

Институт химической кинетики и горения им. В.В. Воеводского СО РАН

На правах рукописи

Романов Андрей Владимирович

**РАЗВИТИЕ СПЕКТРАЛЬНЫХ МЕТОДОВ ХАРАКТЕРИЗАЦИИ
ОДИНОЧНЫХ ЧАСТИЦ ПО КАРТИНЕ СВЕТОРАССЕЯНИЯ**

Диссертация на соискание ученой степени
кандидата физико-математических наук

**Научный руководитель
к. ф.-м. н.
Юркин Максим Александрович**

Новосибирск – 2022

Содержание

Введение	4
Глава 1. Обзор литературы	9
1.1 Общая теория светорассеяния	11
1.2 Технологические возможности	14
1.3 Методы характеристики и обратные задачи	21
1.3.1 Низко-размерная инверсия	23
1.3.2 Нелинейная регрессия	28
1.3.3 Подход нейронных сетей	35
1.3.4 Восстановление	36
1.3.5 Подход на основе данных	38
1.4 Заключение главы	40
Глава 2. Теоретические основы спектрального метода	43
2.1 Спектр в приближении Рэля-Ганса-Дебая	44
2.2 Приближение Рэля-Ганса-Дебая для шара	46
2.2.1 Оценка формы пика в приближении РГД	49
2.3 Приближение ВКБ для шара	50
2.3.1 Автокорреляционная функция в ВКБ приближении	52
2.3.2 Оценка поправки фазового спектра	55
2.4 Обобщение на строгую теорию рассеяния	56
2.5 Заключение главы	59
Глава 3. Спектральный метод характеристики шара	60
3.1 Построение метода	60
3.1.1 Спектр мощности и спектральные параметры	61
3.1.2 Обратная задача и однозначность решения	63
3.1.3 Интерполяция обратного отображения	68
3.2 Экспериментальные процедуры и тестируемые данные	70
3.3 Результаты и обсуждения	72
3.3.1 Шарики молочного жира	72
3.3.2 Сферизованные эритроциты	75
3.3.3 Характеризация сфероидов	76
3.4 Использование других спектральных амплитуд	77
3.5 Использование фазы спектра для характеристики полистирольных шаров	83
3.5.1 Экспериментальная проверка	84
3.6 Заключение	86
Глава 4. Спектральный метод оценки несферичности	88
4.1 Экспериментальная индикатриса и Фурье преобразование	89
4.2 Возможности амплитудного спектра	90
4.3 Применение фазового спектра	94
4.3.1 Приближение Рэля-Ганса-Дебая	94
4.3.2 Фаза основного пика в приближение Рэля-Ганса-Дебая	97
4.3.3 Фаза основного пика в теории Лоренца-Ми	100
4.4 Оценка несферичности с помощью комплексного спектра	102
4.5 Обобщенная геометрическая характеристика несферичности	107
4.6 Экспериментальные особенности	112
4.7 Результаты и обсуждения	113
4.7.1 Полистирольные шарики	113
4.7.2 Шарики молочного жира	114
4.7.3 Сферизованные эритроциты	116
4.8 Заключение главы	118
Заключение	120
Теоретические основы спектрального метода	120

Спектральный метод характеристики шара	120
Спектральный метод оценки несферичности.....	121
Основные результаты	122
Литература	125
Приложение.....	137
Список сокращений и символов.	137

Введение

Кровь является уникальным индикатором состояния организма человека, так как наличие тех или иных заболеваний отражается на её химическом и гематологическом состоянии, т.е. состоянии клеток крови. Поэтому анализ клеток крови имеет ключевое значение в постановке верного диагноза и своевременном лечении. Увеличение информативности, скорости получения и надежности извлекаемых данных приведет к общему повышению качества системы здравоохранения.

Широкое распространение получили оптические методы исследования клеток крови, благодаря неинвазивному и скоростному анализу. Существует два основных подхода к оптическому исследованию, связанных с измерением флуоресценции и упругого светорассеяния. Первый позволяет изучать химические структуры и определять наличие определенных макромолекул на поверхности или внутри клетки. Второй позволяет исследовать морфологические свойства, т.е. распределение показателя преломления (ПП) внутри клетки. Оба этих подхода широко применяются в проточной цитометрии.

На данный момент в коммерческих решениях преобладает использование подхода флуоресцентных меток, в то время как измерение светорассеяния ограничено в основном несколькими значениями интенсивности, проинтегрированной в некоторых угловых диапазонах. Однако, несмотря на свое широкое распространение, флуоресценция имеет важные ограничения: во-первых, она не может предоставить информацию о морфологии клетки, во-вторых данный подход нельзя строго назвать неинвазивным, так как мечение может повлиять на состояние живых клеток, и, в-третьих, оно требует значительных затрат на расходные материалы. Подход светорассеяния лишен этих ограничений, что делает его перспективным направлением развития медицинской диагностики.

Исследование клеток методом светорассеяния сильно зависит от количества и качества извлекаемой информации рассеяния. Это напрямую влияет на точность и надёжность решения обратной задачи, т.е. определение морфологических характеристик клеток. Поэтому методы, позволяющие измерять разрешенную по углу картину светорассеяния (индикатрису), имеют большую перспективу развития и применения.

Возникающие обратные задачи светорассеяния (ОЗС), хотя и являются чаще всего корректно поставленными, не имеют каких-либо универсальных решений. Каждый из существующих классов методов обладает своими преимуществами и недостатками, их подробный обзор представлен в Главе 1. Один из таких классов – спектральные методы (рассматриваются в разделе 1.3.1). Они позволяют быстро и надежно определять только размеры одиночных частиц, и могут быть сравнительно легко построены для любой

измерительной системы, способной измерять индикатрису светорассеяния. Однако принцип построения таких методов основан на эмпирически выявленной корреляции между основной частотой колебаний интенсивности рассеяния и размером шара. Причем данная корреляция имела место и при отклонении исследуемой частицы от сферической формы. В ходе литературного обзора стало ясно, что, несмотря на наличие качественного понимания процесса, именно отсутствие строгой теории, обосновывающей работу спектральных методов, серьезно затрудняет их дальнейшее развитие.

Диссертационная работа посвящена развитию спектральных методов характеристики частиц по индикатресе светорассеяния для исследования клеток крови с помощью сканирующего проточного цитометра (СПЦ).

Задачами данной работы являются:

1. Провести теоретический анализ, обосновывающий эмпирические зависимости, лежащие в основе многих спектральных методов, таких как соответствие основного пика спектра размеру измеряемой частицы, и предложить базис для совершенствования метода.
2. Разработать метод полной характеристики однородного шара (определение размера и показателя преломления) по индикатресе, измеряемой с помощью СПЦ, основанный на извлечении из амплитудного спектра индикатрисы двух параметров. Экспериментально проверить работу метода на шариках молочного жира и сферизованных эритроцитах.
3. Разработать метод оценки несферичности частиц с помощью СПЦ, основанный на чувствительности основного пика к искажениям формы модели. Экспериментально проверить его работу на шариках молочного жира и в процессе сферизации эритроцитов.
4. Разработать альтернативный метод характеристики шаров с использованием фазового спектра индикатрисы для определения показателя преломления. Экспериментально проверить его работу в сравнении с эталонным методом на полистирольных шариках.

Теоретическая ценность работы заключается в развитии методов спектральной характеристики частиц по картине светорассеяния, что могут быть применимы не только в анализе клеток крови, но и в смежных областях науки. Был предложен общий теоретический базис объясняющий поведение существующих методов, его использование в ближайшей перспективе способно значительно облегчить разработку новых подходов в данном направлении.

Практическая ценность работы связана с применением методов спектральной характеристики для исследования клеток крови на СПЦ. Благодаря высокому быстродействию разработанные методы могут использоваться в реальном времени измерения образца и, тем самым, предоставлять возможность получения большего контроля над проводимыми измерениями. Также предложенный метод оценки несферичности позволяет измерять

кинетику лизиса клеток, например, эритроцитов, что является важной частью медицинских исследований и диагностики.

Работа выполнена в Институте химической кинетики и горения им. В.В. Воеводского СО РАН и поддержана в рамках гранта РФФИ «Аспиранты» №19-32-90073. Все приведенные в работе результаты, связанные с решением поставленных задач, получены непосредственно автором. Это включает в себя теоретический анализ, разработку алгоритмов характеристики частиц по спектру индикатрисы, их реализацию в программных средах Wolfram Mathematica и LabVIEW, а также применение как к экспериментально измеренным, так и к численно рассчитанным индикатрисам. Экспериментальные индикатрисы были измерены другими сотрудниками лаборатории цитометрии и биокинетики ИХКГ СО РАН, это же относится к численно рассчитанным индикатрисам несферических частиц (с помощью методов дискретных диполей и Т-матриц). При этом автор самостоятельно вычислял индикатрисы одно- и двухслойных шаров, используя ранее созданную программу на основе теории Лоренца-Ми. Все рисунки, за исключением нескольких в обзоре литературы, построены непосредственно автором с использованием программного пакета Origin.

Диссертация состоит из введения, пяти глав, заключения и списка цитируемой литературы, включающего 278 наименований. Диссертация изложена на 142 страницах, включает 68 рисунка и 2 таблицы.

Первая глава представляет собой общий литературный обзор, в котором подробно рассмотрены существующие технологические возможности по получению индикатрис рассеяния от одиночных частиц и существующие методы их характеристики.

Вторая глава посвящена теоретической основе спектрального метода, разработке аналитического базиса для объяснения и развития существующих эмпирических подходов. В частности, удалось связать получаемый спектр с геометрическим описанием исследуемой частицы, представленным в виде автокорреляционной функции объема.

Третья глава посвящена разработке метода характеристики шаров (включая определение ПП) с использованием амплитудного и фазового спектра индикатрисы. Предложены два устойчивых параметра амплитудного спектра: положение основного пика и амплитуда нулевой частоты, имеющие ярко выраженную корреляцию с размером и ПП. С помощью теории Лоренца-Ми построено прямое отображение и исследована его однозначность. Обратное отображение получено с помощью интерполяции. Работоспособность метода была проверена на экспериментальных данных молочного жира и сферизованных эритроцитов в сравнении с эталонным методом нелинейной регрессии. Аналогично продемонстрировано применение фазы основного пика в качестве второго спектрального параметра для характеристики полистирольных шаров.

Четвертая глава посвящена разработке метода оценки несферичности с использованием полного комплексного спектра картины рассеяния одиночной частицы. Исследовано влияние несферичности на спектр в приближении РГД, по итогу предложена естественная характеристика несферичности для сфероида и её обобщение на произвольную форму. Предложен алгоритм определения спектрального параметра несферичности, который является результатом сравнения комплексной формы основного пика с той, что получена с использованием спектрального метода характеристики шара (СМХШ). Получено отображение спектрального параметра несферичности в геометрическую характеристику несферичности для сфероидов и эритроцитов соответственно. Разработанный метод сравнивается с эталонным на экспериментальных данных молочного жира. Также с помощью полученного метода измерена кинетика сферизации эритроцитов.

В заключении сформулированы основные результаты работы. Они опубликованы в 4 статьях и 6 тезисах конференций.

На защиту выносятся следующие положения:

1. Положения пиков в спектре индикатрисы светорассеяния в диапазоне углов, не включающим направление вперед, определяется разрывами производной автокорреляционной функции объема частицы. В частности, самый дальний пик определяется максимальным расстоянием между двумя точками внутри частицы.
2. Положение основного пика, амплитуда нулевой частоты и значение фазы в пике спектра индикатрисы являются устойчивыми к шуму параметрами для решения обратной задачи светорассеяния (ОЗС).
3. Точность характеристики спектральным методом сферизованных эритроцитов и шариков молочного жира сравнима с эталонным методом нелинейной регрессии при преимуществе в быстродействии на 3 порядка.
4. Отклонение комплексного спектра индикатрисы сфероида от того же для идеального шара примерно пропорционально размеру, умноженному на квадрат эксцентриситета.

Научная новизна работы определяется следующими наиболее значимыми результатами:

Впервые проведен строгий теоретический анализ спектрального метода определения размера и показано, как последняя особенность в спектре индикатрисы связана с размером и формой частицы. Новизна состоит в теоретическом полукочественном доказательстве (на основе теории светорассеяния) известной эмпирической зависимости.

Разработан метод характеристики шаров по амплитудному спектру индикатрисы, основанный на извлечении из спектра устойчивых к шуму параметров, которые однозначно определяют размер и ПП шара. Основная новизна состоит именно в определении ПП.

Разработан чувствительный метод оценки несферичности частиц по спектру индикатрисы, основанный функционале от комплексной формы основного пика в спектре.

Впервые продемонстрированы возможности характеристики шаров с использованием фазового спектра.

Практическая ценность работы связана с применением спектральных методов характеристики для исследования клеток крови на сканирующем проточном цитометре. Благодаря высокому быстродействию используемые методы могут использоваться в реальном времени при измерении образца и, тем самым, предоставлять возможность получения большего контроля над проводимыми измерениями. Также предложенный метод оценки несферичности позволяет измерять кинетику сферизации клеток, например, эритроцитов, что является важным аспектом медицинской диагностики.

Глава 1. Обзор литературы

Рассеяние света (в более общем смысле, взаимодействие электромагнитных волн с частицами) – один из наиболее распространенных методов неинвазивного анализа и определения характеристик различных типов объектов. Он успешно используется в широком спектре различных приложений, таких как астрофизика, метеорология, биофизика, нанотехнологии и др. Существует множество экспериментальных подходов, которые можно разделить на два широких класса. Неупругое рассеяние включает различные виды спектроскопии, т. е. измерение поглощения с разрешением по длине волны [1] или комбинационное рассеяние света [2], включая измерения с разрешением по углу [3]. Методы упругого рассеяния света подразумевают, что длина волны падающего излучения не меняется, поэтому соответствующие измерения обычно выполняются на одной или нескольких длинах волн. Важно отметить, что измерения упругого рассеяния могут быть полностью описаны в рамках уравнений Максвелла в частотной области [4,5].

Другой важной особенностью методов характеристики является то, что применимы они как к отдельным частицам, так и к ансамблям (популяциям) частиц (например, суспензиям). Популяционные методы значительно проще с экспериментальной стороны из-за более высокого отношения сигнал/шум и тривиальной подготовки образца. Таким образом, они появились раньше [6,7] и получили свое распространение во многих коммерческих приборах [8,9]. Однако восстановление распределения ансамбля по характеристикам является заведомо некорректно поставленной обратной задачей, которая может быть надежно решена, только если предполагается некоторая априорная информация об этом распределении. Измерения одиночных частиц, хотя и являются более сложными с технической точки зрения, свободны от этого ограничения и позволяют достичь гораздо большей точности [10,11].

Данная глава посвящена обзору методов характеристики одиночных частиц, основанных на измерении упругого рассеяния. При этом основное внимание уделяется ближней оптической части спектра (от инфракрасной до более коротких волн), поскольку на микроволновых частотах измерения рассеяния несколько проще, например, из-за прямого измерения фазы волны [12]. Более того, другие физические явления могут быть описаны в том же классическом подходе упругого рассеяния, например, спектроскопия потерь энергии электронов [13,14] и катодолюминесценция (с угловым разрешением) [15], но они выходят за рамки данной диссертации.

К двум основным составляющим развития методов характеристики одиночных частиц можно отнести методы измерения и моделирования. Методы измерения эволюционировали от одного [16] или нескольких дискретных сигналов [17] до псевдо-непрерывных одномерных

[18] и двумерных картин рассеяния света (индикатрис) в широких угловых диапазонах [19]. К 2D системам измерения индикатрис рассеяния относятся голографические [20] и интерферометрические (фазочувствительные) системы [21], а также томографические системы, изменяющие направление падения опорного луча [22]. Достижения таких экспериментальных систем были подробно рассмотрены в обзоре [23]. Методы моделирования эволюционировали от теории Лоренца-Ми (ЛМ) для сферических частиц [24] до методов поверхностной [25] и объемной дискретизации [26,27], применимых к однородным и неоднородным частицам произвольной формы соответственно [28,29]. В настоящее время можно моделировать произвольные частицы с размерами до десятков длин волн с хорошо контролируемой точностью, однако моделирование не всегда достаточно быстро для конкретных приложений.

Помимо этих численно точных методов существует множество приближенных. Различные приближения слабого рассеяния (такие как приближение Борна или Рытова [30,31]) делают рассеянное поле линейным по функции оптического контраста (или распределению ПП внутри частицы). При наличии достаточного количества экспериментальных данных эта линейность в принципе позволяет восстановить морфологию всей частицы. Это составляет основу огромной области томографии [22,32–35]. Точно так же различные приближения скалярной дифракции используются в голографии для восстановления 2D проекции частицы [36,37]. Однако из-за используемых приближений и регуляризации во время восстановления, и томографические, и голографические реконструкции относятся к классу методов визуализации (imaging), создающих двумерное или трехмерное изображение объекта, которое в лучшем случае является лишь полуколичественным. Другими словами, невозможно контролировать точность этих изображений или использовать их для точной оценки геометрических характеристик. В этом отношении они похожи на различные микроскопические методы [38,39], поэтому далее не обсуждаются.

В данной главе основное внимание уделяется описанию светорассеяния отдельных частиц без использования приближений, что приводит к нелинейным ОЗС (далее слово «нелинейный» будет опускаться, но всегда подразумеваться), обычно с использованием моделей формы, описываемых несколькими характеристиками. Методы решения ОЗС являются третьим важным компонентом методов характеристики, в которых за последние 30 лет наблюдался значительный рост вместе с возможностями измерения и моделирования. Однако разработка решений ОЗС была в значительной степени фрагментарной и ограничивалась конкретными экспериментальными установками. Эти отдельные направления разработок включают в себя характеристику биологических клеток с помощью одномерных индикатрис, измеренных сканирующим проточным цитометром, [40–42] характеристику

аэрозольных частиц с использованием 2D индикатрис, измеренных с помощью эллипсоидных отражателей [43,44], и классификацию биологических клеток в потоке с использованием 2D индикатрис (diffraction imaging) [45,46]. Более того, область голографии получила развитие в методах характеризации [47–49], при обработке голограмм как 2D индикатрис вместо применения приближенных подходов. Основная цель данной главы – описать существующие методы характеризации одиночных частиц, включая решение ОЗС, в единой структуре. Таким образом, будут описаны сходства существующих методов в различных экспериментальных условиях и описаны перекрестные направления для дальнейшего развития.

Глава начинается с краткого теоретического введения в разделе 1.1, за которым следует обзор существующих экспериментальных подходов к выделению отдельных частиц и измерению светорассеяния в разделе 1.2. Раздел 1.3 является ядром обзорной главы, в котором подробно обсуждаются все существующие методы характеризации. Наибольшее внимание уделяется модельным методам, сводящимся к решению параметрической ОЗС. Однако также обсуждаются методы восстановления (без модели) в отличие от приближенных подходов томографии или голографии и методы классификации на основе данных. В разделе 1.4 представлены выводы данной главы и перспективы на будущее.

1.1 Общая теория светорассеяния

В данном разделе кратко описана теория рассеяния света, опираясь на существующую литературу [4,5,50,51], с целью выделить основные определения, чтобы упростить обсуждение в следующих главах. Рассмотрим частицу с ПП n , освещенную плоской волной с интенсивностью I_{inc} и длиной волны λ в свободном пространстве в немагнитной и непоглощающей среде с ПП n_0 . Тогда волновой вектор в этой среде имеет вид $k = 2\pi n_0/\lambda$. Для любой частицы можно ввести обобщенный диаметр (далее обозначаемый как размер d) как максимальное расстояние между двумя точками внутри частицы. В этом случае дифракционный параметр определяется как

$$x = kd/2. \quad (1)$$

В качестве альтернативы можно использовать дифракционный параметр, соответствующий эквивалентному по объему диаметру, т. е. диаметру шара с таким же объемом, что и данная частица.

Другой важной характеристикой является параметр набега фазы ρ (в частице по сравнению со средой), определяемый как

$$\rho = 2x(m - 1), \quad (2)$$

где $m = n/n_0$ – относительный ПП частицы. Строго говоря, это определение применимо только для однородных шаров, но оно также имеет смысл для других частиц, если использовать любое из приведенных выше определений для x и некоторого среднего значения ПП. Более того, если m является комплексным (присутствует поглощение), его обычно заменяют на $\text{Re } m$ в Ур. (2) чтобы ρ оставалось действительным. Как x , так и ρ обычно сравниваются с единицей для определения режимов, где применимы различные приближения при моделировании светорассеяния (см., раздел 1.3).

Полная мощность рассеяния P_{sca} пропорциональна интенсивности падающего излучения как

$$P_{\text{sca}} = C_{\text{sca}} I_{\text{inc}}, \quad (3)$$

где C_{sca} – сечение рассеяния. То же самое верно для поглощения (P_{abs} и C_{abs}), в то время как экстинкция (удаленная мощность от падающего излучения) является суммой вышеуказанных

$$\begin{aligned} P_{\text{ext}} &= P_{\text{sca}} + P_{\text{abs}}, \\ C_{\text{ext}} &= C_{\text{sca}} + C_{\text{abs}}, \end{aligned} \quad (4)$$

где P_{ext} – мощность экстинкции, и C_{ext} – сечение экстинкции.

Вдали от частицы, расположенной вокруг начала координат, рассеянное излучение выглядит как сферическая волна, компоненты электрического поля которой линейно связаны с компонентами падающего поля в той же точке \mathbf{r} (индексы «sca» и «inc», соответственно):

$$\begin{pmatrix} E_{\parallel \text{sca}} \\ E_{\perp \text{sca}} \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} S_2 & S_3 \\ S_4 & S_1 \end{pmatrix} \frac{\exp[ik(r - z)]}{-ikr} \begin{pmatrix} E_{\parallel \text{inc}} \\ E_{\perp \text{inc}} \end{pmatrix}, \quad (5)$$

где индексы \parallel и \perp обозначают компоненты, параллельные и перпендикулярные плоскости рассеяния соответственно, $r = |\mathbf{r}|$, z – компонента этого вектора. При этом предполагается временная зависимость гармонических волн в виде $\exp(-i\omega t)$ (ω – частота волны). S_{1-4} – компоненты амплитудной матрицы рассеяния, которые обычно зависят от направления рассеяния \mathbf{r}/r или сферических углов θ и ϕ и определяются геометрией и составом частицы.

На практике детекторы измеряют напряженность электрического поля, усредненную за время измерения, которое в большинстве случаев намного превышает $1/\omega$. Наиболее естественными величинами для таких измерений являются четыре параметра Стокса (интенсивности, представляющие поляризацию света):

$$I = \frac{\varepsilon_0 c n_0}{2} (E_{\parallel} E_{\parallel}^* + E_{\perp} E_{\perp}^*), \quad (6)$$

$$\begin{aligned}
Q &= \frac{\varepsilon_0 c n_0}{2} (E_{\parallel} E_{\parallel}^* - E_{\perp} E_{\perp}^*), \\
U &= \frac{\varepsilon_0 c n_0}{2} (E_{\parallel} E_{\perp}^* + E_{\perp} E_{\parallel}^*), \\
V &= \frac{\varepsilon_0 c n_0}{2} (E_{\parallel} E_{\perp}^* - E_{\perp} E_{\parallel}^*),
\end{aligned}$$

где * обозначает операцию комплексного сопряжения, а постоянный коэффициент (указанный в системе единиц СИ), включая диэлектрическую проницаемость вакуума ε_0 и скорость света c , часто опускается, если учитываются только относительные интенсивности. Падающие и рассеянные векторы Стокса также линейно связаны через матрицу рассеяния Мюллера (или Стокса):

$$\begin{pmatrix} I_{\text{sca}} \\ Q_{\text{sca}} \\ U_{\text{sca}} \\ V_{\text{sca}} \end{pmatrix} = \frac{1}{k^2 r^2} \begin{pmatrix} S_{11} & S_{12} & S_{13} & S_{14} \\ S_{21} & S_{22} & S_{23} & S_{24} \\ S_{31} & S_{32} & S_{33} & S_{34} \\ S_{41} & S_{42} & S_{43} & S_{44} \end{pmatrix} \begin{pmatrix} I_{\text{inc}} \\ Q_{\text{inc}} \\ U_{\text{inc}} \\ V_{\text{inc}} \end{pmatrix}. \quad (7)$$

Элементы матрицы Мюллера S_{ij} могут быть выражены через амплитудную матрицу [4]. Если перед детектором не используется поляризатор, он измеряет I_{sca} , интегрированный по апертуре детектора. Если дополнительно падающее поле не поляризовано ($Q_{\text{inc}} = U_{\text{inc}} = V_{\text{inc}} = 0$), I_{sca} определяется исключительно элементом S_{11} , также известным как фазовая функция.

