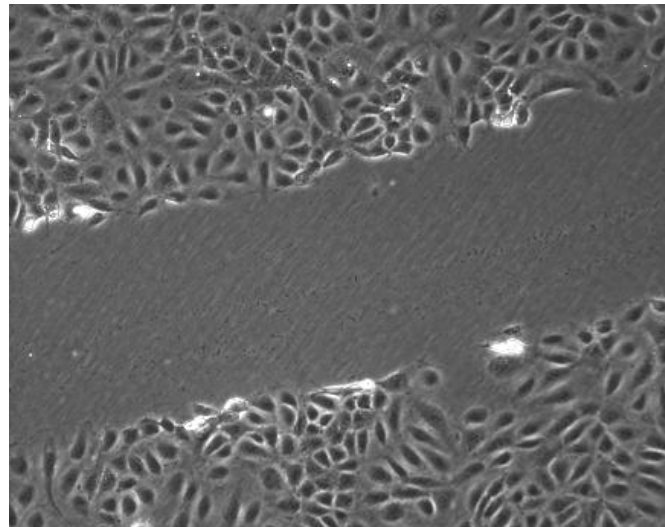
# Ορθό και ανάστροφο μικροσκόπιο

---



# Εικόνες μικροσκοπίου

---



---

# Τέλος Ενότητας



Ευρωπαϊκή Ένωση  
Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο

