玻尔兹曼分布是状态能量与系统温度的概率分布函数，给出了粒子处于特定状态下的概率。有如下的形式：

其中为状态i的概率，为状态i的能量，*k*为玻尔兹曼常数，*T*为系统的绝对温度。而*M*是系统中我们有兴趣且可知的状态数量。分母的归一化常数*Q*对系统所有状态进行总和，是配分函数。

那么，当系统在、两个温度下进行退火模拟时，我们定义某状态i下为：

若对一段含有帧的轨迹进行主成分分析，其中在温度下有帧，在温度下有帧（则）。最终在两个主成分下共找到了M个状态（也即2d的自由能形貌图具有M个格点），对于其中的状态i，若在A温度下具有的帧数表示为，可通过统计计算得出：

， ，则可由轨迹统计得出。

又 ，对于该方程，其中共有M个未知数，那么对于M个状态下的，共可得到M个上述方程，求解上述方程，即可获得状态i下的能量。

这样的采样方法，既可以帮助体系快速跨过能垒从而在构象空间上尽可能多地采样，又可以通过统计的方式来尽可能精确的计算各个状态下能量的大小。其中的关键点是对状态M的划分，显然，状态划分的越精细，M的数值越大，计算出来的精确度越高，但是，当状态划分的过于精细时，或可能为0，从而使得无法由统计得出。因此，应在划分状态时定义阈值，使得对于所有的i，都有：

且

或者对于不满足上述条件的情况，另。

令 ，则

则 ，则

同理 。则