В цифровой голографии происходит интерференция падающего и рассеянного излучений [36,52]

$$I_{\text{meas}}(\mathbf{r}) = \frac{\varepsilon_0 c n_0}{2} |\mathbf{E}_{\text{inc}}(\mathbf{r}) + \mathbf{E}_{\text{sca}}(\mathbf{r})|^2. \quad (8)$$

При измерении этой интенсивности в плоскости $z = z_0$ на некотором расстоянии позади объекта (при условии распространения вдоль оси z) задача напоминает дифракцию, для которой доступен ряд приближений. Важно отметить, что все они рассматривают трехмерную частицу только через ее функцию пропускания $t(x, y)$, которая определяет полное поле в плоскости $z = z_1$ сразу после частицы:

$$\mathbf{E}(x, y, z_1) = \mathbf{E}_{\text{inc}}(x, y, z_1) t(x, y), \quad (9)$$

что само по себе подразумевает приближение скалярного поля (т.е. поляризация поля не изменяется частицей). В том же приближении полное поле в плоскости измерения $\mathbf{E}(x, y, z_0)$ линейно связано с $\mathbf{E}(x, y, z_1)$ через дифракционный интеграл.

Обращение последнего может дать $t(x, y)$, который обычно выражается как

$$t(x, y) = \exp[-a(x, y)] \exp[i\phi(x, y)], \quad (10)$$

где $a(x, y)$ описывает поглощение, $\phi(x, y)$ – сдвиг фазы, вносимый объектом. Хотя любую из этих двух функций можно рассматривать как изображение объекта, обычно функция пропуска не подходит для точной характеристики. И только для слаборассеивающих частиц она строго связана с толщиной $h(x, y)$ частицы вдоль оси z :

$$t(x, y) = \exp[ik(m - 1)h(x, y)], \quad (11)$$

где интеграл от $m(\mathbf{r}) - 1$ по оси z следует использовать для неоднородных частиц. Ур. (11) также используется в приближении аномальной дифракции [50].

1.2 Технологические возможности

В данном разделе описываются различные устройства измерения одиночных частиц, поскольку аппаратные ограничения в значительной степени определяют возможности подходов характеристики. В любой системе измерения присутствуют две основные составляющие: выделение (изолирование) частицы и измерение ее сигнала рассеяния, обе будут рассмотрены ниже. Принципиально существующие методы изолирования частиц можно разделить на три группы, относящиеся к образцу, потоку и ловушке соответственно. В настоящих приложениях они могут быть скомбинированы, но здесь будут рассматриваться по отдельности, чтобы подчеркнуть связь между этим выбором и измеряемыми сигналами.

Подход, использующий образец, является самым простым и наиболее распространенным, применяемым с начала микроскопии. Обычно образец представляет собой подложку с осевшими частицами или разбавленную суспензию в кювете таким образом, что влиянием частиц друг на друга (многократным рассеянием) можно пренебречь. Тот же подход реализуется в системах многочастичного (усредненного по выборке) рассеяния, т.е. для измерения среднего сечения экстинкции по измеренной оптической плотности. Для получения одночастичных сигналов обычно используется небольшая область освещения [53], что в случае суспензии означает редкое появление частицы в области за счет блуждания. «Широкое» освещение может быть сохранено в случае подложки [54,55], в то время как в случае суспензии только интерферометрические методы могут обеспечить подобное измерение [21] (обсуждается ниже). В целом, данный подход технически прост; однако возникают трудности при измерении светорассеяния из-за ограниченного пространства, например, измерения рассеяния только вперед или назад в случае подложки [36] или из-за наличия шума в случае суспензии.

Проточный подход основан на гидродинамической или аэродинамической фокусировке [56,57] для жидкостей или газов соответственно. В простейшем варианте поток жидкости или газа, содержащий частицы, объединяется с внешним коаксиальным потоком, тем самым сжимая внутренний поток и заставляя частицы выстраиваться в линию в полученной струе (с достаточным расстоянием между частицами, чтобы гарантировать режим одночастичного рассеяния). Преимущество этого подхода – высокая производительность до 10 000 частиц в секунду [58,59] и низкие пространственные ограничения, позволяющие эффективно собирать сигнал рассеяния с различных направлений (прямое, обратное, боковое рассеяние и т.д.). Кроме того, технологии фокусировки влияют на пространственную ориентацию вытянутых частиц в потоке [60], что помогает в решении ОЗС (см. Раздел 1.3.2). Основным недостатком является невозможность многократного измерения одной и той же частицы, хотя методы голографии могут частично обойти это ограничение [36], измеряя на некотором интервале вдоль потока.

Следующий подход основан на манипулировании отдельной частицы в фотофоретических [61], электромагнитных [62], или оптических [63] ловушках (оптический пинцет). Таким образом можно не только точно установить положение частицы, как в проточном подходе, но и дополнительно удерживать ее в течение длительного времени, манипулируя как положением частицы, так и, с некоторыми ограничениями, ее ориентацией [64]. Во многих приложениях такие функции могут быть невероятно полезны, аналогично полному контролю частицы в экспериментах в микроволновом диапазоне [65,66]. Однако трудности с практической реализацией и ограничения по характеристикам частиц препятствовали широкому распространению данного подхода. В частности, биологические частицы в жидкости имеют низкий относительный ПП, что не подходит для оптических ловушек требующих сильного рассеяния [67]. Более того, этот подход имеет низкую пропускную способность – менее 1 частицы в секунду.

Методы измерения более разнообразны в своих реализациях, однако в общем случае разделяются на два больших класса по типу сигналов: дискретные и непрерывные (с угловым разрешением). Первый класс включает измерение интенсивности рассеяния, проинтегрированной по определенному угловому диапазону, с использованием фотоумножителя (ФЭУ) или другого детектора, без строгого ограничения на количество таких скалярных сигналов (здесь и далее их число обозначается как n_c). Второй класс включает гораздо большее n ; таким образом, что вместе эти измерения образуют квазинепрерывный сигнал относительно угла рассеяния – так называемую картину светорассеяния (индикатрису). Например, это может быть достигнуто с помощью ПЗС-камер для 2D-изображения или матриц светодиодов для 1D-изображения. Основное различие между этими двумя классами

заключается в объеме собираемой информации и, следовательно, в ее использовании на этапе анализа (решения ОЗС). Рассмотрим подробнее представителей каждого из этих классов.

Огромное количество приборов измеряет дискретные сигналы светорассеяния благодаря простоте реализации. Распространены оптические установки, измеряющие один [16,68–71,54,55], два [17,72,73], три [74,75] или четыре [59,76,77] сигнала. Наблюдаются некоторые различия в типах сигналов: обычные рассеяния вперед [75] и вбок [54,55,71,78,79], интенсивность проинтегрированная в некоторых определенных диапазонах по телесному углу [70,74,77] или полярному углу [16,17,72]. Иногда эти диапазоны оптимизируются для решения определенной задачи [17,72]. Также используются поляризационные элементы [77] и многоволновые установки [75,76], что увеличивает количество сигналов. Таким образом комбинации всего вышеперечисленного создают множество подходов к измерению.

Метод измерения экстинкции и рассеяния одиночных частиц (single particle optical extinction and scattering, SPES), разработанный Потенцой (Potenza) и др. [80,81], также следует отнести к этому классу, хотя в нем измеряют двумерную интерференционную картину (подобную той, что в цифровой голографии ниже). Однако вся эта картина сжимается до двух параметров: действительной и мнимой части амплитуды рассеяния точно вперед, которая в дальнейшем может быть преобразована в C_{ext} и набег фазы сечения (последнее связано с ρ) с помощью оптической теоремы [4,50]. Преимущество SPES состоит в способности характеризовать частицы размером от 100 нм до нескольких микрон, но требование сильного рассеяния затрудняет его применение к объектам с низким относительным ПП, такие как биологические частицы.

Методы, использующие непрерывный сигнал, представляют собой наивысшую точку развития измерений светорассеяния, так как способны собирать большой объем информации. Соответствующие инструменты можно разделить на те, которые измеряют одномерный или двумерный сигнал (1D и 2D индикатриса соответственно), поскольку их подходы как к характеристике, так и к измерению существенно различаются.

Зачастую 1D индикатрису получают либо подвижным ФЭУ (на поворотной штанге, в сочетании с оптической или электромагнитной ловушкой), либо массивом фотодиодов или ФЭУ. Например, Рэй (Ray) и др. [82] измеряли индикатрису шаров в электродинамической ловушке в диапазоне от 35° до 55° с помощью матрицы фотодиодов или от 66° до 106° с подвижным ФЭУ. Дорнбос (Doornbos) и др. [67] использовали подвижный ФЭУ для регистрации рассеяния оптически захваченных лимфоцитов человека. Подобная гониометрическая система также была использована при измерении рассеяния эритроцита в двулучевой оптической ловушке с контролируемой ориентацией [64]. Накагава (Nakagawa) и др. [83] описали многодетекторный одночастичный нефелометр (детекторную матрицу,

установленную вокруг измерительного пространства) в воздушном потоке с пропускной способностью 10 частиц в секунду. Низкое угловое разрешение таких устройств затрудняет измерение частиц размером более 20 мкм, однако они нашли применение в основном при изучении атмосферных явлений [84–86].

Альтернативным подходом является использование одного ФЭУ для измерения разрешенной по времени интенсивности рассеяния за счет снижения пропускной способности. Например, Жан (Zhang) и др. [87] измеряли интенсивность рассеяния частицы, пролетающей через гауссов пучок, однако в таком случае результирующий импульс соответствует рассеянию вперед или вбок из предыдущих примеров.

Настоящее же измерение одномерной индикатрисы с помощью единственного ФЭУ было достигнуто на сканирующем проточном цитометре (СПЦ) [40,88]. В данном приборе частица движется вдоль оси полусферического зеркала, которое отражает только некоторые лучи точно вдоль оси (которые далее собираются на ФЭУ). Этот угол сбора рассеяния изменяется с положением частицы; таким образом, измеренный сигнал как функция времени имеет однозначное соответствие интенсивности рассеяния как функции полярного угла θ (Рис. 2). СПЦ позволяет получить интенсивность рассеяния, усредненную по азимутальному углу ϕ , для значений полярного угла θ от 10° до 70° [89] при пропускной способности до 200 частиц в секунду [90]. Позже СПЦ был улучшен путем добавления возможности измерения поляризованных индикатрис для обнаружения несферичности частиц [91] и путем одновременного измерений прямого и бокового рассеяния для чрезвычайно точной характеристики однородных шаров [92].

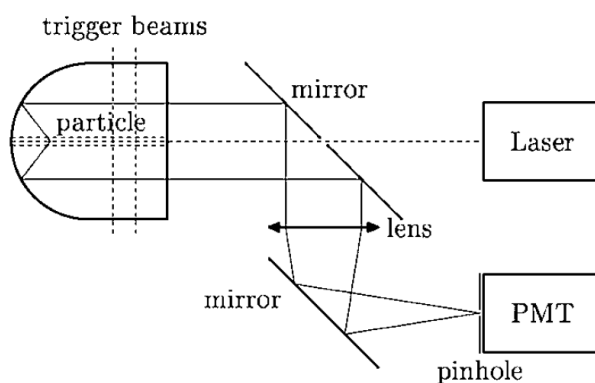


Рис. 1. Оптическая схема СПЦ, заимствованная из [93].

В подавляющем большинстве случаев двумерные индикатрисы измеряются с использованием ПЗС-матриц и различаются следующими особенностями: применением частичной или полной фокусировки рассеянного излучения и наличием интерференции с падающим полем. Хотя все эти подходы можно использовать в проточных системах,

характерные времена экспозиции обычно снижают пропускную способность до нескольких частиц в секунду, чтобы избежать размытия [74,94–96]. Однако есть редкие примеры пропускной способности до 1000 частиц в секунду [97,98].

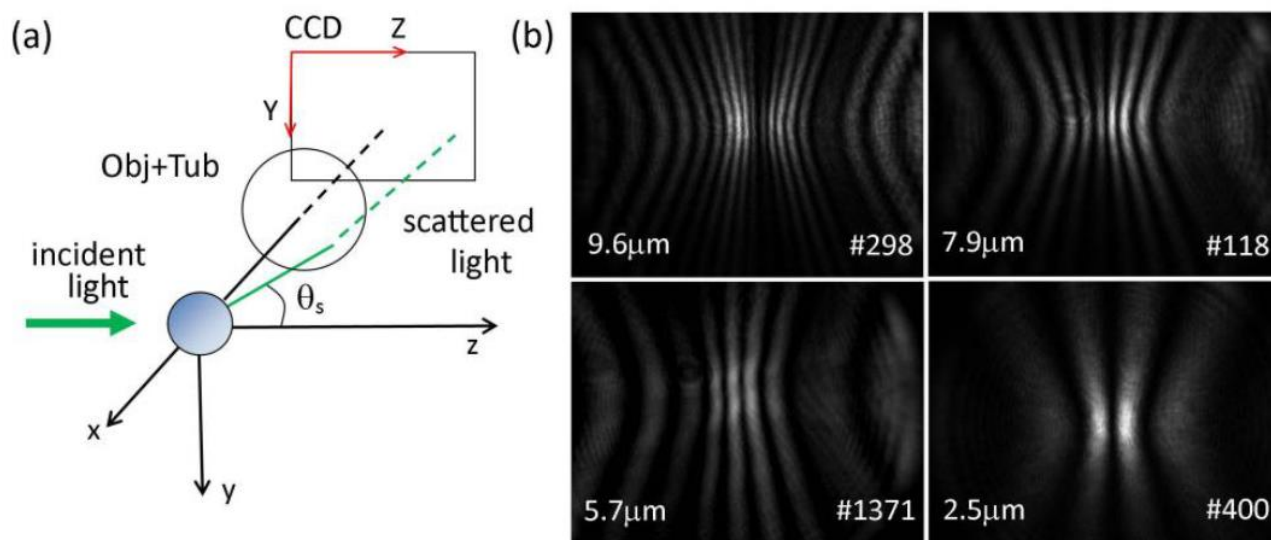


Рис. 2. Типичная схема конфигурации метода дифракционных картин (а) и полученные изображения одиночных полистирольных микросфер с номинальными диаметрами (б), взяты из работы [99].

Метод дифракционных картин (diffraction imaging) [98,100,101] основан на измерении бокового рассеяния под углом 90° в широком телесном угле около 25° [45] с использованием ПЗС-матрицы (Рис. 2). Из-за большого времени экспозиции скорость потока должна быть значительно меньше, чем в аналогичных проточных системах, что приводит к низкой пропускной способности [102,103]. Данным методом исследовали частицы размером в десятки мкм [45,46,97,104–107], однако также была продемонстрирована характеристика частиц размером от 1 до 100 мкм [99,108]. Другие конфигурации бокового рассеяния включают угловые диапазоны $79^\circ < \theta < 101^\circ$, $9^\circ < \phi < 31^\circ$ [109,110]; $88.3^\circ < \theta < 91.7^\circ$, $-117^\circ < \phi < 63^\circ$ [111]; и $86^\circ < \theta < 94^\circ$, $142^\circ < \phi < 168^\circ$ [112]. Похожая оптическая схема используется в методе малоуглового рассеяния (small-angle light scattering, SALS), где камера измеряет рассеяние вперед от 2° до 30° [96,113–115] или от 6° до 25° [116,117].

Аналогичный подход применяется в интерферометрии, но рассеянное поле фокусируется и измеряется вне плоскости фокуса [21,118–122], что приводит к изображению похожему на микроскопическое с интерференционными полосами в качестве основного источника информации.

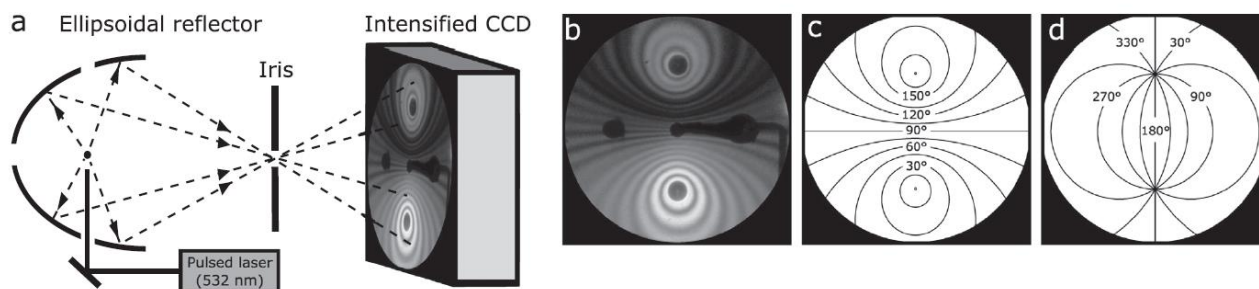


Рис. 3. Оптическая схема (а), картина рассеяния (б), полярное (в) и азимутальное (г) угловое отображение для системы TAOS. Взято из работы [44].

Вышеупомянутые методы получения двумерных индикатрис редко охватывают угловой диапазон, превышающий 30° полярного угла. Это ограничение удалось обойти с помощью эллипсоидных зеркал в подходе двумерного углового рассеяния (two-dimensional angular optical scattering, TAOS) (Рис. 3). Такая система была применена к частицам атмосферного аэрозоля, измеряя рассеяние в диапазонах $75^\circ < \theta < 135^\circ$ и $0^\circ < \phi < 360^\circ$ [44,123–126], и к биологическим спорам с диапазоном $15^\circ < \theta < 165^\circ$ [127].

Другой вариант получения двумерной индикатрисы – это рассеяние света с преобразованием Фурье (Fourier-transform light scattering, FTLS) [128,129]. Он основан на измерении амплитуды и фазы рассеянного поля в плоскости изображения объекта, которое затем численно распространяется на бесконечность, получая т.н. поле рассеяния в дальней зоне. Такой подход требует высокой пространственной когерентности падающего пучка и высокой точности измерения фазы с помощью интерферометра. Он применялся к различным биологическим клеткам [130–134], в частности, использовался для характеристики эритроцитов с использованием приближения Борна (для моделирования светорассеяния) [30]. Однако применение FTLS для характеристики одиночных частиц сомнительно, поскольку численное распространение на бесконечность не добавляет никакой новой информации, но требует дополнительных вычислений и искажает экспериментальный шум.

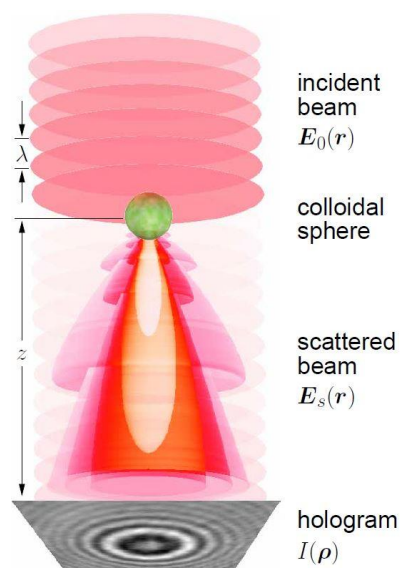


Рис. 4. Принцип цифровой голографии. Взято из работы [47].

Одним из наиболее эффективных методов измерения интерференции между рассеянным и падающим полями является проточная цифровая голография (digital holography, DH) [36,135] (Рис. 4). Она требует высокой пространственной когерентности падающего пучка и интенсивного рассеяния. Цифровая голография применялась для характеристики полистирольных шаров, [47,136–139] шариков молочного жира [137], шаров с асимметричным покрытием и стержней [48], *E. coli* [94,140], агрегатов шаров [141], микропузырьков с полимерной оболочкой [142], и белковых агрегатов [143,144]. Были также попытки измерения поляризации [145] и комбинации с независимыми измерениями светорассеяния [146,147].

Важно отметить, что возможности восстановления для получения $t(x, y)$ в рамках приближения скалярной дифракции (см. Раздел 1.1), послужили катализатором для развития голографии. Это привело к появлению таких методов, как количественная фазовая визуализация и количественная фазовая микроскопия, которые подробно описаны в [36,148].

Строго говоря, любое изображение, полученное с микроскопа, потенциально может быть использовано для характеристики отдельных частиц путем решения ОЗС. Хотя это сложно из-за относительно сложной оптической схемы и некогерентных источников света. Как бы то ни было, эта обширная область требует отдельного рассмотрения. Здесь стоит упомянуть только работы, сочетающие микроскопию и прямые измерения рассеяния. Например, Ицкан (Itzkan) и др. [149] совмещали типичный конфокальный микроскоп со спектроскопией светорассеяния. Эта система обеспечивала измерения размера, формы и ПП частиц меньше дифракционного предела. Уилсон (Wilson) и др. [150] провели подробное исследование по оптимизации оптической конфигурации микроскопа с темнопольным освещением и кросс-поляризацией для определения здоровых и зараженных малярией эритроцитов. Рихтер (Richter) и др. [151] использовали инвертированный микроскоп с регулируемым углом

освещения для измерения индикатрисы с помощью ФЭУ и применили для дифференцировки клеток до и после апоптоза.

В данном разделе были рассмотрены основные технические аспекты выделения одиночных частиц и измерения их сигналов светорассеяния. На данный момент самые передовые технологии основаны на проточных и разрешённых по углу системах. Их сочетание позволяет получить большой объем точной информации о рассеянии.

1.3 Методы характеристики и обратные задачи

В этом разделе рассматриваются различные подходы к характеристике, то есть получению некоторой информации об объекте из данных рассеяния, предполагая некоторую априорную информацию. В зависимости от её количества и типа могут быть определены разные виды характеристики: *модельный подход*, *восстановление* и *подход данных*. В наиболее распространенном случае, модельный подход сводится к решению параметрической ОЗС, поскольку априорная информация выражается в виде модели самой частицы, описываемой несколькими характеристиками. Количество последних далее обозначается как p_m .

Подход восстановления направлен на получение распределения ПП в пространстве с использованием как можно меньшего количества априорной информации. В нем также используется наибольший объем данных рассеяния среди всех методов, но даже в этом случае решение является заведомо нестабильным и неоднозначным, если не предполагаются какое-либо приближение. Однако эти приближения налагают ограничения на размер и/или ПП объекта, что ограничивает применимость методов и само по себе является априорной информацией.

В подходе, основанном на данных, ранее собранные данные служат априорной информацией и используются для построения прогностической модели. Такие методы решают задачи классификации и идентификации, которые можно рассматривать как частный случай характеристики, когда несколько непрерывных характеристик модели заменяются одним дискретным значением на выходе. Они в первую очередь разрабатываются для практических приложений, и их трудно обобщить. Однако их успехи могут указывать на скрытый потенциал для более сложных методов характеристики.

Классификация методов характеристики, соответствующая структуре данного раздела, схематично показана на Рис. 5 и подчеркивает взаимосвязь между этими методами и экспериментальными подходами, описанными в разделе 1.2.

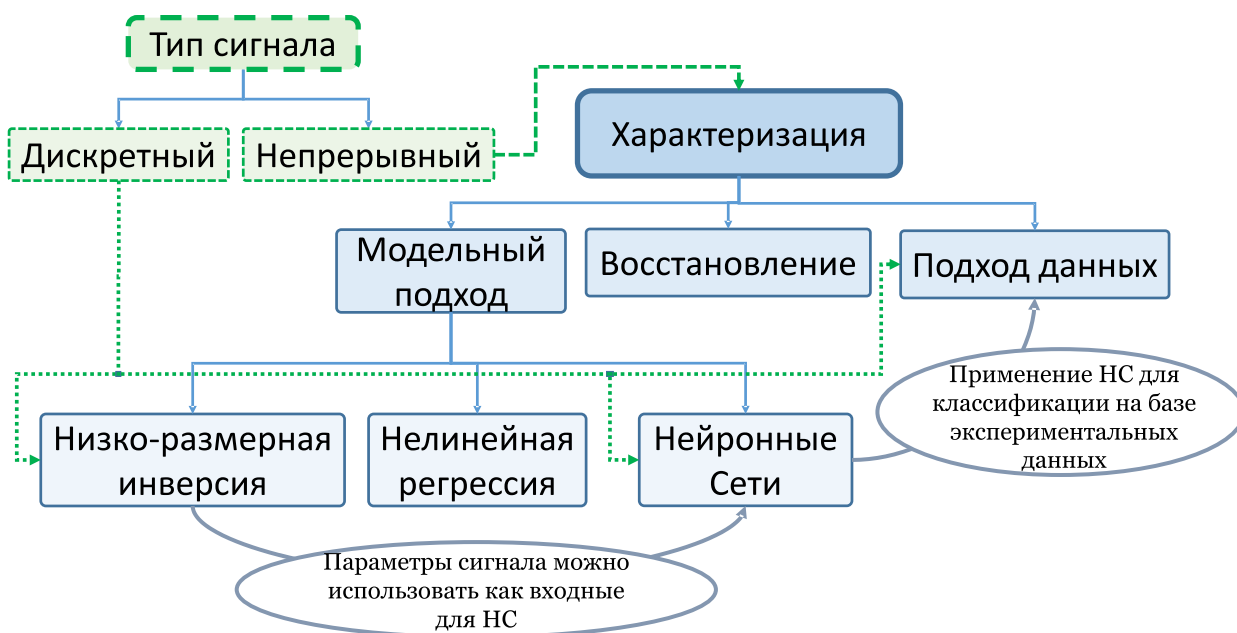


Рис. 5. Классификация методов характеристики одиночных частиц (показаны синим цветом), и их связь с методами измерения (показаны зеленым цветом). НС – нейронные сети.

Решение параметрической ОЗС всегда зависит от решения соответствующей прямой задачи (моделирования). Существует несколько обширных обзоров различных методов моделирования рассеяния света [28,29,152]. Важно отметить, что выбор оптимального метода во многом зависит от сложности модели частицы. Для однородных или многослойных концентрических шаров широко применяется теория Лоренца-Ми из-за ее скорости, точности и стабильности [24,153]. Обычно она считается аналитическим методом, хотя и является частным случаем метода разделения переменных, приводящим к решению в виде бесконечного ряда. Тем не менее, это самый быстрый численно точный метод, требующий около 1 мс на частицу на стандартном компьютере. Однако, уже для сфероидов подобный подход имеет серьезные проблемы со стабильностью [154,155]. В общем, для осесимметричных однородных форм наиболее часто используется метод расширенных граничных условий (extended boundary condition method, EBCM), также известный как метод Т-матриц (ТМ) [25,29]. А для агрегатов шаров – его соответствующее расширение (multi-sphere T-matrix, MSTM) [156]. Типичное время моделирования начинается от нескольких секунд, но увеличивается до минут и более для больших и/или вогнутых частиц (с помощью ТМ) [157,158] или большого количества шаров (с помощью MSTM) [159]. Для более сложных и неоднородных форм обычно используются методы объемной дискретизации, такие как метод конечных разностей во временной области (finite-difference time-domain, FDTD) [26] и метод дискретных диполей (discrete-dipole approximation, DDA) [27,160]. Соответствующее

время моделирования начинается от нескольких минут (в редких случаях - секунд) и неограниченно увеличивается с размером и, в случае DDA, с ПП, требуя использования суперкомпьютера [161,162]. В дополнение к вышеуказанным численно точным методам, то есть тем, которые могут достигать произвольной точности при наличии достаточных вычислительных ресурсов [163], существуют различные приближения, например приближения Рэля–Ганса–Дебая (РГД, также известное как приближение Борна) и приближения Вентцеля–Крамерса–Бриллюэна (ВКБ), геометрическая оптика и дифракция Френеля–Кирхгофа [4,5,36,164], которые в некоторых случаях могут приводить к полностью аналитическим выражениям.

Связанный с данным подходом вопрос касается адекватности модели формы. В большинстве случаев ищется компромисс между сложной морфологией реальных частиц и простотой модели, направленной как на минимизацию количества свободных характеристик, так и на обеспечение возможности использования менее вычислительно затратных методов моделирования. Также во многих приложениях для выбора модели используются различные методы визуализации (микроскопические), но адекватность упрощенных моделей затем качественно обсуждается на основе сравнения смоделированных и измеренных картин рассеяния. Например, в работе [111] измеряли 2D индикатрисы (рассеяние вперед) для цепочек до 5 шаров в оптической ловушке и показали качественное согласие с результатами теории ЛМ для одиночных шаров, суммированных в дальней зоне с учетом интерференции. А в работе [123] продемонстрировали, что теория ЛМ (т.е. модель сферической формы) может быть адекватной для большинства городских аэрозольных частиц микронного размера, но не для бóльших частиц. Так же было показано, что шар с покрытием плохо аппроксимирует лимфоцит во всем диапазоне углов рассеяния, за исключением направления, близкого к направлению падения луча [165]. Эталонная форма лимфоцита была построена из конфокальных изображений, а FDTD использовался для моделирования рассеяния. Похожим путем было продемонстрировано, что многократным рассеянием оптически мягких мономеров внутри агрегата часто можно пренебречь [166].

Подход основанный на модели объекта является наиболее распространенным видом характеристики и реализуется с помощью самых разных методов. Их можно сгруппировать в три подкласса: низко-размерная инверсия, нелинейная регрессия и нейронные сети (НС).

1.3.1 Низко-размерная инверсия

Исторически, данный подход сложился первым и использовался приборами с измеряемыми сигналами дискретного типа. Однако подобные методы могут также применяться с непрерывным сигналом, если вместо полного сигнала используются только несколько производных параметров. В обоих случаях характеристика сводится к инверсии отображения

набора характеристик частицы, подмножества \mathbb{R}^{p_m} , в набор параметров сигнала (или самих сигналов), подмножество \mathbb{R}^{n_c} (при небольших p_m и n_c). Прямое отображение $\mathbb{R}^{p_m} \rightarrow \mathbb{R}^{n_c}$ почти всегда вычисляется теоретически (путем моделирования светорассеяния), что позволяет его детально изучить из-за низкой размерности.

Получение однозначного и надежного (устойчивого к шуму) решения имеет первостепенное значение, и в некоторых случаях сигналы (или параметры сигналов) явно выбираются для достижения этой цели. Так первые шаги были сделаны в работе, где изучались кривые постоянного размера или ПП в координатах экспериментальных сигналов. Более подробный анализ таких двумерных отображений ($\mathbb{R}^2 \rightarrow \mathbb{R}^2$), то есть двух дискретных сигналов в зависимости от размера и ПП, был проведен для характеристики эритроцитов [17,72]. Первоначально извлекаемые экспериментальные сигналы подбирались таким образом, что в теории Лоренца-Ми наблюдалось максимальное отличие в выбранном диапазоне физиологических значений и соблюдалась однозначность. Позже аналогичный анализ уникальности двумерного отображения для шаров был проведен Коноховой и др. [92].

Обратное отображение $\mathbb{R}^{n_c} \rightarrow \mathbb{R}^{p_m}$ обычно строится с помощью некоторой интерполяции, которая проста для малых размерностей. Однако иногда получаются явные формулы. Например, полиномиальная функция от одного сигнала использовалась для оценки размера и ПП шаров в оптической ловушке [73]. Коэффициенты полинома зависят от другого сигнала и были получены из калибровочных измерений. Другой пример похожего на интерполяцию подхода – перекрывающиеся доверительные (измеренные) диапазоны нескольких параметров сигнала в координатах размера и ПП, что позволяет получить доверительные интервалы для этих характеристик [167] (аналогично тому, что в разделе 1.3.2).

Основные преимущества низкоразмерной инверсии – это высокая скорость обработки и возможность заранее исследовать однозначность и устойчивость. Недостатками часто являются ограниченность диапазона применимости как характеристик модели (для гарантированной однозначности, например), так и самих моделей (поскольку $p_m \leq n_c$ и сложность инверсии отображения резко возрастает с ростом p_m и n_c). В результате на данный момент не известны примеры обратных отображений для $p_m > 2$.

Наглядным примером является метод SPES, измеряющий комплексную амплитуду рассеяния вперед [81]. Первоначально инверсия двумерного отображения использовалась для шаров [80] или для частиц, аппроксимируемых моделью шара (наночастицы с лекарственным веществом) [168]. Однако, затем были попытки получить некоторую информацию о форме, например, о соотношении сторон сфероида (при фиксированном ПП) [169,170], или отделять агрегаты от более простых форм [171]. В этих попытках не обсуждается однозначность решения для отдельной частицы, а используется статистический анализ полученных

характеристик для всего образца. Подобные статистические подходы недавно позволили получить комплексный ПП, форму (исходя из нескольких вариантов) и распределения по размерам для образцов твердых частиц [77]. А именно, метод предполагает, что образец состоит из нескольких классов форм, и внутри каждого класса все частицы имеют одинаковую форму и комплексный ПП. Подобные подходы находятся где-то между одночастичными методами, обсуждаемыми в данном обзоре, и статистическими (флуктуационными) методами характеристики ансамблей частиц, такими как динамическое рассеяние света [172]. Другое недавнее расширение SPES объединяет его с измерением интенсивности в два телесных углах рассеяния, но вместо характеристики частицы данные используются для непосредственной оценки фазовой функции частицы [173].

Другие исследователи, напротив, не стремятся к полноценной характеристике, а ограничиваются наблюдением одномерной корреляции между характеристикой частицы и сигналом. Например, для оценки размера частицы можно использовать его зависимость от интенсивности рассеяния [78,126,174], ширины импульса рассеяния (с использованием гауссова луча) [87] или от отношения рассеяния вперед и назад [175]. А форму частицы (соотношение сторон) можно оценить по асимметрии в двумерной индикатрисе [126,174,176]. Однако коэффициенты пропорциональности обычно зависят от других характеристик частиц (размера, формы и материала). Следовательно, для каждого случая требуется отдельная калибровка.

Широко распространённый метод отслеживания наночастиц (nanoparticle tracking analysis, NTA) [177] также был расширен для характеристики по светорассеянию [54,55]. Авторы использовали максимальную интенсивность рассеяния вперед совместно с известным гидродинамическим диаметром, определенным стандартным NTA, для получения ПП частицы. В работе [55] внимательно обсуждались ограничения метода и влияние неточности определения размера, однако без каких-либо количественных оценок.

Другое направление, заслуживающее отдельного рассмотрения, – это, так называемый, спектральный подход. Он основывается на извлечении информации из волновой природы света, что проявляется в колебательной структуре индикатрисы, напрямую связанной с явлением интерференции. Хотя рассматриваемые далее методы оперируют непрерывным сигналом, для характеристики используются только параметры, относящиеся к его несущей частоте или периоду колебаний.

Приближенный анализ был проведен на основе дифракции Фраунгофера [44,117,178] и интерференции между различными порядками рассеянного излучения [21,118–122]. Наблюдаемые частоты колебаний в индикатрисе линейно зависят от размера частицы, что имеет место в удивительно широком диапазоне характеристик частиц. В этом случае основное

внимание уделяется высокой точности определения размеров при изменении остальных характеристик частиц (ПП, форма и т.д.). Однако отсутствие строгой теории и инструментальные ограничения делают этот подход в значительной степени эмпирическим. Единственное исключение – это работа Ладлоу и Эверитта (Ludlow и Everitt) [179]. В ней интенсивность рассеяния шара преобразовывалась в спектр Гегенбауэра и граничная частота, после которой начинается экспоненциальный спад спектра, связывалась с размером (дополнительно оценивая ПП по спектру). Однако, на данный момент, это решение требует измерения индикатрисы во всем угловом диапазоне, что не было реализовано экспериментально.

Варианты прямолинейного спектрального подхода фокусируются на измерении расстояний между пиками и впадинами в индикатрисе [118,119,122,180–182] или их положений [183] и дальнейшим соотнесении с размером. Например, в работе [184] исследовалось положение экстремумов в индикатрисе в условиях приближения ВКБ, РГД, дифракции Фраунгофера и аномальной дифракции. Было показано, что минимумы монотонно движутся с изменением размера, а расстояние между минимумами не чувствительно к ПП.

Более сложные методы реализуют (спектральное) преобразование Фурье для извлечения несущей частоты (обратно пропорциональной расстоянию между экстремумами индикатрисы, рассмотренным выше). Так, например, определялись размеры крупных частиц в угловом диапазоне от 85° до 95° [185]. Похожий метод, но с использованием поправок, извлекаемых из фазового спектра, был предложен в статье [186] для увеличения точности. В работе [187] измерялись двумерные индикатрисы левитирующих частиц вблизи направления рассеяния вбок. Их одномерные участки так же обрабатывались с помощью быстрого преобразования Фурье (БПФ) с использованием окна Ханна. Похожий подход применялся и в работе [188], где измерялись двумерные индикатрисы сферических частиц и тестировались два метода инверсии: построение одномерного сечения и вычисление среднего расстояния между пиками и впадинами; либо применение двумерного преобразования Фурье и определение радиуса внешнего кольца в спектре. В подходе дифракционных картин [99] двумерная индикатриса обрабатывалась с помощью оконного (кратковременного) преобразования Фурье. Полученная несущая частота также имела линейную корреляцию с размером. Кроме того, идентификация бисфер (агрегатов двух шаров) была проведена с использованием того же алгоритма [108]. Более того, в работе [124] исследовалась автокорреляционная функция 2D индикатрисы и была получена обратная линейная зависимость размера частиц от положения пиков. Значения положения пиков эквивалентны расстояниям между экстремумами в исходной индикатрисе, поскольку спектры Фурье индикатрисы и её автокорреляционная функция тесно связаны.

В работе [117] была проанализирована 2D индикатриса, с использованием аналогии к дифракции Фраунгофера, и предложена оценка размера частиц по размеру получаемых спеклов (случайных интерференционных картин). Однако этому подходу мешает наличие границ изображения и ограничителя луча, который вводит дополнительные характерные частоты. Следовательно, предлагаемый метод чувствителен к различным искажениям и требует тонкой настройки, хотя последняя поддерживается эмпирическим критерием качества анализа. Однако позже было проведено обширное моделирование крупнозернистых аэрозолей (смоделированных как агрегаты шаров) и продемонстрирована линейная зависимость между обратной шириной спекла и размером агрегата [44].

Другой пример использования дифракции Фраунгофера и преобразования Фурье был продемонстрирован в работе [178], где эти подходы объединили с измерениями при нескольких направлениях падения луча для классификации формы и повышения точности определения размера.

Семьянов и др. [189] применили оконное преобразование Фурье к одномерным индикатрисам, измеренным с помощью сканирующего проточного цитометра, для выделения несущей частоты, что привело к надежному определению размеров шаров в широком диапазоне ПП и дало удовлетворительные оценки размера различных несферических частиц [190–194]. В данной диссертации описано развитие данного подхода, а именно в Главе 2 представлено аналитическое обоснование работоспособности методов определения размера и построен базис для дальнейшего развития. В Главе 3 описывается получение двумерного отображения из двух параметров спектра в характеристики шара, что позволило быстро и надежно определять размер и ПП шаров в ограниченном диапазоне по ПП. Позже, на основании полученных результатов, был предложен еще один спектральный параметр, который во многом стандартизирует нахождение положение границы спектра. Он расширил область применимости определения размера до частиц диаметром порядка нескольких длин волн [89]. Также в Главе 4 рассмотрен комплексный спектр для получения оценки несферичности частиц, близких к сферическим. После публикации результатов этой главы, похожий подход был реализован для решения задачи классификации сферизованных эритроцитов на сферические и значительно несферические [195].

В заключение этого раздела следует отметить, что низко-размерная инверсия с использованием дискретных сигналов в настоящее время является наиболее широко используемым методом в коммерческих приборах для характеристики одиночных частиц. Обладая такими преимуществами, как скорость и устойчивость к шуму, они сильно ограничены в моделях и областях применимости, что во многом затрудняет их дальнейшее развитие. Спектральные методы, сохраняя все эти преимущества, имеют потенциал для

дальнейшего развития из-за большей информативности лежащих в их основе сигналов. Таким образом, можно разработать широкое множество спектральных параметров (для одной и той же экспериментальной установки) или можно использовать результат спектрального метода в качестве первого шага более сложной инверсии.

1.3.2 Нелинейная регрессия

С появлением возможности измерения рассеяния с угловым разрешением для одиночных частиц, которое, естественно, более чувствительно к их характеристикам, начали постепенно распространяться методы определения характеристик, основанные на нелинейной регрессии или подгонке теории к эксперименту (далее слово «нелинейная» может опускаться, но подразумеваться, если явно не указано обратное). Их основа – это вариация характеристик до получения удовлетворительного согласия между экспериментальным сигналом и моделированием. Для количественной оценки этого согласия используется функция потерь (невязка) и, математически говоря, ищется ее глобальный минимум. С одной стороны, этот подход использует всю информацию, содержащуюся в непрерывном сигнале, и позволяет оценивать неопределенности (погрешности) полученных характеристик частиц. С другой стороны, это требует значительных вычислительных ресурсов для каждой обрабатываемой частицы и редко заранее гарантирует однозначность и устойчивость, в отличие от низкоразмерной инверсии.

Уже в 1998 году было показано, что даже для однородных шаров регрессия нетривиальна из-за сложной зависимости осциллирующей индикатрисы как от размера, так и от ПП [196]. Хотя на практике для шаров были получены удовлетворительные результаты, более сложные модели рискуют не иметь единственного решения даже теоретически, т.е. два разных набора характеристик частиц могут иметь один и тот же сигнал. Хотя последняя возможность пренебрежимо мала для достаточно объемных сигналов ($n_c \gg p_m$), с ней связано повсеместная множественность решений для зашумленных экспериментальных сигналов. А именно, даже для шаров существует несколько локальных минимумов с близкими значениями функции ошибки, что затрудняет эффективное нахождение глобальных минимумов и увеличивает погрешность характеристики [40,197]. Для определенных уровней шума это может даже привести к полностью ошибочному решению [198].

Отчасти это вызвано повсеместным использованием среднеквадратичной функции ошибки (l^2 -норма), которая удобна для статистических расчетов (включая оценку погрешностей), но не обязательно хорошо соответствует экспериментальным или модельным ошибкам (ошибкам соответствия модели) или субъективной мере визуального согласия между двумя осциллирующими функциями. Для решения последней проблемы, например, в работе [199] в функцию ошибки был введен дополнительный штрафной член, основанный на разнице

местоположений пиков интенсивности, чтобы исключить нежелательные локальные минимумы. Аналогичная идея использовалась в [200], где штрафной член содержал разность основных (несущих) частот спектра Фурье, отвечающих за воспроизведение расстояния между экстремумами осцилляций в экспериментальном сигнале.

Другая проблема нелинейной регрессии – это высокие вычислительные затраты на глобальную оптимизацию, которые экспоненциально растут с увеличением p_m . В целом, существует две основные стратегии в данном вопросе: решение прямой задачи в реальном времени, то есть во время численной оптимизации, или с использованием предварительно рассчитанного набора синтетических данных, который в дальнейшем используется для интерполяции. Моделирование рассеяния света в реальном времени определено более удобно для глобальной оптимизации, в которой можно использовать любой алгоритм, что приведет к более надежному и точному решению. Однако почти всегда это возможно только при использовании теории Лоренца-Ми или некоторых приближений. Любой строгий метод моделирования светорассеяния несферическими частицами на порядки медленнее, что сильно ограничивает его применение. Известные примеры включают определение характеристик бисфер из 1D индикатрис [91] и несколько приложений голографии, обсуждаемых ниже. Все другие методы регрессии для характеристики несферических частиц (в большом количестве) используют предварительно насчитанные базы данных.

Следующей проблемой является выбор начального приближения, которое может ускорить глобальную оптимизацию и имеет решающее значение для алгоритмов локальной оптимизации. Обычно это решается на основе априорной информации, но иногда с использованием другого (приближенного) метода характеристики, например, спектрального определения размера [201], аппроксимации более простой моделью (шаром) [48], интерполяции по ближайшему соседу в небольшой базе данных [202], или на основе обработки изображений [136]. Далее рассмотрим подробнее конкретные примеры реализации нелинейной регрессии.

В работе [203] использовался метод роя частиц в качестве метода глобальной оптимизации, для характеристики эритроцитов ($p_m = 4$) во всем диапазоне углов рассеяния с использованием синтетически измеряемых одномерных индикатрис. Характеристики эритроцитов восстанавливаются с погрешностью в пределах 1–4%. В работе [204] приводится общее обсуждение регрессионного подхода, особенно байесовских методов в оценке вероятных (доверительных) интервалов для полученных характеристик частиц. Однако, проблема оценки экспериментального шума (или выбора модели для него) решается только с помощью вспомогательных экспериментов, что является строгим, но не всегда доступным. В то время как, возможность оценки уровня шума по неточности конкретного измерения не

обсуждается. В работе [205] описано восстановление двух характеристик тонкого цилиндра путем регрессии одномерной индикатрисы к моделированию на основе дифракции Френеля–Кирхгофа.

Цифровая голография позволяет получать большое количество экспериментальной информации рассеяния, заданной Ур. (8), но в то же время это приводит к большему p_m , поскольку помимо собственных характеристик частицы необходимо также восстанавливать ее ориентацию, положение в пространстве и нормировочный коэффициент для интенсивности рассеяния. Простейший случай однородного шара уже приводит к $p_m = 6$ [47], что делает даже регрессию с использованием теории Лоренца-Ми недостаточно быстрой, оправдывая ее ускорение с использованием графических процессоров (GPU) [136]. Тем не менее, надежность и скорость этого подхода во многом зависят от правильного начального приближения. Авторы использовали круговое преобразование Хафа [206] (алгоритм нахождения окружностей), чтобы получить положение в плоскости, и регрессию методом Монте-Карло с низким разрешением для определения размера, ПП и ориентации. Важно отметить, что этот метод учитывает, что некоторые характеристики имеют относительно простое (плавное) влияние на экспериментальный сигнал. Типичный результат характеристики составляет 1.46 ± 0.02 мкм и 1.55 ± 0.03 для размера и ПП шара, соответственно. Однако не ясно, соответствуют ли погрешности одному или двум стандартным отклонениям (SD). Это общий недостаток многих работ, в которых не уделяется достаточного внимания оценке погрешностей, а показаны только некоторые стандартные значения, полученные с помощью регрессии. К сожалению, оценка погрешностей из-за экспериментального шума гораздо менее тривиальна, чем расчет реальных ошибок при использовании синтетических данных. Поэтому, хотя в этой главе цитируются несколько результатов по экспериментальному описанию шаров, сравнение погрешностей между различными методами следует проводить с осторожностью. Более того, здесь не обсуждаются возможные систематические ошибки.

В работе [207] было показано, что данный подход к характеристике относительно устойчив в отношении дефектов формы. Дополнительно приводится тщательный анализ ошибок разного рода в различных сценариях: однократное измерение, повторные измерения в оптической ловушке и когда частица свободно диффундирует в измерительном объеме. Точно так же была получена размерность фрактальных агрегатов, используя эффективный размер и ПП, полученные из характеристики по теории Лоренца-Ми [144].

Дальнейшее усовершенствование нелинейной регрессии в голографии было выполнено в работе [139] с использованием байесовского подхода. Для глобальной оптимизации в случае шаров с $p_m = 6$ авторы использовали алгоритм Марковских цепей Монте-Карло (MCMC) и обработали изображения для нескольких положений частицы с учетом постоянства размера и

ПП. Таким образом, апостериорная вероятность для одного положения используется как априорная для следующего, что привело к очень небольшим конечным погрешностям. Например, размер и ПП гранулы диоксида кремния при освещении длинной волны 660 нм были определены как 961.6 ± 0.2 нм и 1.4898 ± 0.0002 (1 стандартное отклонение), соответственно. Позже, чтобы ускорить решение прямой задачи, небольшой случайный набор пикселей голограммы использовался в регрессии, как описано в [138].

Данный подход был так же распространен на несферические частицы в работах [48,140], где $p_m = 9$ и 10 для сфероцилиндров (капсул) и шаров с асимметричным покрытием соответственно. Так как, DDA использовалось для моделирования, что дополнительно увеличивало вычислительные затраты, алгоритм сначала быстро оценивал характеристики (положение на основе теории ЛМ, ориентация с использованием предварительно вычисленной базы данных вращения, геометрия с помощью сканирующей электронной микроскопии и ПП на основе общеизвестных значений) перед выполнением основной регрессии по алгоритму Левенберга-Марквардта (локальная оптимизация). В последнем случае характеристики частицы предполагаются одинаковыми для всех кадров вдоль траектории частицы.

Вероятно, наибольшее значение p было получено при характеристике агрегатов шаров [141] с $p_m = 10$ для жестких кластеров из шести шаров и $p_m = 21$ для шести маленьких шаров поверх одного более крупного. Авторы использовали, соответственно, MSTM и суперпозицию независимых ЛМ решений для моделирования, предполагая одинаковые характеристики шаров внутри агрегата. Количество шаров в конкретном агрегате определялось до непосредственной регрессии с использованием восстановления Рэля–Зоммерфельда [208]. Оставшиеся невязки регрессии были больше ожидаемого уровня шума, что указывает на возможность дальнейшего улучшения с использованием более сложных моделей (с еще бóльшим p_m).

Также возможности голографии были протестированы и в условиях мутной среды [209]. Как правило, мутность снижает отношение сигнал/шум и вносит определенные отклонения, но все же можно достичь сопоставимой точности.

В условиях использования СПЦ удалось формализовать полное описание байесовского подхода к решению параметрической ОЗС для двуслойных шаров ($p_m = 4$) [41]. Алгоритм DiRect [210] использовался для глобальной минимизации взвешенной суммы квадратов невязок. В качестве побочного продукта получается оценка данной функции ошибки на всем диапазоне характеристик частицы, она далее преобразуется в апостериорную плотность вероятности. В свою очередь последняя описывает как погрешности, так и доверительные интервалы извлекаемых характеристик. Авторы учли, что как инструментальные искажения (из-за сложного измерения индикатрисы), так и ошибки модели (всегда присутствующие для

биологических клеток) далеки от стандартного предположения о белом шуме. В частности, существует значительная корреляция между невязками для близких углов рассеяния. Для решения этой проблемы предполагалось, что функция ошибок принадлежит распределению χ^2 (как для белого шума), но с меньшим числом степеней свободы ($n_c^{\text{эфф}}$ вместо n_c). Хотя этот подход и является эмпирическим, он имеет некоторое теоретическое обоснование [211,212] и может применяться практически в любом случае, когда полное описание инструментальных и / или модельных ошибок невозможно.

Тот же метод характеристики был использован для микрочастиц крови (внеклеточных везикул) [11], также объединяющий стандартное измерение 1D индикатрисы с сигналами рассеяния вбок и вперед [92,213,214]. Полученные погрешности характеристик значительно различаются по образцу. Погрешности размера (1 стандартное отклонение) составляли 8, 19 и 5 нм для полистирольных шариков 0.4 и 1 мкм в диаметре и почти сферических микрочастиц крови размером более 0.4 мкм соответственно [213]. Соответствующие медианные погрешности ПП составили 0.002, 0.005 и 0.003 соответственно. Для почти сферических шариков молочного жира (в основном от 0.5 до 4 мкм) средняя погрешность (1 стандартное отклонение) размера и ПП составляла 74 нм и 0.009 соответственно [200], а минимальная погрешность составляла 10 нм и 0.0015 соответственно [215].

Хотя погрешности и доверительные интервалы характеристик полезны для характеристики отдельной частицы (как в некоторых примерах голографии выше), они могут вызвать информационную перегрузку для проточных систем, где в каждом образце анализируются тысячи частиц. Таким образом, в большинстве случаев полученные погрешности далее игнорируются, за исключением средних или медианных значений для количественной оценки общей точности характеристики или для отбрасывания части образца (см. ниже). В этом случае в качестве окончательных результатов показаны только распределения всей выборки по характеристикам с использованием либо наиболее подходящих значений, либо математических ожиданий для каждой частицы. Двумя заметными исключениями являются следующие работы, где объединили индивидуальные погрешности, чтобы лучше оценить распределение выборки по характеристикам, однако предположили, что эти распределения являются многомерными нормальными [41], и где это предположение ослабили за счет игнорирования корреляции между различными характеристиками [11]. Авторы использовали алгоритм 1D деконволюции для оценки распределения выборки по каждой характеристике из набора измерений с различными погрешностями, предполагая только то, что это распределение достаточно гладкое.

Для анализа несферических частиц с помощью СПЦ использование предварительно вычисленных баз данных является единственным возможным вариантом (за исключением

случая вложенных шаров [91]), так как методы DDA или T-матрицы используются для моделирования светорассеяния. Первые попытки с небольшими базами данных были сделаны для эритроцитов [216] и тромбоцитов [217]. Москаленский и др. [42] представили полное описание дискретного (основанного на наборе данных) байесовского подхода к решению параметрической ОЗС. В нем используется интерполяция методом ближайшего соседа с оценками погрешностей, аналогичная вышеупомянутому методу на основе алгоритма DiRect (включая использование $n_c^{\text{эфф}}$). Единственное отличие состоит в том, что вычисление функции ошибки во время выполнения DiRect (на более плотных значениях характеристик, помещенных рядом с решением) заменяются значениями функции ошибки на наборе (базе) данных, равномерно распределенных в пространстве характеристик. Соответствующие ошибки могут быть проанализированы с помощью формул на основе Монте-Карло и пренебрежимо малы для достаточно больших баз данных (и умеренного p_m). Более того, о достаточности размера базы данных можно судить по зависимости минимального значения функции ошибки, усредненной по базе.

Первоначально метод на основе баз данных применялся к тромбоцитам крови (модель сплюснутого сфероида) [42,218], бактериям *E. coli* (модель капсулы) [60] и агрегатам микрочастиц (модель бисферы) [213] с $p_m = 4$, а также к эритроцитам (модель двояковогнутого диска) с $p_m = 5$ [90,219]. В случае бактерий доверительная область полученных характеристик использовалась для контроля качества [60]. Для части клеток эта область состояла из двух удаленных друг от друга доменов в координатах длины в зависимости от диаметра или угла ориентации, и, как следствие, ширина такой области сравнивалась с пороговым значением для исключения части клеток из рассмотрения. Аналогичная проблема была изучена для сплюснутых сфероидов [42], где низкая чувствительность одномерной индикатрисы к одновременному изменению размера, соотношения сторон и ПП была объяснена в рамках приближения аномальной дифракции.

Разработанные алгоритмы также использовались для оценки адекватности моделей формы. Самый простой качественный подход – это тестирование альтернативной модели и сравнение соответствующих изменений в индикатрисе с типичными невязками регрессии [60,216,217]. Другой вариант – провести регрессию с альтернативной моделью и проверить, насколько правдоподобны полученные доверительные интервалы характеристик по отношению к истинным значениям [41]. Такой подход также проверяет надежность оценки погрешностей по отношению к ошибкам модели. Аналогичным образом полученные погрешности (или другие характеристики качества соответствия) использовались для исключения части обработанных частиц как принадлежащих к альтернативной (более сложной) модели [11,60,214]. Наконец, наиболее строгий подход заключается в том, чтобы

применять регрессию с разными моделями и выбирать наиболее подходящую для конкретной частицы. Примеры включают использование критерия Фишера и байесовского информационного критерия для вложенных (сферы и сфероиды [200]) и невложенных моделей (сферы и бисферы [92,213]) соответственно.

Вычислительные затраты являются важным ограничительным фактором в данном подходе. На данный момент существует два варианта ускорения вычислений – это использование вычислительного кластера и/или графических процессоров. Последний подробно обсуждался Якубчиком (Jakubczyk) и др. [62] для регрессии измеренных двумерных индикатрис по теории ЛМ, используя платформу CUDA. Позже Деркачёв (Derkachov) и др. [220] улучшили систему с помощью подпрограмм формирования изображения (трассировки лучей), то есть связав рассеяние ЛМ, разрешенное по углу, с фактическим изображением на ПЗС матрице. Характеризация на основе баз данных выполняется относительно быстро (порядка 1 секунды на частицу, не считая построения самой базы данных), но даже этого может быть недостаточно для приложений с высокой пропускной способностью. Мулюков и Юркин [221] предложили ускорение на основе предварительной кластеризации базы данных, что привело к ускорению более чем в 10 раз.

Подводя итоги можно утверждать, что подход нелинейной регрессии в настоящее время является наиболее продвинутым, приводящим к наиболее надежным результатам, включая погрешности восстановления для отдельной частицы. Он совместим с высокопроизводительными системами и может быть легко применен к любой параметрической модели формы с несколькими характеристиками. Сферические частицы микронного размера в лучших системах анализа обычно можно охарактеризовать с погрешностью около 10 нм, а в некоторых случаях даже до 1 нм. Погрешность определения ПП составляет от 0,01 до менее 0,001. Для несферических частиц погрешности обычно больше, но во многих случаях они все же намного меньше дифракционного предела стандартной микроскопии. Однако этот подход имеет очень высокие вычислительные затраты, связанные с глобальной оптимизацией, которые становятся неподъемными с увеличением числа характеристик модели. Более того, это требует отдельного рассмотрения адекватности модели для конкретного приложения. Перспективные направления дальнейших исследований включают оптимизацию вычислительных алгоритмов для моделей более сложной формы, лучшее понимание экспериментальных искажений для более надежной оценки погрешностей и рассмотрение результатов характеризации различных частиц в образце или нескольких измерений одной и той же частицы.

1.3.3 Подход нейронных сетей

Во многом данный подход напоминает низко-размерную инверсию (см. раздел 1.3.1), только здесь параметры сигнала не проектируются вручную, а автоматически формируются внутри «черного ящика». Преимуществом этого подхода является высокая скорость обработки и возможность прямого применения к любой измерительной системе. Однако это имеет место за счет необходимости в тонкой настройке и плохой предсказуемости устойчивости и точности конечного результата.

Первая попытка характеристики шаров с помощью НС была сделана Улановским (Ulanowski) и др. [222] в 1998 году. Они обучили сеть радиально-базисных функций (РБФ) с одним скрытым слоем, предполагая измерение одномерной индикатрисы во всем диапазоне углов без присутствия шума. Максимальная и средняя относительные ошибки составили порядка 10^{-3} и 10^{-5} соответственно. Также было показано, что две трети всей индикатрисы могут быть удалены без значительной потери точности. Позже Ван (Wang) и др. [223] использовали последовательность из двух нейронных сетей РБФ, которые действуют в глобальном и локальном масштабах в пространстве характеристик. Позже рассмотрение шаров с поглощением показало многообещающие результаты в присутствии синтетического шума [224]. Однако снова предполагалось измерение индикатрисы во всем диапазоне углов, что невозможно на практике.

Последнее ограничение удалось снять, построив НС высокого порядка для характеристики шара со слабым поглощением по индикатрисе в диапазоне от 10 до 60°. Вектор входного сигнала состоял из коэффициентов полиномиальной аппроксимации и параметров спектра Фурье индикатрисы, что можно рассматривать как пример тонкой ручной настройки. Более того, один полносвязный слой использовался в сочетании с разветвителем сигнала, который делит компоненты входного сигнала на несколько групп, каждая из которых передается отдельному нейрону. На основе тестирования с синтетическим шумом стандартные ошибки составили 0.08, 0.012 и 0.18, 0.017, 0.003 для размера, действительной и мнимой частей ПП в непоглощающем и поглощающем случаях соответственно. Эта НС была впервые протестирована на реальных экспериментальных данных полученных на СПЦ, показав аналогичный разброс результатов. Однако определение ПП было значительно менее точным, чем при использовании нелинейной регрессии. Позже архитектура сети была изменена на три полносвязных слоя, а диапазон характеристик был увеличен, что привело к аналогичным ошибкам характеристики [225]. Более подробная информация представлена в книге [226].

Недавно тот же подход был применен к частицам в воздухе (аэрозолям) [227] с использованием трехслойного персептрона с функцией активации гиперболического тангенса.

Чтобы получить надежную производительность, рассматривалось полихроматическое освещение (белый свет), а индикатриса интегрировалась по нескольким углам сбора (интервалам). Хотя результаты были достаточно нечувствительны к синтетическому шуму, реальные экспериментальные данные не рассматривались.

Что касается несферических частиц, Бердник и др. [228,229] применили НС для характеристики оптически мягких сфероидов, используя приближение РГД для моделирования 2D индикатрисы. В работах использовалась линейная функция активации и трёхуровневая НС на основе РБФ, в которой каждый уровень был обучен на определенном поддиапазоне размера частицы относительно предыдущего уровня. Рассматривался только синтетический экспериментальный шум. Апостолопулос (Apostolopoulos) и др. [113] провели обширное теоретическое исследование с целью разработки метода идентификации и характеристики эритроцитов на основе изображений многоспектрального рассеяния (белым светом). ОЗР решалась с помощью РБФ НС, которая принимает на вход параметры, извлеченные из изображений с помощью радиально-углового преобразования, преобразования Цернике и фильтров Габора. Был рассмотрен только синтетический экспериментальный шум, но он также включал возможные искажения, вызванные несовершенной юстировкой оптической системы.

С одной стороны, в реальных экспериментах НС пока не показали впечатляющих результатов. С другой стороны, исходя из архитектуры использованных сетей и последних достижений в этой области, кажется, что потенциал данного подхода используется далеко не полностью. Исследователи в основном реализовали простые многослойные сети и не использовали сверточные слои. Более того, акцент был смещен на ручное проектирование предварительной обработки сигналов, что противоречит столь желанному подходу «черного ящика» (автоматического обучения). Однако, в последнее время более сложные архитектуры НС стали применяться для задач классификации (см. раздел 1.3.5), что позволяет предположить их скорое использование и в задачах характеристики.

1.3.4 Восстановление

В отличие от предыдущих методов решения ОЗС, в данном подходе не требуется знание модели частицы, так как восстанавливается все распределение ПП в пространстве – функция $m(\mathbf{r})$. Это также известно, как *коэффициентная обратная задача*, если дифференциальные уравнения Максвелла рассматривать как прямую модель [230]. Необходимая априорная информация отражается в основном в используемом приближении или в знании значения ПП (тогда восстанавливается только граница). Главный недостаток данного подхода – огромный объем необходимых экспериментальных данных, что сильно ограничивает реализации с высокой пропускной способностью.

В целом подобные методы распространены в условиях цифровой голографии, основаны на скалярно-дифракционном приближении и заслуживают отдельного рассмотрения [36]. Как отмечалось в разделе 1.1, в данном случае приблизительно извлекается $t(x, y)$ (изображение) вместо строгого соответствия формуле (8). Например, приближение Френеля-Кирхгофа [36] использовалось для голографического восстановления крупных аэрозольных частиц [146,147,231]. Если размер частицы изменяется во времени, голограмма с двойной экспозицией также может использоваться для восстановления изображения, где оба размера хорошо видны [232].

Совсем недавно Карпио (Carpio) и др. [233,234] разработали другой алгоритм восстановления цифровых голограмм, основанный на топологических производных электромагнитного поля. Во-первых, они использовали скалярную модель решения прямой задачи и предположили, что ПП близок к 1. Построенный двухэтапный алгоритм определяет носитель рассеивателя (область, где ПП отличается от 1), а затем подгоняет само значение ПП, используя сферическое приближение для частицы или ее компонентов [233]. После они улучшили алгоритм восстановления трехмерной формы, используя топологические производные и производные Фреше функции потерь (невязки) на основе измеренных голограмм [234]. Данный алгоритм может определять, как количество компонентов, так и форму каждого из них, предполагая, что ПП является постоянным и известным. Кроме того, он описывает, как любой метод светорассеяния может быть адаптирован для вычисления соответствующих производных с использованием специально сформированного падающего поля. Таким образом, регрессия потенциально может использоваться и с другими системами измерения.

Как правило, конкретные количественные возможности (точность) восстановления голограмм до конца не ясны. Как сложные численные подходы [233,234], так и простые преобразования типа Фурье приводят к визуально сопоставимым результатам. Например, с помощью преобразования Кирхгофа-Гельмгольца была получена форма захваченной аэрозольной частицы размером 1 мкм [235]. Тем не менее, такой метод может упростить решение ОЗС, предоставляя начальное приближение для методов регрессии.

Другой подход основан на стандартном измерении рассеяния, но для множества направлений падения, аналогично тому, что используется в томографии. Однако принципиальное отличие последней (применительно к одиночным частицам) состоит в том, что она основывается на некотором приближении, которое предполагает рассеянные электрические поля линейными по функции $m(\mathbf{r})$, аналогично цифровой голографии выше. Например, рентгеновская томография учитывает только ослабление и сдвиг фазы поля, тогда как дифракционная томография дополнительно предполагает слабое рассеяние (с

использованием приближения РГД или Рытова) [35]. Обычно измеряется только интенсивность, но с помощью приведенных выше приближений можно восстановить и фазу [236,237]. С другой стороны, Шоме (Chaumet) и др. [238–240] не использовали никаких приближений, решая прямую задачу с помощью DDA. Частица дискретизировалась на воксели, которые обрабатывались как переменные, а восстановление выполнялось с помощью инверсии численной схемы DDA. В некотором смысле это похоже на методы, основанные на моделях (см. раздел 1.3.2), но с несколькими тысячами характеристик. Однако данный метод был протестирован только на синтетических данных, включающих фазу рассеянного поля.

Наконец, стоит кратко упомянуть методы определения характеристик, разработанные для приборов микроволнового рассеяния [65]. В то время как электромагнитная масштабная инвариантность [29] подразумевает эквивалентность соответствующей задаче рассеяния света, основным (техническим) преимуществом микроволн является возможность прямого измерения фазы поля и независимый контроль морфологии частиц (от мм до см по размеру). С одной стороны, это позволило применить описанные выше методы восстановления на основе вокселей [66,241]. С другой стороны, также применялись различные передовые методы, такие как метод линейных проб (linear sampling method) [242,243], метод инверсии контрастного (наведенного) источника (contrast source inversion method) [244,245], и метод факторизации [246,247]. Однако до сих пор неясно, могут ли эти методы применяться на оптических частотах, хотя измерение фазы поля на основе интерференции принципиально возможно [248,249].

Хотя методы восстановления, являясь довольно многообещающими, несомненно выигрывают от дальнейшего инструментального развития, их конкретная применимость для точной характеристики (а не построения изображений) остается под вопросом. Большинство описанных алгоритмов, основанных на строгой теории светорассеяния, пока являются лишь обоснованием этой возможности.

1.3.5 Подход на основе данных

В отличие от модельного подхода, здесь априорной информацией выступают сами собранные экспериментальные данные, модель объекта как такового вообще не рассматривается, а задача характеристики сводится к идентификации или классификации. Представленные в данном разделе методы сложно описывать обобщенно, поскольку результаты в большей степени демонстрируют возможность классификации для конкретной практической реализации. Основное внимание здесь уделяется построению набора признаков (параметров сигнала), которые в основном определяют успех применения алгоритмов машинного обучения (аналогично заключению раздела 1.3.3).

В 1992 г. Беван (Bevan) и др. [250] сделали классификатор частиц на основе НС (многослойного персептрона) с использованием трех сигналов рассеяния вбок и одного сигнала рассеяния вперед (как в [74]). Позже Бодди (Boddy) и др. [251] использовали однослойную НС на основе РБФ для идентификации фитопланктона по 7 сигналам, но только 2 из них были измерениями светорассеяния. Однако Моррис (Morris) и др. [252] показали, что метод опорных векторов (support vector machine, SVM) дает лучшие результаты. Раджва (Rajwa) и др. [59] использовал алгоритм SVM, чтобы различать 4 типа клеток с использованием 4 сигналов, которые были выбраны на основе моделирования DDA с использованием моделей формы клеток.

Классификация 6 типов различных клеток была выполнена с использованием дифракционных картин и алгоритма на основе SVM по признакам, полученным из алгоритма анализа изображений, называемого методом матриц яркостной зависимости (gray level co-occurrence matrix, GLCM) [45]. Точность классификации на две широкие группы (клетки, полученные из лейкоцитов и клетки, полученные из эпителия), каждая из которых включает еще три типа клеток, составила 94%, однако она также может составлять всего 54% при классификации на 6 типов. Эта система была дополнительно улучшена для получения двух кросс-поляризованных дифракционных изображений [95,103,104]. Авторы разделили изображения на три класса по их спекл-изображениям, которые связаны с порядком размера и морфологической неоднородностью. С помощью этой системы можно было надежно различать очень похожие по морфологии клетки Jurkat T и Ramos B с точностью 98% [105,107]. Классификация по шарам, цилиндрам и эллипсоидам с разными ПП проведена с использованием машинного обучения без учителя на основе смешанной модели Гаусса и признаков, полученных из GLCM [46]. Авторы установили, что GLCM параметров в сочетании с проинтегрированной интенсивностью рассеяния вперед достаточно для достижения 98% точности классификации. Позже Жан (Zhang) и др. сравнили контурное преобразование с GLCM – последний метод показал лучшие результаты [253]. Недавно Се (Xie) и др. [106] использовали дифференциальную яркостную статистику и SVM с перекрестной проверкой исключения по одному для идентификации клеток с острым или хроническим миелоидным лейкозом, достигнув чувствительности 92% и специфичности 95%.

Кроста (Crosta) и др. [125] создали метод автоматической классификации нескольких видов частиц в воздухе, включая бактерии, на основе измеренных 2D индикатрис. Картина рассеяния сначала преобразовывалась в ряд признаков, в том числе выделенных с помощью преобразования Фурье. Множество различных версий классификатора, основанного на методе главных компонент (principal component analysis, PCA) с использованием обучения с учителем на реальных данных, были протестированы с удовлетворительными результатами.

Позже Холлер (Holler) и др. [109] использовали индикатрисы, измеренные на двух длинах волн, для классификации биологических аэрозолей. В качестве характеристик для анализа дискриминантных функций и PCA использовались средняя интенсивность, результаты Watershed обработки, энтропия изображения и модифицированная автокорреляция.

Измерения SALS использовались Грант-Джейкобом (Grant-Jacob) и др. [254] для определения количества рассеивающих частиц и их состава с помощью НС, обученной на данных, полученных из того же образца исследованного под микроскопом. Сеть состояла из двух свёрточных слоев с одним полно-связанным слоем. Позже Су (Su) и др. [255] классифицировали раковые клетки с использованием SVM и признаков, полученных из гистограмм направленных градиентов, примененных к 2D индикатрисам. Совсем недавно Дин (Ding) [256] продемонстрировал потенциал сверточных нейронных сетей для классификации формы частиц с помощью 2D индикатрис с точностью более 97%.

В заключение можно сказать, что область классификации и идентификации по светорассеянию с использованием инструментов как дискретно, так и непрерывно измеряемого сигнала является относительно зрелой. В последнее время точность классификации значительно превышает 90% с использованием различных подходов в извлечении признаков. Однако это в основном препятствует автоматическому применению данных подходов, поскольку грамотный выбор характеристик в значительной степени является ручной и эмпирической процедурой. Судя по тенденциям и огромному успеху глубокого обучения во множестве других областей, еще одним многообещающим направлением исследований в области классификации по светорассеянию является использование НС с хорошо продуманной архитектурой, которая будет принимать исходный сигнал в качестве входных данных без предварительного вычисления каких-либо признаков.

1.4 Заключение главы

В данной главе были рассмотрены различные методы упругого рассеяния света для характеристики одиночных частиц. В инструментальной части было выделено два основных аспекта – получение одиночных частиц и их измерение, рассматривая как историческое развитие, так и текущее состояние. Хотя большинство коммерческих реализаций для характеристики по-прежнему опираются на подход с измерением нескольких дискретных сигналов, измерения с угловым разрешением (1D и 2D индикатрисы) быстро набирают обороты, уже продемонстрировав беспрецедентные возможности в различных приложениях. Эти возможности обеспечиваются методами характеристики (обработки данных), которые подробно обсуждаются в основной части литературного обзора.

Все существующие методы характеристики были классифицированы в зависимости от используемой априорной информации. Большинство разработок относится к классу методов, основанных на модели частицы и решении параметрических ОЗС с помощью подхода нелинейной регрессии. На данный момент наилучшие результаты были продемонстрированы сканирующей проточной цитометрией и цифровой голографией, которые обеспечивают надежную характеристику как сферических, так и несферических частиц с точностью, намного превосходящей дифракционный предел. Современный подход к характеристике несферических частиц заключается в ускорении нелинейной регрессии с помощью предварительно рассчитанных баз данных. К сожалению, стоит отметить, что вопросу о погрешностях получаемых характеристик уделяется мало внимания. Это относится как к самим погрешностям, без которых полученные характеристики не могут быть использованы каким-либо количественным образом, так и к методам их оценки, особенно при наличии как модельных, так и инструментальных искажений. Связанное с этим многообещающее направление исследований – это объединение множества отдельных характеристик либо одной и той же частицы (например, в голографии), либо частиц одного типа (в высокопропускных системах).

Также были рассмотрены методы, основанные на подходе низкоразмерной инверсии. Разработанные изначально для приборов с дискретным измерением сигналов они в основном исчерпали свой потенциал, однако остались перспективны в сочетании с непрерывно измеряемыми сигналами (которые сжимаются до нескольких параметров). Ярким примером являются спектральные методы, которые широко используются для быстрого определения размеров, однако не имеют строгой теоретической основы для дальнейшего развития. Также были разработки на основе нейронных сетей (машинное обучение). Хотя существующие результаты далеки от впечатляющих, существует явный потенциал для использования современных сложных сетевых архитектур и методов обучения (глубокое обучение) как для классификации, так и для характеристики.

Особого упоминания заслуживают методы восстановления, не требующие априорного знания о модели частицы. Такие методы широко используются как в голографии, так и в томографии, когда подразумевают линеаризующие приближения. С другой стороны, они являются полуквантитативными методами визуализации, что оставляет их за рамками данного литературного обзора. В остальном же определенный прогресс был достигнут в экспериментах по микроволновому рассеянию с прямыми измерениями фазы. Однако задача о восстановлении без приближений одиночной частицы по оптическим измерениям остается в значительной степени открытой, лишь с несколькими частными результатами, демонстрирующими некоторый успех. Эта задача определенно является святым Граалем в

характеризации одиночных частиц и необходимым условием для работы с действительно неизвестными объектами.

В заключение, характеристика одиночных частиц с использованием упругого светорассеяния в настоящее время является зрелой областью с множеством реальных приложений. Некоторые существующие методы уже продемонстрировали впечатляющие результаты и имеют большой потенциал для дальнейшего развития за счет улучшения инструментальных и вычислительных возможностей. Но еще более многообещающим является сочетание различных методов и идей, таких как, например, использование спектрального метода или оценочного восстановления с целью получения начального приближения для нелинейной регрессии.

Глава 2. Теоретические основы спектрального метода

Как упоминалось ранее спектральный метод относится к классу параметрических методов, которые сжимают измеренную картину рассеяния (индикатрису) в один или несколько параметров её спектра Фурье. Разработка конкретного метода сводится к выявлению четкой взаимосвязи между этими параметрами и характеристиками модели. В преимущества таких методов включают высокую скорость вычислений, устойчивость к экспериментальным искажениям и возможность заранее исследовать область применимости с точки зрения характеристики частиц. Практически все реализации таких методов направлены на определение размера исследуемых частиц [89,178,185–189,257], хотя в Главе 3 описан пример решения полной задачи Лоренца-Ми, включающее определение ПП. Алгоритмы построения таких методов очень похожи и состоят из моделирования экспериментальных сигналов частиц с характеристиками в заданном диапазоне, применения некоторого спектрального преобразования, вычисления положения основного пика (и других параметров). Полученная эмпирическая зависимость параметров спектра от размера (и других характеристик модели, таких как ПП) используется для решения ОЗС.

На практике этот подход чаще всего используется для сферических частиц, где зависимость между размером и положением пика приблизительно линейна. Удивительно, но подобное соотношение было успешно использовано и для определения размера крупных несферических частиц [190–193]. В этом случае форму основного пика спектра можно использовать для оценки несферичности (как в Главе 4) [195,258]. Поведение положения пика можно приблизительно описать на основе дифракции Фраунгофера [44,117,178]. Однако точная теория доступна только для идеального шара и применима к спектру Гегенбауэра индикатрисы, измеренной во всем угловом диапазоне [179]. Отсутствие теории, учитывающей ограниченность углового диапазона, типичного для практических измерительных систем [108,124,259], затрудняет дальнейшее развитие спектрального подхода, например, для повышения точности.

Данная глава посвящена построению этой теории. Во-первых, будет продемонстрирован углубленный анализ в рамках приближений Рэля-Ганса-Дебая (РГД) и Вентцеля-Крамерса-Бриллюэна (ВКБ), объясняя известные эмпирические зависимости. Во-вторых, некоторые выводы будут обобщены с учетом строгого рассеяния произвольных частиц, с использованием объемно-интегрального уравнения.

2.1 Спектр в приближении Рэлея-Ганса-Дебая.

В данном разделе рассматривается немагнитная однородная частица, освещаемая плоской электромагнитной волной в прозрачной окружающей среде. Предполагая и опуская зависимость от времени $\exp(-i\omega t)$, падающее электрическое поле задается как $\mathbf{E}_0 \exp(i\mathbf{k} \cdot \mathbf{r})$. Для простоты примем амплитуду волнового вектора в окружающей среде равной $k = 1$, что эквивалентно рассмотрению всех переменных длины и координат, умноженных на k [260]. В частности, диаметр шара d в этом случае вдвое превышает обычно используемый дифракционный параметр x . Важно отметить, что d также применяется к частицам произвольной формы в смысле наибольшего расстояния между двумя точками внутри частицы. Также в данной главе предполагается, что d достаточно большой, например $d \geq 20$, поскольку в противном случае индикатриса не содержит достаточной информации для надежного определения несущей частоты. Без потери общности направим \mathbf{k} вдоль оси z , т.е. $\mathbf{k} = \mathbf{e}_z$. Тогда углы рассеяния θ и ϕ (между \mathbf{k} и направлением рассеяния $\hat{\mathbf{r}} \stackrel{\text{def}}{=} \mathbf{r}/r$) являются стандартными полярными углами, соответствующими точке \mathbf{r} в дальней зоне. Для описания измерений рассеяния используется амплитудная матрица рассеяния (элементы S_1, \dots, S_4) и матрицы Мюллера (S_{11}, \dots, S_{44}), которые определены как безразмерные величины в соответствии с обозначениями в книге [4]. Наибольший интерес вызывает (ненормированная) фазовая функция S_{11} , то есть индикатриса для неполяризованной падающей волны.

Начнем рассмотрение с приближения РГД. Данное приближение справедливо для оптически мягких частиц произвольной формы, в частности, когда относительный (комплексный) ПП m удовлетворяет соотношениям

$$|m - 1| \ll 1, \quad d|m - 1| \ll 1, \quad (12)$$

и приводит к следующим простым выражениям для амплитудной матрицы рассеяния [4]:

$$\begin{aligned} S_1(\theta, \phi) &= -i \frac{k^3}{2\pi} (m - 1) R(\mathbf{k}_s), \\ S_2(\theta, \phi) &= S_1(\theta, \phi) \cos \theta, \quad S_3 = S_4 = 0, \end{aligned} \quad (13)$$

где $R(\mathbf{k}_s)$ – так называемый форм-фактор:

$$R(\mathbf{k}_s) \stackrel{\text{def}}{=} \int_V d^3 \mathbf{r}' \exp(-i\mathbf{k}_s \cdot \mathbf{r}'). \quad (14)$$

Здесь V – объем частицы, а волновой вектор рассеяния определяется как $\mathbf{k}_s \stackrel{\text{def}}{=} \hat{\mathbf{r}} - \mathbf{e}_z$. Полезно представить форм-фактор через трехмерное преобразование Фурье (обозначенное тильдой) индикаторной функции объема частицы $U(\mathbf{r})$:

$$U(\mathbf{r}) \stackrel{\text{def}}{=} \begin{cases} 1, & \mathbf{r} \in V, \\ 0, & \mathbf{r} \notin V, \end{cases} \quad (15)$$

$$R(\mathbf{k}_s) = \tilde{U}(\mathbf{k}_s) \stackrel{\text{def}}{=} \int_{\mathbb{R}^3} d^3\mathbf{r}' U(\mathbf{r}') \exp(-i\mathbf{k}_s \cdot \mathbf{r}').$$

Для неоднородных частиц РГД приближение тоже может быть применимо, но в таком случае $(m-1)U(\mathbf{r})$ следует заменить $(m(\mathbf{r})-1)$. Однако данное обобщение будет рассмотрено в более общем случае в разделе 2.4.

Наконец, фазовая функция есть

$$S_{11}(\theta, \phi) = \frac{1}{4\pi^2} |m-1|^2 |R(\mathbf{k}_s)|^2 \frac{1 + \cos^2 \theta}{2}, \quad (16)$$

т.е. ее поведение во многом определяется $|R(\mathbf{k}_s)|^2$, что можно упростить с помощью теоремы о свертке:

$$|R(\mathbf{k}_s)|^2 = \tilde{f}(\mathbf{k}_s), \quad f(\mathbf{p}) \stackrel{\text{def}}{=} \int_{\mathbb{R}^3} d^3\mathbf{q} U^*(\mathbf{q}) U(\mathbf{q} + \mathbf{p}), \quad (17)$$

где * обозначает комплексное сопряжение (избыточное для действительного U). Основным свойством автокорреляционной функции $f(\mathbf{p})$ является конечность ее носителя – она обязательно обращается в нуль при $|\mathbf{p}| \geq d$, вследствие чего имеет разрыв в производных некоторого порядка на этой границе.

Раскладывая $\mathbf{p} = \mathbf{p}_{\parallel} + \mathbf{p}_{\perp}$ (на составляющие параллельные и перпендикулярные \mathbf{k}_s) и интегрируя по \mathbf{p}_{\perp} (по плоскости постоянной фазы) в Ур. (17), получаем

$$|R(\mathbf{k}_s)|^2 = \tilde{F}(\xi, \theta, \phi), \quad F(p_{\parallel}, \theta, \phi) \stackrel{\text{def}}{=} \int_{\mathbb{R}^2} d^2\mathbf{p}_{\perp} f(\mathbf{p}_{\parallel} + \mathbf{p}_{\perp}), \quad (18)$$

где $F(p_{\parallel}, \theta, \phi)$ – интегральная автокорреляционная функция (ИАФ), одномерное преобразование Фурье которой вычисляется только по первой переменной. Результирующая переменная определяется как $\xi \stackrel{\text{def}}{=} k_s = 2 \sin(\theta/2)$. Важно отметить, что $F(p_{\parallel})$ имеет тот же размер носителя, что и $f(\mathbf{p})$, но его поведение вблизи его границы (включая порядки производных, испытывающих разрыв) зависит от формы частицы. Кроме того, интегрирование индикатрисы по азимутальному углу, используемое в некоторых измерительных системах [259,261], напрямую приводит к такому же интегрированию функции F , дополнительно влияя на поведение на границе носителя (для неосесимметричных частиц).

Уравнения (18) уже достаточно для общего понимания принципа работы спектрального метода определения размера, поскольку индикатриса представляет собой преобразование Фурье функции с конечным носителем. Это иллюстрирует Рис. 6, где положение основного спектрального пика примерно равно диаметру шара как в РГД приближении, так и в теории

Лоренца-Ми. Здесь и далее использовался алгоритм на основе Лоренца-Ми из [4], который был ранее реализован в программном пакете LabVIEW сотрудниками лаборатории Цитометрии и Биокинетики СО РАН. Однако выражение (18) записано через переменную ξ , в то время как в большинстве измерений рассматривается преобразование Фурье по углам рассеяния. Но поскольку $\xi \approx \theta$ для $\theta \lesssim 1$, разница незначительна даже для относительно широких диапазонов θ , таких как $[10^\circ, 65^\circ]$ (см. Главу 3). Во-вторых, Ур. (18) не объясняет, как размер носителя преобразуется в специфические характеристики спектра индикатрисы, вычисленного для конечного углового диапазона с использованием некоторой оконной функции. Чтобы решить эту проблему, стоит рассмотреть конкретный случай однородного шара в следующем разделе.

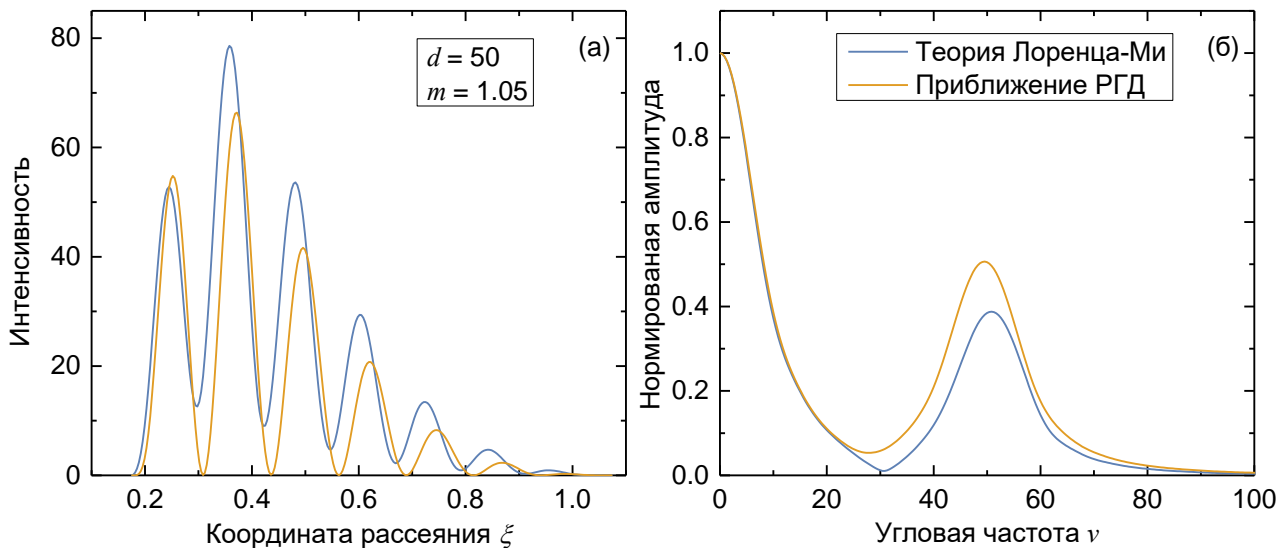


Рис. 6. Интенсивности рассеяния с оконной функцией [см. Ур. (22)] шара с $d = 50$ и $m = 1.05$, рассчитанные с использованием теории Лоренца-Ми (синий) и РГД приближения (оранжевый) в зависимости от координаты рассеяния ξ (а), и их нормированный амплитудный спектр Фурье (см. следующий раздел) (б).

2.2 Приближение Рэля-Ганса-Дебая для шара.

Если предполагается сферическая симметрия (обозначается индексом «s» для следующих функций), f_s зависит только от $|p|$ (длины \mathbf{p}) и $F_s(p)$ не зависит от θ и ϕ . Таким образом для них получаем

$$f_s(p) = \frac{\pi}{12} (d - |p|)^2 (2d + |p|) \Pi_{-d,d}(p), \quad (19)$$

$$F_s(p) = \int_{\mathbb{R}^2} d^2 \mathbf{\rho} f(\sqrt{p^2 + \rho^2}) = P_s(|p|) \Pi_{-d,d}(p), \quad (20)$$

$$P_s(p) \stackrel{\text{def}}{=} \frac{\pi^2}{30} (d - p)^3 (d^2 + 3dp + p^2)$$

где $\Pi_{a,b}(p) \stackrel{\text{def}}{=} H(p-a) - H(p-b)$ – это функция единичного импульса, а $H(p)$ – это функция Хэвисайда. Тогда $\Pi_{-d,d}(p)$ определяет носитель как $f_s(p)$, так и $F_s(p)$, в то время как непрерывность производных определяется полиномиальными членами. Как показано на Рис. 7, $f_s(p)$ всюду непрерывна, но ее первая и вторая производные имеют разрывы в $p = 0$ и $\pm d$ соответственно. Напротив, $F_s(p)$ непрерывна вместе с первыми двумя производными, а ее третья производная имеет разрывы при тех же значениях p .

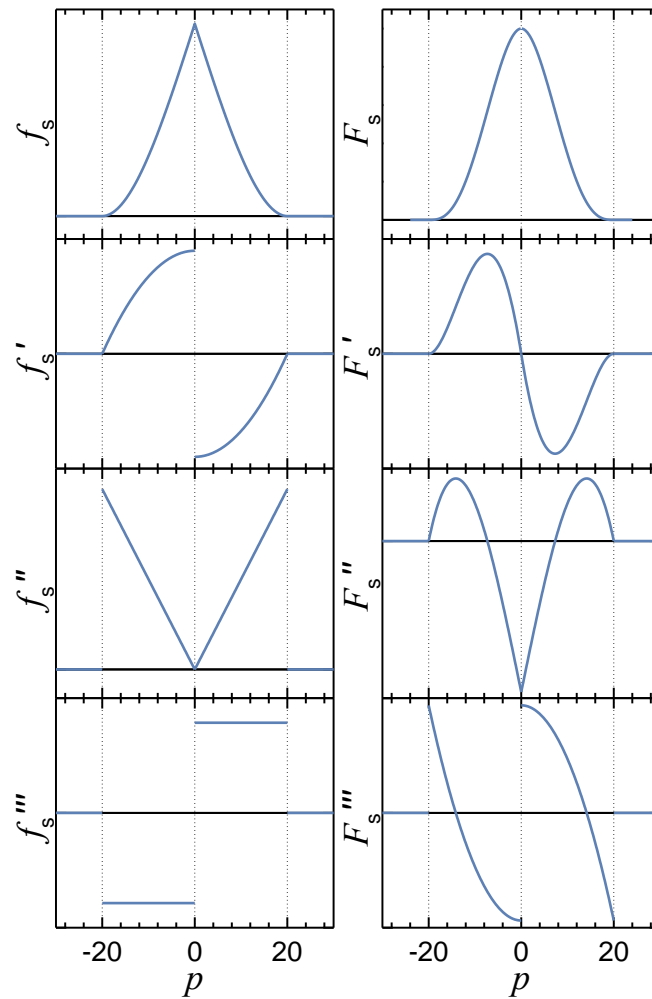


Рис. 7. Функции $f_s(p)$ и $F_s(p)$ и их первые три производные при $d = 20$.

В дальнейшем предполагается, что $I(\xi) \stackrel{\text{def}}{=} |R(\mathbf{k}_s)|^2$ – это измеряемая индикатриса, поскольку другие множители, присутствующие в Ур. (16) либо константы (не влияют на форму спектра), либо легко компенсируются. Однако на практике $I(\xi)$ известна только в конечном диапазоне $[\xi_1, \xi_2]$ и для преобразования Фурье используется оконная функция $w(\xi)$ [89,189,195,215]:

$$\tilde{I}_w(v) \stackrel{\text{def}}{=} \int_{-\infty}^{+\infty} d\xi w(\xi) I(\xi) \exp(-iv\xi). \quad (21)$$

Далее здесь будет рассматриваться только оконная функция Ханна как наиболее часто используемая

$$w(\xi) = \sin^2\left(\pi \frac{\xi - \xi_1}{\xi_2 - \xi_1}\right) \Pi_{\xi_1, \xi_2}(\xi), \quad (22)$$

преобразование Фурье которой есть

$$\tilde{w}(v) = \frac{\sin(\tau v)}{v[1 - (\tau v/\pi)^2]} \exp[-i(\tau + \xi_1)v], \quad (23)$$

где $\tau \stackrel{\text{def}}{=} (\xi_2 - \xi_1)/2$. Полный диапазон углов рассеяния соответствует $\tau = 1$, в то время как типичный диапазон $[10^\circ, 65^\circ]$ – $\tau = 0.45$. Заметим, что $\tilde{w}(v)$ пренебрежимо мал при $|v| \geq 2\pi/\tau$, а его полуширина на полувысоте в точности равна π/τ .

Объединяя Ур. (18) и (21) получаем

$$\tilde{I}_w(v) = \int_{-\infty}^{+\infty} dp \tilde{w}(v-p) F_s(p), \quad (24)$$

здесь было также использовано свойство $F_s(-p) = F_s(p)$. Таким образом, спектр индикатрисы представляется сверткой относительно узкой аналитической функции $\tilde{w}(v)$ с относительно широкой функцией $F_s(p)$, имеющей разрывы (в предположении $d \gg 2\pi/\tau$).

Далее стоит отдельно рассмотреть случаи вдали и вблизи от разрывов. В первом случае $F_s(p)$ можно заменить аналитической функцией из пространства Шварца, т. е. рядом Тейлора вокруг $p = v$ с умеренным экспоненциальным убыванием. Интегрировать такие ряды тривиально, используя свойства производных преобразования Фурье с единственным требованием, чтобы i -я производная $w(\xi)$ была корректно определена при $\xi = 0$:

$$\tilde{I}_w(v) \approx \lim_{\gamma \rightarrow +0} \int_{-\infty}^{+\infty} dp \tilde{w}(p) \exp(-\gamma p^2) \sum_{i=0}^{\infty} \frac{F_s^{(i)}(v)}{i!} (-p)^i = 2\pi \sum_{i=0}^{\infty} \frac{i^i}{i!} w^{(i)}(0) F_s^{(i)}(v), \quad (25)$$

Данное уравнение также можно рассматривать как разложение узкой функции в сумму производных дельта-функции Дирака δ . На удивление, результат критически зависит от ξ_1 . Для $\xi_1 > 0$ Ур. (25) равно нулю из-за Π_{ξ_1, ξ_2} в Ур. (22), а практическая малость определяется расстоянием $\xi_1(d - v)$ (или аналогично для других разрывов F). Напротив, Ур. (25) неприменимо при $\xi_1 = 0$. Действительную часть $\tilde{I}_w(v)$ все еще можно оценить, предполагая $H(0) = 1/2$ при вычислении $w^{(2i)}(0)$, в результате чего главный член пропорционален $F_s''(v)$. Однако мнимая часть определяется F_s во всем его носителе, а не его локальными свойствами вокруг v . Последнее также видно из Ур. (23), мнимая часть которого при $\xi_1 = 0$ пропорциональна $\sin^2(\tau v)$, таким образом, имеется часть, которая остается после усреднения всех колебаний.

Таким образом, было получено, что оконная функция при $\xi_1 > 0$ (что всегда имеет место на практике) сильно подавляет спектр индикатрисы везде вдали от $\nu = 0$ или $\pm d$, поэтому можно ожидать каких-либо пиков (особенностей) в спектре только около этих значений. Конкретная структура этих особенностей анализируется ниже.

2.2.1 Оценка формы пика в приближении РГД

Для изолирования разрывов $F_s(p)$ следует переписать Ур. (20) как

$$F_s(p) = P_s(-p)H(p+d) + [P_s(p) - P_s(-p)]H(p) - P_s(p)H(p-d), \quad (26)$$

и оценить его спектр Фурье, используя соответствующие свойства сдвига аргумента и производных:

$$\tilde{F}_s(\xi) = e^{id\xi} \mathcal{D}_{d-p} \tilde{H}(\xi) + (\mathcal{D}_p - \mathcal{D}_{-p}) \tilde{H}(\xi) - e^{-id\xi} \mathcal{D}_{d+p} \tilde{H}(\xi), \quad (27)$$

где $\mathcal{D}_{x\pm p}$ – дифференциальный оператор полученный из $P_s(x \pm p)$ заменой $p^n \rightarrow i^n \frac{d^n}{d\xi^n}$. Также известно, что $\tilde{H}(\xi) = \pi\delta(\xi) - i/\xi$, но $\delta(\xi)$ можно опустить, поскольку $\xi_1 > 0$. Используя следующую асимптотическую форму операторов для больших d :

$$\mathcal{D}_p - \mathcal{D}_{-p} = -i \frac{(\pi d)^2}{3} \left[\frac{d^3}{d\xi^3} + O\left(\frac{1}{d^2}\right) \right], \quad \mathcal{D}_{d\pm p} = \pm i \frac{(\pi d)^2}{6} \left[\frac{d^3}{d\xi^3} + O\left(\frac{1}{d}\right) \right], \quad (28)$$

получаем

$$I(\xi) \approx \frac{(\pi d)^2}{\xi^4} (e^{id\xi} + 2 + e^{-id\xi}). \quad (29)$$

Очевидно, Ур. (29) также можно получить из явного выражения $I(\xi)$ в РГД приближении [258], полагая $\xi d \gg 1$.

Объединяя Ур. (21) и (29) получаем конечное представление:

$$\tilde{I}_w(\nu) \approx (\pi d)^2 [J(\nu-d) + 2J(\nu) + J(\nu+d)], \quad (30)$$

где $J(\nu)$ – интеграл формы пика, представляемый как

$$J(\nu) = \int_{\xi_1}^{\xi_2} d\xi \frac{w(\xi)}{\xi^4} \exp(-i\nu\xi), \quad (31)$$

представляет собой преобразование Фурье масштабированной оконной функции. Важно повторить, что Ур. (30) справедливо только при $\xi_1 > 0$, так как в противном случае интеграл в Ур (31) расходится.

Таким образом, спектр индикатрисы шара в РГД приближении имеет три пика, соответствующие разрывам производных $F_s(p)$, все они имеют одинаковую форму $J(v)$. Стоит отметить, что $|J(v)|$ является четной функцией v с максимумом при $v = 0$ (при котором $J(0)$ действительна) и шириной, сравнимой с шириной $\tilde{w}(v)$ [Ур. (23)]. Поэтому, при $d \gg 2\pi/\tau$ пики не перекрываются и основной пик спектра индикатрисы располагается точно при $v = d$. Этот вывод также справедлив для $w(\xi)$, отмасштабированной гладкой медленно меняющейся функцией, например, ξ^i , которую можно настроить для получения более простой (или более узкой) формы пика. Такой подход использовался ранее, например, индикатриса умножалась на $\theta^{2.5}$ [262].

2.3 Приближение ВКБ для шара.

В РГД приближении ПП проявляется только как множитель амплитуды индикатрисы, не влияя на форму её спектра. Это свойство в некоторой степени выполняется даже вне области применимости РГД, что было успешно использовано для решения обратной задачи в [215]. Однако на практике ПП влияет как на форму, так и на фазу основного пика [89,258]. Далее будет представлено объяснение этих эффектов, используя ВКБ-приближение, ограничиваясь случаем вещественного m , хотя малое поглощение в принципе может быть учтено как возмущение.

Использование ВКБ сводится к следующему выражению для форм-фактора вместо Ур. (14) [263]:

$$R_{\text{ВКБ}}(\mathbf{k}_s) \stackrel{\text{def}}{=} \int_V d^3\mathbf{r}' \exp[-i\mathbf{k}_s \cdot \mathbf{r}' + i(m-1)\mathbf{e}_z \cdot (\mathbf{r}' - \mathbf{r}'_1)], \quad (32)$$

Оно учитывает сдвиг фазы луча, достигающего точки \mathbf{r}' внутри частицы (\mathbf{r}'_1 – его точка входа в частицу, см. Рис. 8). Данное усложнение облегчает второе требования в Ур. (12), в частности, это работает для $d(m-1)^2 \lesssim 1$, сохраняя $(m-1) \ll 1$ [264].

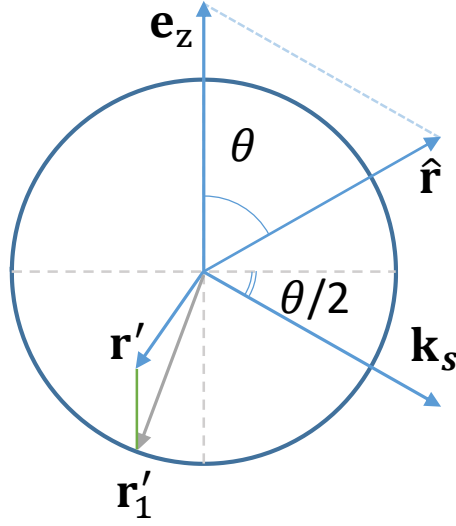


Рис. 8. Геометрия рассеяния для ВКБ приближения.

В отличие от Ур. (18) в данном случае невозможно применить теорему о свертке к $|R_{\text{WKB}}(\mathbf{k}_s)|^2$ напрямую, но можно получить аналогичный результат, используя линейную замену переменной:

$$|R_{\text{WKB}}(\mathbf{k}_s)|^2 = \int_{\mathbb{R}^3} d^3 \mathbf{p} \exp(-i\mathbf{k}'_s \cdot \mathbf{p}) f_{\text{WKB}}(\mathbf{p}), \quad (33)$$

где $\mathbf{k}'_s \stackrel{\text{def}}{=} \hat{\mathbf{r}} - m\mathbf{e}_z$ – модифицированный вектор рассеяния,

$$f_{\text{WKB}}(\mathbf{p}) \stackrel{\text{def}}{=} \int_{\mathbb{R}^3} d^3 \mathbf{q} U(\mathbf{q})U(\mathbf{q} + \mathbf{p}) \exp[i(m-1)(z_q - z_{\mathbf{p}+\mathbf{q}})] \quad (34)$$

— автокорреляционная функция ВКБ, где z_x – это z -координата точки входа луча, проходящего через точку \mathbf{x} . Несмотря на сложную форму, $f_{\text{WKB}}(\mathbf{p})$ для шара похожа на $f_s(p)$ [Ур. (19)], но дополнительно зависит от направления $\hat{\mathbf{p}}$ (см. раздел 2.3.1). К счастью, эта зависимость частично усредняется при вычислении $F_{\text{WKB}}(p_{\parallel}, \theta)$ путем интегрирования Ур. (34) по плоскостям постоянной фазы (перпендикулярными \mathbf{k}'_s), аналогично Ур. (18).

Далее определяя $\xi_m \stackrel{\text{def}}{=} k'_s = \sqrt{m\xi^2 + (m-1)^2}$, получаем

$$I(\xi) = \tilde{F}_{\text{WKB}}(\xi_m, \theta), \quad (35)$$

где θ – фиксированный параметр при вычислении преобразования Фурье. Этот параметр мешает преобразованию в Ур. (21), так как оно зависит от ξ . Однако, как показано в разделе 2.3.1, зависимость от θ не содержит быстрых осцилляций, следовательно, может быть представлена в виде

$$\tilde{F}_{\text{WKB}}(\xi_m, \theta) = \tilde{F}_{\text{WKB}}(\xi_m, \theta_0)u(\xi_m), \quad (36)$$

где θ_0 – некоторый фиксированный (средний) угол, а $u(\xi_m)$ — гладкая медленно меняющаяся функция. Важно, $F_{\text{WKB}}(p, \theta_0)$ имеет тот же носитель ($|p| \leq d$) и аналогичное поведение производных на его границе, что и $F_s(p)$. Таким образом, РГД-анализ в разделе 2.2 остается в силе после замены ξ и $w(\xi)$ на ξ_m и $w(\xi_m)u(\xi_m)$ соответственно. Как обсуждалось в конце раздела 2.2.1, такая модификация оконной функции влияет на форму пика $J(v)$, но не на его положение или исчезновение спектра между пиками. Если, однако, m неизвестно, мы можем обработать экспериментальное $I(\xi)$ в терминах исходного ξ точно так же, как в Ур. (21). Это приведет к дополнительному (комплексному) множителю оконной функции, что приведет к небольшому смещению и деформации пика. Асимптотический анализ данной модификации оставлен для будущих исследований. Важно отметить, что в работе [265] проведен аналогичный анализ ВКБ приближения, основанный на рассуждениях о стационарной фазе, но рассмотрена только индикатриса, а не её спектр.

2.3.1 Автокорреляционная функция в ВКБ приближении.

Проанализируем функцию, определяемую Ур. (34). Во-первых, отметим, что для шара функция $U(\mathbf{q}) \exp[i(m-1)z_{\mathbf{q}}]$ является как центрально, так и осесимметричной, поскольку $z_{\mathbf{q}}$ инвариантна относительно этих преобразований. Следовательно, $f_{\text{WKB}}(\mathbf{p})$ имеет ту же симметрию, что вместе с универсальным свойством эрмитовости автокорреляционной функции $[f_{\text{WKB}}(-\mathbf{p}) = f_{\text{WKB}}^*(\mathbf{p})]$ означает ее вещественность, т.е. $\text{Im}[f_{\text{WKB}}(\mathbf{p})] = 0$. Во-вторых, $f_{\text{WKB}}(p\mathbf{e}_z) = f_s(p)$, поскольку $z_{p\mathbf{e}_z+\mathbf{q}} = z_{\mathbf{q}}$. Однако для невертикальных направлений \mathbf{p} это равенство больше не выполняется, и разница увеличивается с увеличением параметра набега фазы $d(m-1)$, что демонстрируют вычисления на Рис. 9.

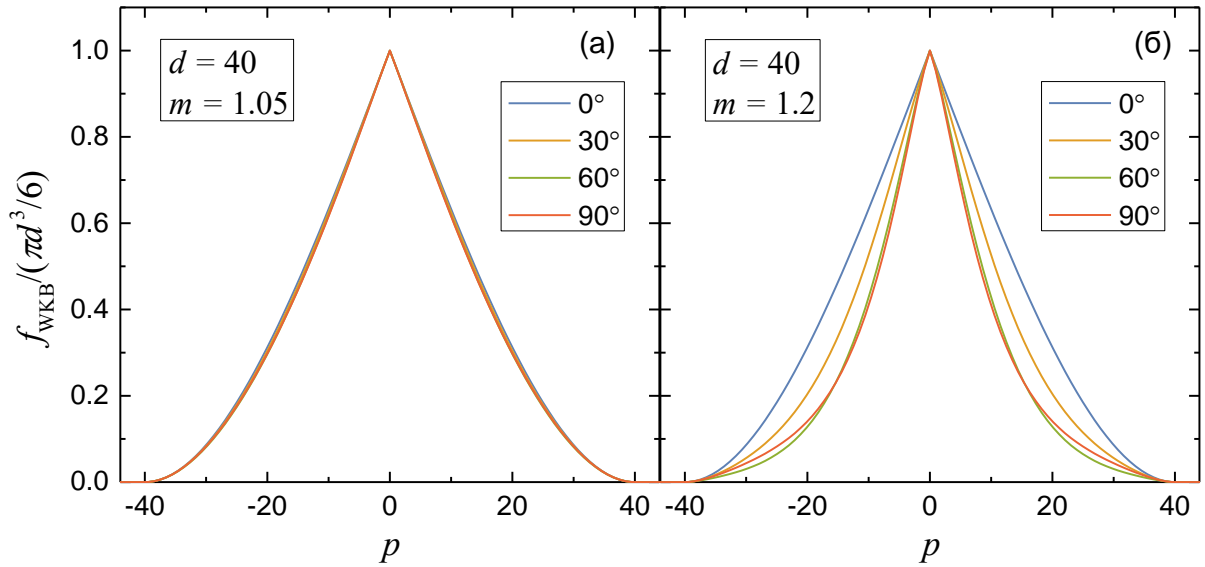


Рис. 9. $f_{\text{WKB}}(\mathbf{p})$ для шара, нормированная на его объем и показанная как функция p для нескольких фиксированных углов между \mathbf{p} и \mathbf{e}_z ($0^\circ, 30^\circ, 60^\circ, 90^\circ$). Характеристики шара: $d = 40$, а) $m = 1.05$ и б) $m = 1.2$.

Получающаяся ИАФ F_{WKB} , определенная аналогично Ур. (18), зависит от p_{\parallel} и \mathbf{k}'_s (т. е. от θ) из-за выбора плоскости интегрирования. Как показано на Рис. 10, $F_{\text{WKB}}(p_{\parallel}, \theta)$ практически неотличима от $F_s(p_{\parallel})$ для $d(m-1) = 2$. С увеличением параметра набега фазы амплитуда ИАФ уменьшается, а ее зависимость от θ становится более выраженной, оставаясь относительно слабой, по крайней мере, при $d(m-1) \leq 20$. При этом во всех случаях $F_{\text{WKB}}(p_{\parallel}, \theta)$ является медленно меняющейся функцией от θ (не содержит высокочастотных компонент), а носитель $F_{\text{WKB}}(p_{\parallel}, \theta)$, очевидно, не зависит от θ .

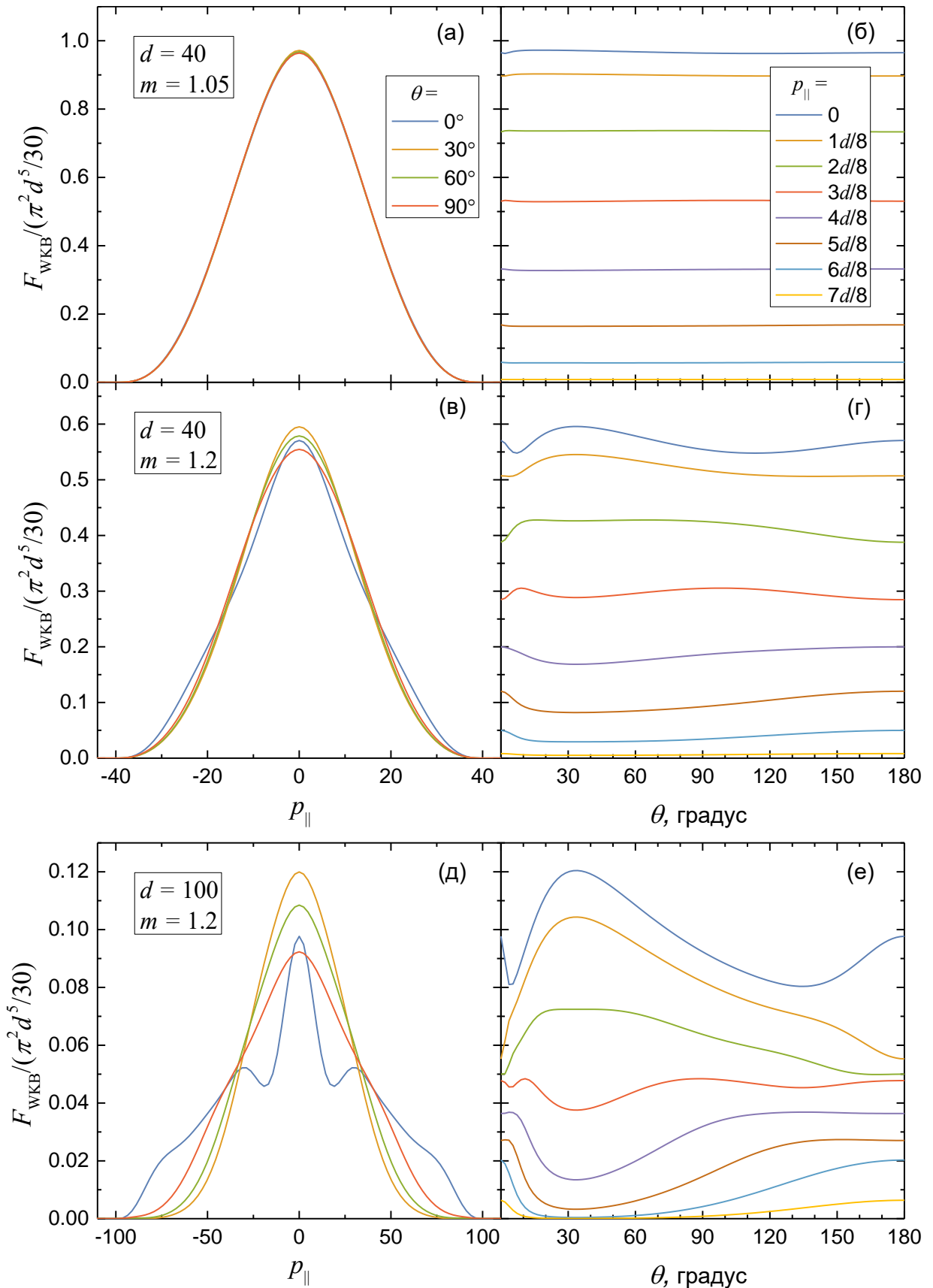


Рис. 10. $F_{\text{WKB}}(p_{\parallel}, \theta)$ шара (нормированная на $F_S(0)$) показана как функция от p_{\parallel} для нескольких фиксированных углов рассеяния θ (а,в,д) и как функция θ для нескольких фиксированных p_{\parallel} (б,г,е). Параметр набег фазы $d(m - 1)$ равен 2, 8 и 20 сверху вниз, соответственно.

2.3.2 Оценка поправки фазового спектра

Здесь будет проанализировано влияние исключительно изменения координаты рассеяния ξ_m в Ур. (35) на спектр картины рассеяния [Ур. (21)]. Изначально координата рассеяния ξ_m имеет нелинейную зависимость от ξ

$$\xi_m \stackrel{\text{def}}{=} \sqrt{m\xi^2 + (m-1)^2}. \quad (37)$$

Однако если рассмотреть её относительно интервала $[\xi_1, \xi_2]$ в условиях СПЦ, то можно заметить ярко выраженную линейную зависимость даже при больших m как на Рис. 11

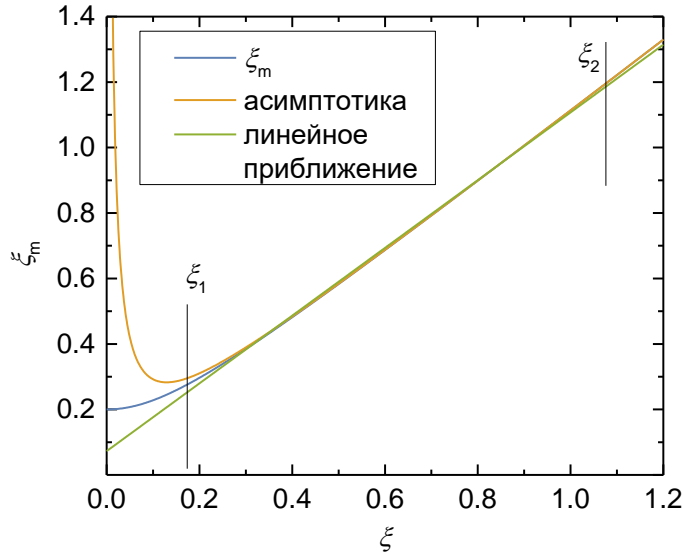


Рис. 11. Зависимость координаты ξ_m от ξ при $m = 1.2$. Также показаны асимптотика для больших ξ и линейная аппроксимация в диапазоне от $[\xi_1, \xi_2]$.

Для получения аналитической линейной оценки процесса смены координаты было решено использовать асимптотику на бесконечности для Ур. (43)

$$\xi_m \approx \xi\sqrt{m} + \frac{(m-1)^2}{2\xi\sqrt{m}}. \quad (38)$$

Тогда второй член можно усреднить по диапазону $[\xi_1, \xi_2]$ и получить линейную аппроксимацию вида

$$\xi_m \approx \sqrt{m} \xi + c_0, \quad (39)$$

где $c_0 \sim (m-1)^2/\sqrt{m}$.

Таким образом подставляя Ур. (35) в Ур. (21) получаем

$$\tilde{I}_w(v) = \int_{-\infty}^{+\infty} d\xi w(\xi) \tilde{F}_{\text{WKB}}(\xi_m, \theta(\xi_m)) \exp(-iv\xi). \quad (40)$$

Далее проводя замену переменных

$$\xi_m \approx \sqrt{m}\xi + c_0 \Rightarrow \xi = \frac{\xi_m - c_0}{\sqrt{m}}, \quad (41)$$

получаем

$$\tilde{I}_w(v) = \exp\left(iv \frac{c_0}{\sqrt{m}}\right) \int_{-\infty}^{+\infty} \frac{d\xi_m}{\sqrt{m}} w\left(\frac{\xi_m - c_0}{\sqrt{m}}\right) \tilde{F}_{\text{WKB}}(\xi_m, \theta(\xi_m)) \exp\left(-iv \frac{\xi_m}{\sqrt{m}}\right). \quad (42)$$

Поэтому если при переходе от РГД случая пренебречь влиянием $w\left(\frac{\xi_m - c_0}{\sqrt{m}}\right)$ и $\tilde{F}_{\text{WKB}}(\xi_m, \theta(\xi_m))$ на положение пика (L), то можно утверждать, что оно будет смещено относительно РГД в \sqrt{m} раз, т.е. $L_{\text{WKB}} = \sqrt{m}L$, а $L_{\text{WKB}} \sim \sqrt{m}d$. Тогда значение фазы в пике будет пропорционально $d(m-1)^2/\sqrt{m}$.

Для проверки данного предположения было проведено численное моделирование рассеяния в приближении ВКБ и с помощью теории Лоренца-Ми для шара. Здесь и далее рассеяние в приближении ВКБ было вычислено исходя из формулы представленной в [263]. Для рассчитанных индикатрис рассеяния в диапазоне $\theta \in [10^\circ, 65^\circ]$ в координатах ξ , было вычислено преобразование Фурье как на Рис. 6, определены положение основного пика L и значение фазы φ в этой точке. Действительно, моделирование показало, что значение фазы в пике имеет близкую к квадратичной зависимость от ПП как в ВКБ приближении, так и в общем случае теории Лоренца-Ми (Рис. 12).

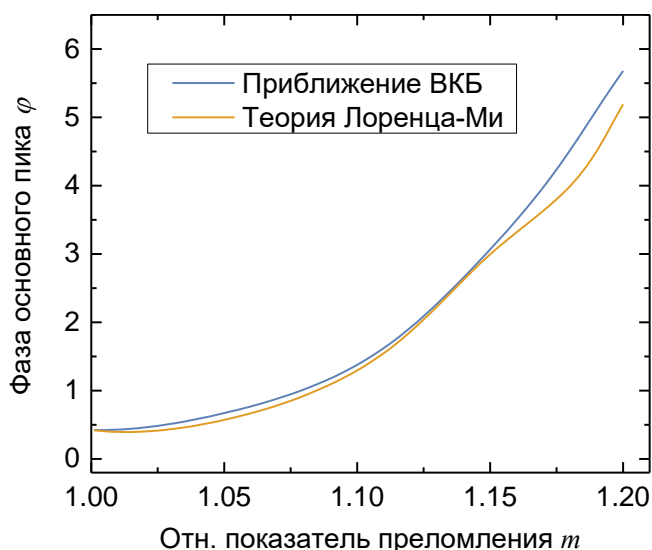


Рис. 12. Значение фазы в пике в зависимости от ПП в приближении ВКБ и в теории Лоренца-Ми, $d = 40$. Был выбран диапазон возможных значений фазы $[0, 2\pi)$, чтобы избежать разрывов фазы внутри рассматриваемого диапазона ПП.

2.4 Обобщение на строгую теорию рассеяния.

В общем случае рассеяния, без каких-либо приближений, все еще можно получить качественное объяснение работы спектрального метода определения размера с помощью

объемного интегрального уравнения [266]. В нем элементами амплитудной матрицы рассеяния являются компоненты следующего вектора амплитуды рассеяния

$$\mathbf{F}(\hat{\mathbf{r}}) = -i \int_{\mathbb{R}^3} d^3 \mathbf{r}' \exp(-i \mathbf{r}' \cdot \hat{\mathbf{r}}) \{ \mathbf{P}(\mathbf{r}') - \hat{\mathbf{r}}[\hat{\mathbf{r}} \cdot \mathbf{P}(\mathbf{r}')], \quad (43)$$

вычисленного для двух падающих поляризаций [27,267]. Поляризация \mathbf{P} определяется через внутреннее поле \mathbf{E} (в гауссовых единицах)

$$\mathbf{P}(\mathbf{r}) \stackrel{\text{def}}{=} \frac{m^2(\mathbf{r}) - 1}{4\pi} \mathbf{E}(\mathbf{r}). \quad (44)$$

Несмотря на то, что $\mathbf{P}(\mathbf{r})$ может быть очень сложным, его носитель всегда совпадает с объемом частицы V . Далее, аналогично Ур. (17) получаем:

$$|\mathbf{F}(\hat{\mathbf{r}})|^2 = \tilde{f}_{\mathbf{P}}(\hat{\mathbf{r}}, \theta, \phi), \quad (45)$$

$$f_{\mathbf{P}}(\mathbf{p}, \theta, \phi) \stackrel{\text{def}}{=} \int_{\mathbb{R}^3} d^3 \mathbf{q} \{ \mathbf{P}^*(\mathbf{q}) \cdot \mathbf{P}(\mathbf{q} + \mathbf{p}) - [\hat{\mathbf{r}} \cdot \mathbf{P}^*(\mathbf{q})][\hat{\mathbf{r}} \cdot \mathbf{P}(\mathbf{q} + \mathbf{p})] \},$$

где спектр обобщенной автокорреляционной функции зависит от θ, ϕ в силу проекции \mathbf{P} на $\hat{\mathbf{r}}$. Стоит акцентировать, что Ур. (45) определяет поведение интенсивности рассеяния. Например, $S_{11}(\hat{\mathbf{r}})$ – это среднее значение $|\mathbf{F}(\hat{\mathbf{r}})|^2$ для двух падающих поляризаций.

Важно отметить, что $f_{\mathbf{P}}(\mathbf{p}, \theta, \phi)$ обращается в нуль при $|\mathbf{p}| \geq d$. А также можно получить аналог Ур. (18), $|\mathbf{F}(\mathbf{k}_s)|^2 = \tilde{F}_{\mathbf{P}}(\xi, \theta, \phi)$, определяя обобщенную ИАФ как

$$F_{\mathbf{P}}(p_{\parallel}, \theta, \phi) \stackrel{\text{def}}{=} \exp(-ip_z) \int_{\mathbb{R}^2} d^2 \mathbf{p}_{\perp} f_{\mathbf{P}}(\mathbf{p}_{\parallel} + \mathbf{p}_{\perp}, \theta, \phi), \quad (46)$$

где экспоненциальный множитель введен для замены $\hat{\mathbf{r}}$ на \mathbf{k}_s в интеграле Фурье. В принципе, этот множитель может быть эквивалентно применен к $\mathbf{P}(\mathbf{p})$ в определении $f_{\mathbf{P}}(\mathbf{p}, \theta, \phi)$. Для оптически мягких частиц это должно компенсировать основную фазовую зависимость внутренних полей. В этом случае $F_{\mathbf{P}}(p_{\parallel}, \theta, \phi)$ медленно меняется с p_{\parallel} (имеет малые производные), а его разрывы определяются формой частицы. Тогда полностью применив анализ раздела 2.1, можно получить объяснение расположения пиков в спектре индикатрисы. Более точное приближение можно получить, заменив $\exp(-ip_z)$ на $\exp(-imp_z)$ в Ур. (46), что приводит к тем же выводам, что и в разделе 2.3.

Как правило, в $\mathbf{P}(\mathbf{r})$ остаются некоторые колебания, однако ожидается, что их величина будет уменьшаться при расчете $f_{\mathbf{P}}(\mathbf{p}, \theta, \phi)$ и дальнейшем усреднении в $F_{\mathbf{P}}(p_{\parallel}, \theta, \phi)$ (аналогично примеру в разделе 2.3.1). Анализ практической обоснованности этого предположения остается за будущими исследованиями. Но если это выполняется, то общее поведение спектра $\tilde{I}_w(\eta)$ такое же, как обсуждалось в предыдущих разделах. Он относительно мал вдали от разрывов производных $F_{\mathbf{P}}(p_{\parallel}, \theta, \phi)$ по первому аргументу [см. Ур. (25)], а

разрывы определяются границами частицы, по крайней мере, для кусочно-однородных рассеивателей. Расположение разрывов полностью аналогично их расположению в $F(p_{\parallel}, \theta, \phi)$, в частности, разрыв с наибольшим значением $|p_{\parallel}|$ находится в d . Однако форма и относительная амплитуда различных результирующих спектральных пиков могут быть получены только путем точного вычисления $\mathbf{P}(\mathbf{r})$.

Чтобы проиллюстрировать ожидаемое поведение кусочно-однородных рассеивателей, рассмотрим один пример двуслойного шара на Рис. 13 (такой же, как на Рис. 6, но с внутренним ядром). Был использован самый простой подход для вычисления ИАФ в приближении РГД, аналогично Ур. (20), что привело к функции $F(p)$ (также сферически-симметричной). Примечательно, что все пять разрывов в её третьей производной соответствуют положениям пиков в спектре индикатрисы, рассчитанном с использованием теории Лоренца-Ми [Рис. 13 (б)]. $F(p)$ был получен с помощью численного интегрирования, но из приведенного выше обсуждения следует, что разрывы расположены в позициях $(d_1 \pm d_2)/2$ (где каждый из двух диаметров может соответствовать либо оболочке, либо ядру). Этот вывод объясняет эмпирические результаты для двуслойных шаров в разделе 3.3 работы [268]. Однако практическая возможность такого подхода для определения диаметра ядра ограничена возможным перекрытием наблюдаемых пиков при варьировании характеристик частицы. Напротив, связь между последним пиком и наибольшим размером частицы гораздо более устойчива, как это было показано ранее как для неоднородных, так и для несферических частиц [193,262].

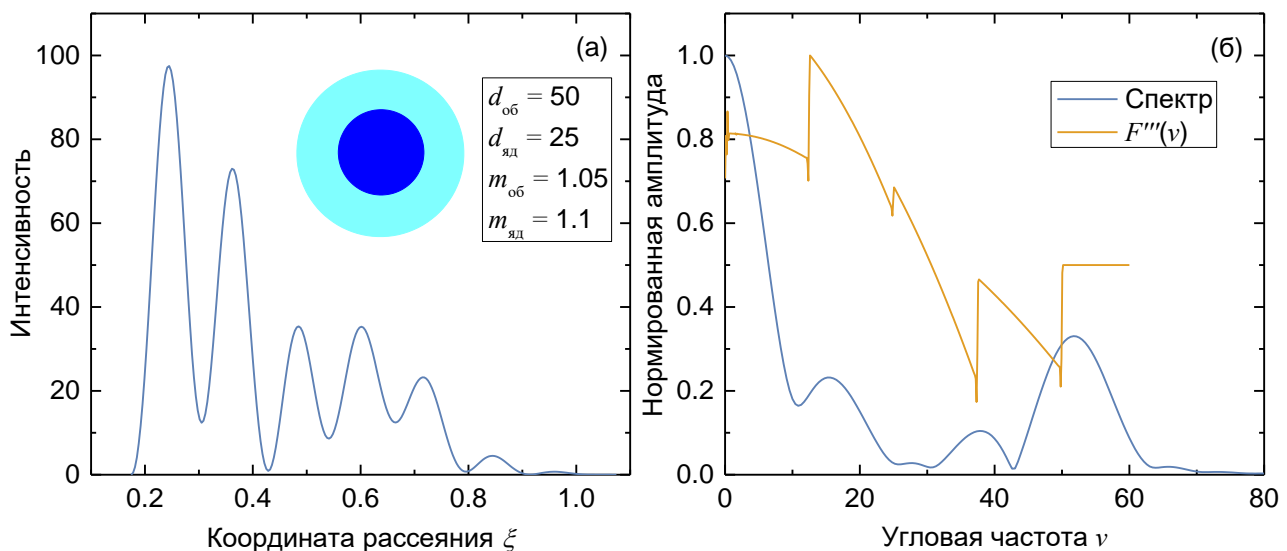


Рис. 13. Интенсивность рассеяния с оконной функцией для покрытого шара (ядро-оболочка) с $d_{\text{яд}} = 25$, $m_{\text{яд}} = 1.1$ и $d_{\text{об}} = 50$, $m_{\text{об}} = 1.05$, рассчитанная по теории Лоренца-Ми как функция координаты рассеяния ξ (а), и ее нормированный амплитудный спектр Фурье (синий) в сравнении с формой третьей производной ИАФ на основе РГД, $F'''(\nu)$ (б).

2.5 Заключение главы.

Был проведен строгий анализ спектра индикатрисы в приближениях РГД и ВКБ, а также в общем случае (без приближений). В случае РГД этот спектр полностью определяется ИАФ – функцией, зависящей только от геометрии частицы. Важно отметить, что носитель ИАФ соответствует диаметру частицы d , а ее старшие производные разрываются на границе носителя. Для практически значимого углового диапазона индикатрисы ($\xi_1 > 0$) использование оконной функции Ханна приводит к подавлению спектра индикатрисы везде, где ИАФ имеет бесконечную гладкость. Таким образом, крайний правый спектральный пик обязательно находится в точке d и имеет аналитическое выражение для своей формы. Данный результат, полученный из первых принципов, подтверждает и объясняет известные эмпирические зависимости.

На удивление, выводы, полученные в приближении РГД, верны и в случае ВКБ. Хотя ИАФ дополнительно зависит от направления рассеяния, численно было показано, что эта зависимость слабая, по крайней мере, для шара. Таким образом, это эквивалентно небольшому изменению оконной функции, что приводит только к изменению формы пика. Эта аналогия особенно прозрачна после изменения аргумента индикатрисы на ξ_m , но ярко выраженный спектральный пик присутствует и в том случае, если преобразование Фурье выполняется либо через ξ , либо через θ . Также удалось получить оценку зависимости фазы основного пика от показателя преломления, связанной с зависимостью ИАФ от ξ_m . В общем случае, анализируемом в рамках объемно интегрального уравнения, был введен аналог ИАФ, основанный на векторе поляризации внутри частицы. Эта модифицированная ИАФ имеет тот же носитель, который объясняет ту же структуру спектра индикатрисы в предположении, что ИАФ медленно меняется с θ и ϕ . Данные результаты подтверждают надежность спектрального метода определения размера в широком диапазоне приложений и открывают путь для его дальнейшего развития. Последнее может включать повышение его точности или дополнительную оценку ПП и внутренних размеров для кусочно-однородных рассеивателей.

Глава 3. Спектральный метод характеристики шара

Как уже упоминалось ранее самым распространённым методом низкоразмерной инверсии для непрерывного сигнала является спектральный метод, который основан на почти линейной зависимости между размером частицы и основной угловой частотой ее индикатрисы рассеяния.

Данная глава посвящена систематическому развитию спектрального метода с целью полной характеристики однородного шара, т.е. с целью получить быстрое и надежное решение ОЗС для шара, включая определение ПП. Для этого весь измеренный сигнал рассеяния будет преобразован в два параметра его Фурье спектра мощности, из которых в дальнейшем будут получены две характеристики частицы: размер и ПП. Раздел 3.1 (как и раздел 3.4) содержит полное описание построения метода, начиная с индикатрисы, измеренной с помощью сканирующего проточного цитометра (СПЦ). Однако предоставленные детали должны позволить повторить всю процедуру для любой другой экспериментальной установки и параметров сигнала. Также там представлен подробный теоретический анализ основного отображения и области применимости (однозначности) разработанного метода. Раздел 3.2 содержит описание двух наборов экспериментальных данных, а именно шариков молочного жира и сферизованных эритроцитов, а также набор синтетических данных сфероидов. Эти данные, на которые влияют как инструментальный шум, так и искажения оптической модели, используются для тщательной проверки метода характеристики в разделе 3.3. Выводы главы представлены в разделе 3.6.

3.1 Построение метода

В этом разделе будет построен метод определения диаметра d и ПП n сферической частицы по спектру ее индикатрисы рассеяния. Основная идея состоит в том, чтобы сжать весь спектр индикатрисы до двух параметров, таким образом получив прямую задачу как отображение характеристик частицы в эти параметры ($G: \mathbb{R}^2 \rightarrow \mathbb{R}^2$), и затем инвертировать это отображение, используя интерполяцию. Чтобы абстрагироваться от конкретной длины волны падающего света λ и ПП среды n_0 , частица будет описываться дифракционным параметром $x = \pi d n_0 / \lambda$ (d – диаметр шара) и относительным ПП $m = n / n_0$. Помимо этого данная работа ограничивается рассмотрением только непоглощающих частиц, т.е. предполагая вещественное m . Более того, рассматривается только $m > 1$, в то время как случай $0 < m < 1$ может быть рассмотрен аналогично. Однако допущение возможности m принимать значения по обе стороны от единицы, скорее всего, нарушит однозначность решения ОЗС во всем диапазоне характеристик частиц.

3.1.1 Спектр мощности и спектральные параметры

Определим конкретную форму спектра индикатрисы. Начнем со стандартной картины рассеяния измеряемой сканирующим проточным цитометром (СПЦ)

$$I(\theta) = \frac{1}{2\pi} \int_0^{2\pi} [S_{11}(\theta, \phi) + S_{14}(\theta, \phi)] d\phi \quad (47)$$

где S_{ij} – матрица Мюллера (см. раздел 1.1), θ и ϕ – полярный и азимутальный углы рассеяния, и $S_{14} \equiv 0$ для идеальных шаров [216]. Далее, исходя из экспериментальных условий и более ранних работ, индикатриса рассматривается в угловом диапазоне от $\theta_1 = 10^\circ$ до $\theta_2 = 65^\circ$ и используется тоже самое спектральное преобразование, что и в [189]. А именно, индикатриса умножается на оконную функцию Ханна

$$w(\theta) = \sin^2 \left(\pi \frac{\theta - \theta_1}{\theta_2 - \theta_1} \right) \quad (48)$$

и ее Фурье спектр мощности рассчитывается как

$$\mathcal{P}(q) = \left| \frac{1}{\theta_2 - \theta_1} \int_{\theta_1}^{\theta_2} d\theta w(\theta) I(\theta) \exp(-2\pi i q \theta) \right|^2. \quad (49)$$

Нормализация на размер углового диапазона требуется для минимизации зависимости от конкретных углов измерения. Практические вычисления производились с помощью быстрого преобразования Фурье с равномерной дискретизацией на $N = 256$ интервалов и последующим дополнением нулями до $M = 4096$ точек (для повышения разрешения спектра):

$$\mathcal{P}(q_k) = \left| \frac{1}{N} \sum_{j=0}^{N-1} w(\theta_1 + j\Delta\theta) I(\theta_1 + j\Delta\theta) \exp\left(-i \frac{2\pi}{M} k j\right) \right|^2 \quad (50)$$

где $\Delta\theta = (\theta_2 - \theta_1)/N$ и $q_k = k/(M\Delta\theta)$. Пример использования спектрального преобразования представлен на Рис. 14, где также определены спектральные параметры: положение (L) и амплитуда (A_p) основного пика, амплитуда нулевой частоты (A_0). L также является основной (угловой) частотой, в то время как A_0 – квадрат среднего значения индикатрисы с весовой функцией окна Ханна – похожий параметр использовался в [191]. Параметры основного пика определяются с помощью квадратичной регрессии с шириной окна в 15 точек (0.98 рад^{-1}). Хотя углы рассеяния измеряются в градусах, q и L будут представлены в единицах системы СИ (рад^{-1}), которые далее опускаются. Стоит также отметить, что поскольку используются элементы матрицы Мюллера для определения интенсивности, последняя и ее спектр являются безразмерными величинами, и их значения однозначно задаются Ур. (47)–(50). Другими словами, условные единицы нигде не используются.

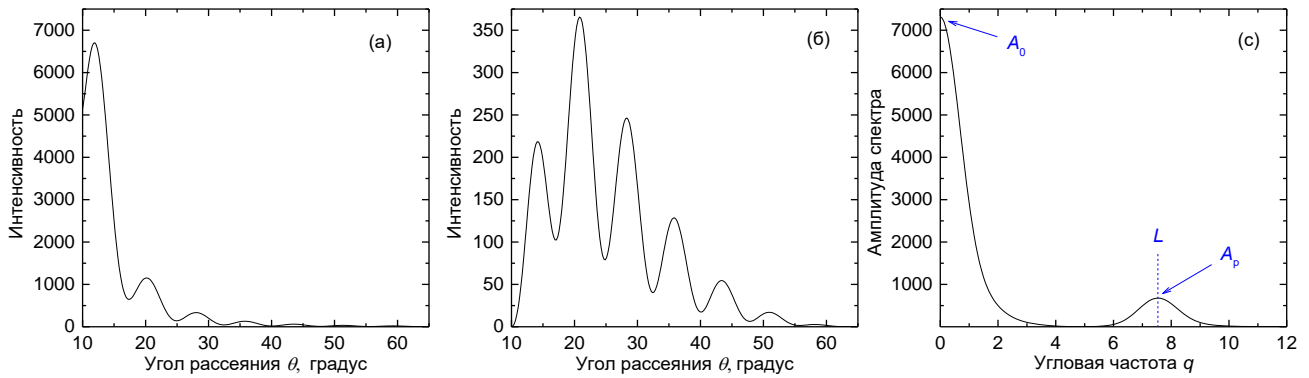


Рис. 14. Исходная индикатриса (а), умноженная на окно Ханна (б) и ее спектр мощности (в) для шара с $x = 24$ и $m = 1.083$.

Почти линейная связь между x и L , где x/L примерно равно π , хорошо известна [189,262] и может быть ясна из анализа дифракционных решеток или приближения Рэлея-Дебая-Ганса (РДГ) (более подробно описано в Главе 2). Выбор второго параметра (для получения m) менее очевиден. Относительная амплитуда пика A_p/A_0 кратко обсуждалась ранее [189,269]; здесь также будут рассмотрены как A_0 , так и A_p . Однако, как показано в разделе 3.3.1, A_0 является наиболее устойчивым (нечувствительным) к экспериментальным искажениям индикатрисы. Поэтому итоговый алгоритм будет использовать именно этот параметр в качестве основного параметра в дальнейшем обсуждении. Аналогичный анализ для других двух параметров представлен в разделе 3.4. Хотя использование дополнительных спектральных параметров может определенно улучшить производительность алгоритма, здесь мы явно ограничиваемся использованием одной амплитуды (то есть всего двух спектральных параметров). Помимо простоты, такой подход позволяет визуализировать и подробно анализировать лежащее в основе отображение G и быть уверенным в итоговом решении, в отличие, например, от методов нейронных сетей.

Стоит отметить, что спектральный пик присутствует не всегда. Бывают случаи, когда он перекрывается спадом пика нулевой частоты (Рис. 15). Чтобы количественно оценить эту проблему, был введен контраст Вебера:

$$C = 1 - \frac{A_{\min}}{A_p}, \quad (51)$$

где A_{\min} – минимальное значение амплитуды слева от основного пика ($C \equiv 0$, если минимума нет вообще). Чем ближе C к нулю, тем больше становится ошибка, особенно при определении L из реальных экспериментальных данных. Зависимость C от x и m показана на Рис. 16, исходя из которого мы далее ограничимся диапазоном $x \in [11,100]$ и $m \in [1,1.5]$. Верхний предел x выбран произвольно и при необходимости может быть расширен, см. Рис. 20(а).

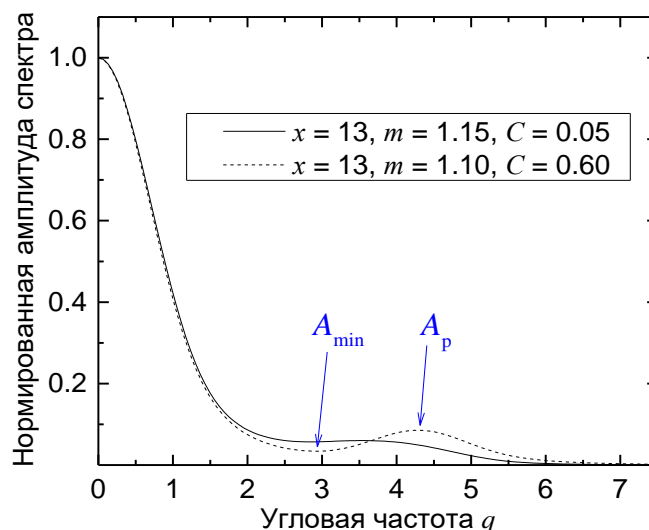


Рис. 15. Нормированный (на амплитуду нулевой частоты) спектр мощности для шара с $x = 13$, $m = 1.15$ и 1.10 . Значение контраста C представлено в легенде.

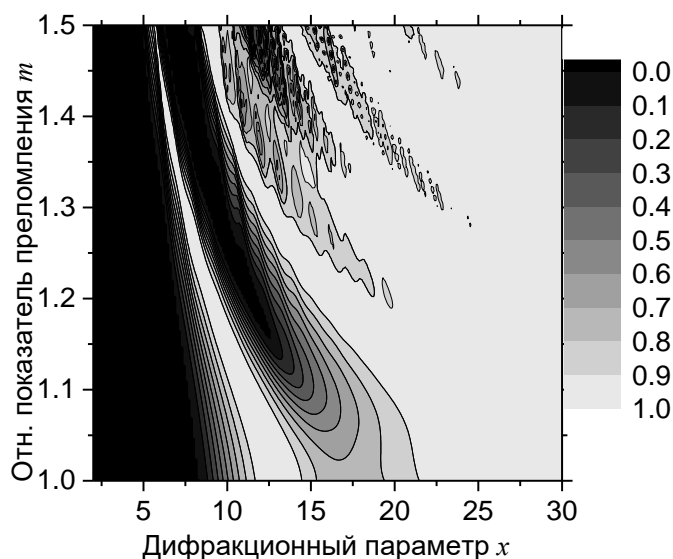


Рис. 16. Контурная диаграмма спектрального контраста C для шаров в зависимости от x и m .

3.1.2 Обратная задача и однозначность решения.

Для решения ОЗС, была построена плотная однородная сетка (200×200) в указанном выше диапазоне x и m , рассчитаны индикатрисы по теории Лоренца-Ми и вычислены спектральные параметры для каждой точки сетки. 62 узла этой сетки попадают в черную область на Рис. 16 и исключаются из дальнейшего анализа. Полученные значения L и A_0 показаны на Рис. 17, а соответствующие результаты для A_p и A_p/A_0 – на Рис. 30. Однако мы можем рассматривать полученные точки в более общем представлении – как плотное облако в четырехмерном пространстве (x, m, L, A_0) . Таким образом, на Рис. 17 изображены две трехмерные проекции этого пространства, а еще две проекции (L, A_0, x) и (L, A_0, m) на Рис. 18

непосредственно решают обратную задачу. Соответствующие проекции для других амплитуд (A_p и A_p/A_0) показаны на Рис. 31.

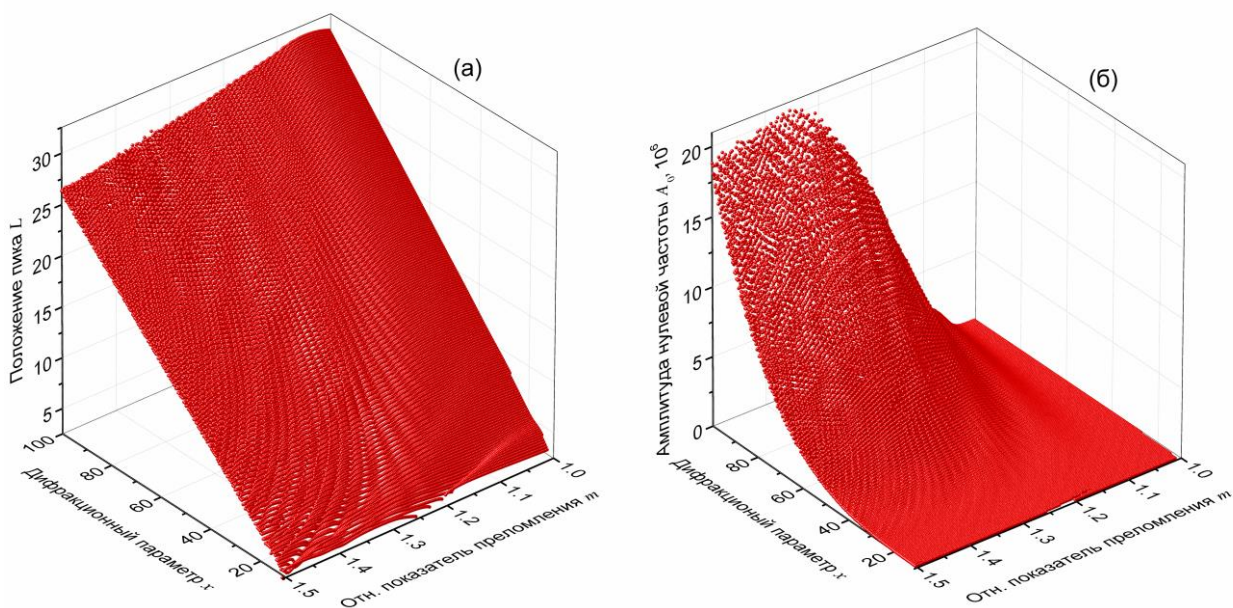


Рис. 17. Зависимость L (а) и A_0 (б) для шаров от x и m .

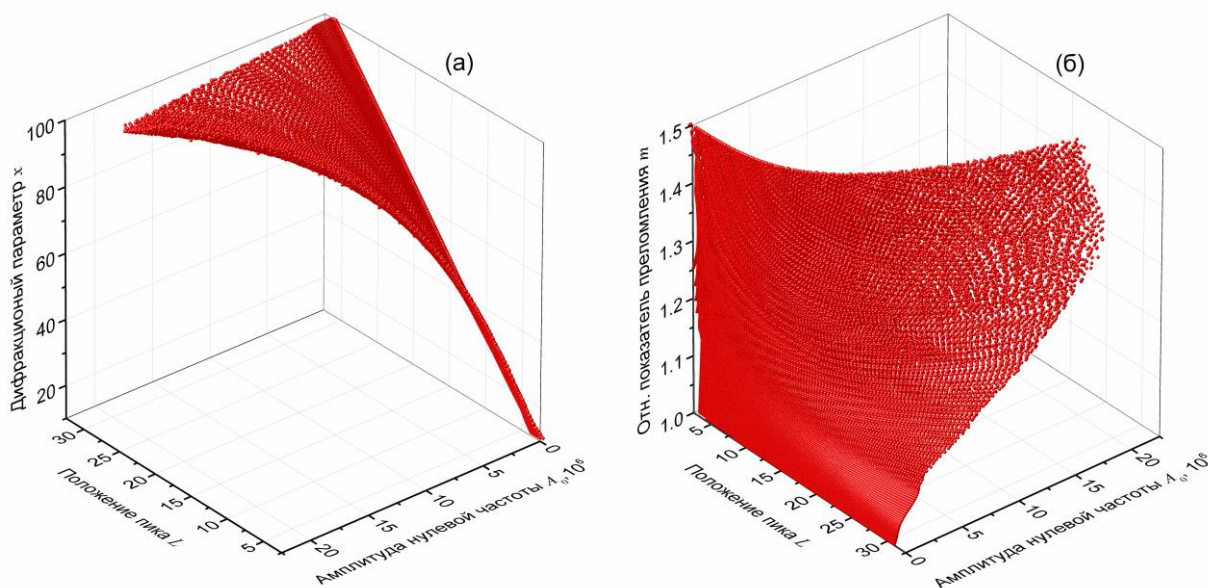


Рис. 18. Точечные диаграммы x (а) и m (б) в зависимости от L и A_0 , построенные на основе тех же теоретических данных из Рис. 17. Для ясности, направление осей отличается между рисунками.

Основная остающаяся проблема заключается в том, что Рис. 18 не определяет однозначную функцию во всей области определения (L, A_0) . В частности, при больших A_0 поверхности x и m содержат несколько ветвей и большие производные, что приводит к фрагментации на кажущиеся изолированными точки. Особенно ярко эта проблема

проявляется для m , из-за чего его невозможно определить во всей области. Чтобы лучше понять эту проблему, стоит более подробно рассмотреть Рис. 17 (б). Акцентируя внимание на разрезах при постоянном размере ($x = 24$), мы получаем типичную зависимость A_0 от m (Рис. 19) с монотонным увеличением для маленьких m , но сложными колебаниями при $m > 1.2$. Эти колебания также существенно зависят от конкретного значения x , что характерно для теории Лоренца-Ми.

Очевидно, что инвертировать отображение G удастся только в ограниченной области однозначности, но определение этой области нетривиально. Сначала стоит рассмотреть это на примере одномерного случая, показанного на Рис. 19. Первый вариант – это область m , в которой $A_0(m)$ является монотонной функцией – от начала координат до первого максимума, см. Рис. 19(а). Это соответствует стандартной ветви многозначной обратной функции (например, в комплексном анализе), и мы далее обозначаем ее как априорную область однозначности. Очевидно, что ее использование может быть затруднительно без предположения о значениях m , которое трудно проверить для реальных частиц в некоторых приложениях. Альтернативный вариант – определить область полной однозначности на основе функции получаемого сигнала. К счастью, как показано на Рис. 19(б), существует такой порог, что для меньших A_0 обратная задача гарантированно будет иметь единственное решение. Однако существует тенденция к уменьшению A_0 до нуля для больших m (данные не приведены, но см. Рис. 21), что делает невозможным построение области однозначности на основе сигналов с использованием всех значений $m > 1$. Таким образом, нам по-прежнему необходимо использовать предварительные предположения о m , но они не такие сильные и могут быть изменены, чтобы соответствовать любому конкретному приложению, в отличие от области априорной однозначности. В частности, здесь и далее m неявно ограничен диапазоном $[1, 1.5]$, как указано ранее. Аналогичные графики для $A_p(m)$ и $A_p/A_0(m)$ показаны на Рис. 32.

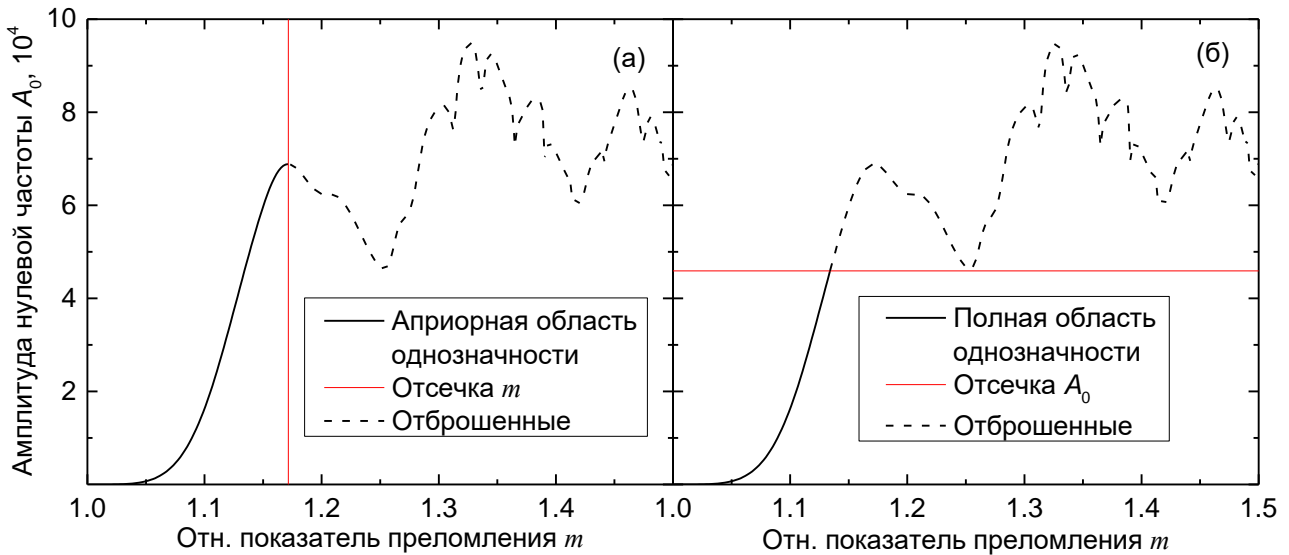


Рис. 19. Зависимость A_0 от m для $x = 24$ и иллюстрация двух подходов к определению области однозначности: априорная (а) и полная (б). Прямая красная линия обозначает пороговые значения, сплошные и пунктирные черные кривые – оставшиеся и опущенные части функции.

Если повернуть Рис. 19 на 90° и рассматривать его как график обратной функции $m(A_0)$, определение областей однозначности можно переформулировать как области от начала координат до бесконечной производной главной ветви $m(A_0)$ и до первого появления многозначности соответственно. В этой форме данные определения можно напрямую обобщить на двумерное отображение G , заменив $m(A_0)$ на $x(L, A_0)$ и $m(L, A_0)$. Однако строгий расчет таких областей однозначности затруднителен; поэтому, было использовано приближение, полагающее, что x и L линейно связаны. Тогда необходимо рассматривать только зависимость $m(L, A_0)$ – её бесконечные производные соответствуют производной $m(A_0)$ для конкретных x [Рис. 19(а)], и её многозначность проявляется тогда и только тогда, когда $A_0(m)$ находится за пределами области полной однозначности [Рис. 19(б)]. Следовательно, вся область однозначности (для каждого типа) в координатах (x, m) может быть получена путем объединения соответствующих значений m , полученных отдельно для каждого x . Как показывают дальнейшие результаты, например, Рис. 22, данный метод не вносит никаких артефактов.

Полученные области однозначности показаны на Рис. 20(а), где видно наличие характерных колебаний Лоренца-Ми. Границы по x определяются первоначальным выбором сетки. Однако нижняя граница не может быть существенно уменьшена из-за низкого контраста спектрального пика (Рис. 15). Напротив, верхняя граница x может быть существенно расширена, учитывая умеренное уменьшение максимально возможного рабочего значения для m и требуемую точность к измерению углового разрешения измеренных индикатрис. Область однозначности также может быть представлена в терминах L и A_0

[Рис. 20(б)], что способствует лучшему пониманию различий между двумя областями. Априорная область однозначности изначально определяется в терминах x и m , и соответствующие частицы гарантированно попадают в априорную область (L, A_0) , но не наоборот. Другими словами, эта область играет второстепенную роль и может использоваться только для дополнительной проверки согласованности. В отличие от этого, область полной однозначности изначально определяется в терминах L и A_0 , но имеет взаимно однозначное соответствие с областью (x, m) . Таким образом, любая частица, чей сигнал оказывается внутри области (L, A_0) , может быть однозначно охарактеризована, и любая частица с характеристиками, принадлежащими области (x, m) , гарантированно будет иметь соответствующие значения L и A_0 . Аналогичные результаты для других амплитуд показаны на Рис. 33.

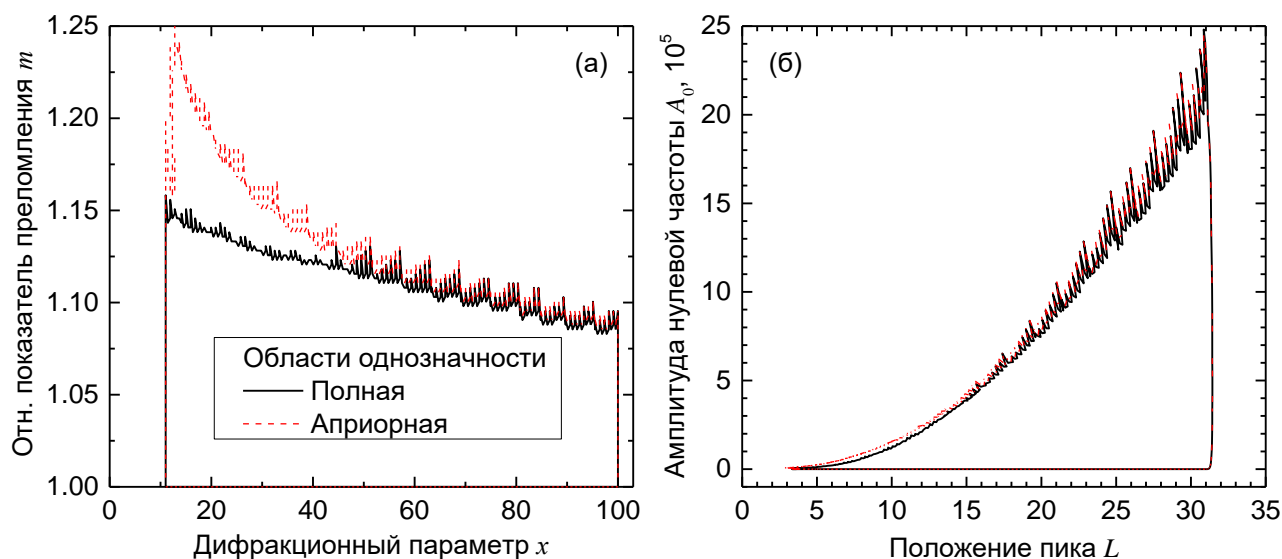


Рис. 20. Априорная и полная области однозначности в терминах x и m (а), L и A_0 (б). Левая, правая, и нижняя границы обеих областей совпадают.

Дополнительно из Рис. 20 видно сильное сходство двух областей однозначности при больших x . Это связано с поведением $A_0(m)$ для таких x , конкретный пример которого (для $x = 90$) показан на Рис. 21. Во-первых, он иллюстрирует вышеупомянутый тренд снижения амплитуды с увеличением m . Во-вторых, общий тренд роста в широком диапазоне по m (от 1 до 1.5) прерывается почти плоским «плечом» около $m = 1.1$. Следуя данному ранее определению, это плечо, содержащее незначительные колебания, определяет верхнюю границу по m обеих областей единственности. Однако игнорирование этого плеча расширит верхнюю границу до значения от 1.2 до 1.4 (см. Рис. 21) и внесет только относительно небольшие ошибки, сравнимые с экспериментальными погрешностями в определении L и A_0 . Тем не менее, было решено оставить данный вариант для будущих исследований.

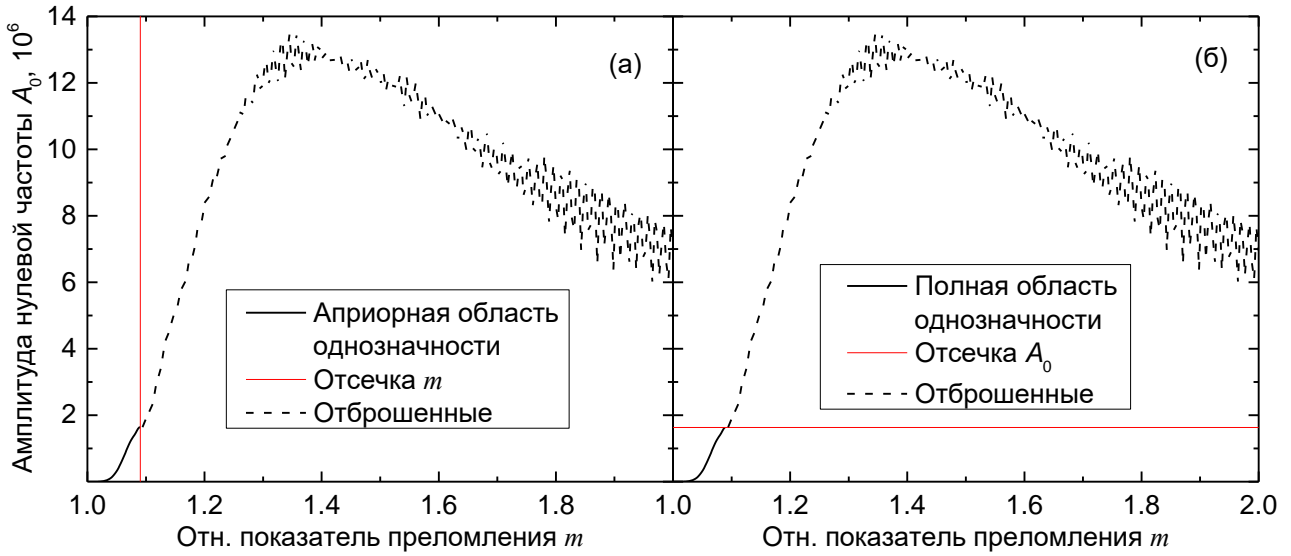


Рис. 21. То же что на Рис. 19, но для $x = 90$ и расширенного диапазона по m . Красные линии, обозначающие пороговые значения для областей однозначности, определяются тем же малым плечом.

3.1.3 Интерполяция обратного отображения.

Учитывая поточечное представление обратного отображения (Рис. 18), ограниченного областью однозначности (Рис. 20), последний шаг – сделать его легко вычисляемым для любой входящей пары (L, A_0) . Для этого была использована интерполяция, выполняемая в два этапа. Сначала была применена линейная триангуляция, чтобы спроецировать исходный нерегулярный набор точек на регулярную сетку параметров спектра. Затем, был построен билинейный интерполянт на основе данных из предыдущего шага.

Кроме того, чтобы уменьшить ошибки интерполяции, было проведено предварительное выпрямление поверхности $x(L, A_0)$ и $m(L, A_0)$, как описано ниже. По определению [Ур. (50)] A_0 – это квадрат среднего значения оконного индикатрисы. В рамках приближения Рэлея-Ганса-Дебая (16) оно пропорционально $x^2(m - 1)^2$, что означает

$$A_0 \sim x^4(m - 1)^4 \Rightarrow x(m - 1) \sim \sqrt[4]{A_0}. \quad (52)$$

Комбинируя это с почти линейной зависимостью между x и L , стоит определить линеаризованную амплитуду нулевой частоты как

$$B_0 \equiv \sqrt[4]{A_0}/L, \quad (53)$$

с целью, чтобы $m - 1$ был приблизительно пропорционален B_0 . Таким образом, B_0 был использован вместо A_0 в дальнейшей работе. В частности, точечная диаграмма $x(L, B_0)$ и $m(L, B_0)$ показаны на Рис. 22.

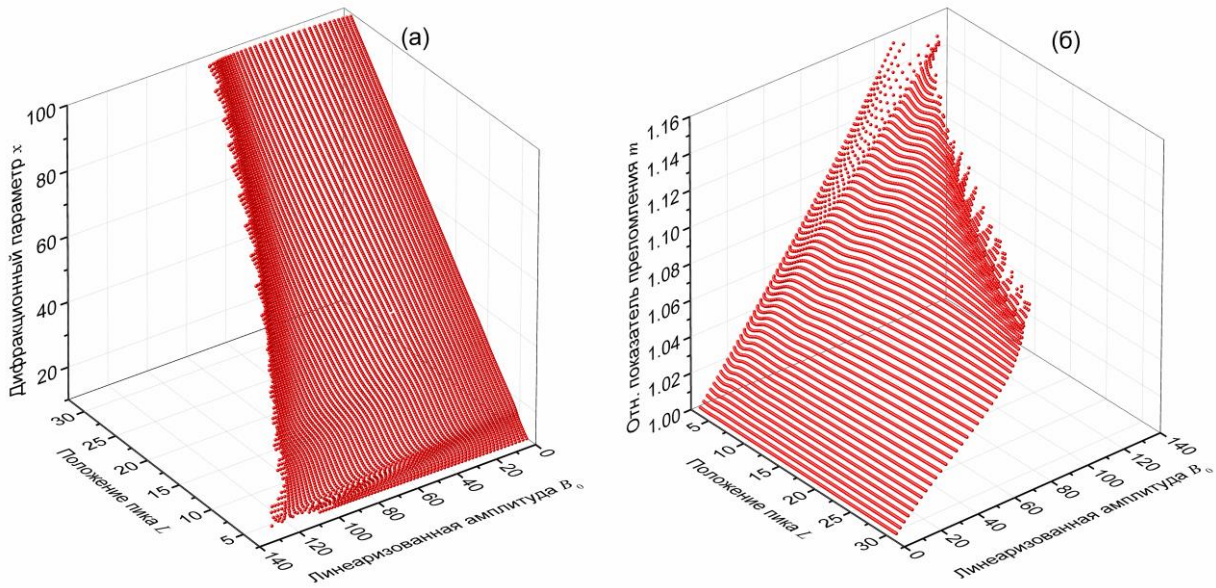


Рис. 22. То же что и на Рис. 18, но с использованием линейризованной амплитуды B_0 вместо A_0 и ограниченно полной областью однозначности.

Стоит отметить, что приближения в приведенном выше анализе не вносят ошибок, поскольку в конечном итоге интерполяция учитывает любые отклонения при достаточно плотной сетке. Полученный интерполянт вместе с промежуточной регулярной сеткой показана на Рис. 23. Процедура для других амплитуд полностью аналогична, используя следующую линейризацию:

$$B_p \equiv \sqrt[4]{A_p/L}, \quad B_p/B_0 = \sqrt[4]{A_p/A_0}. \quad (54)$$

Соответствующие интерполянты показаны на Рис. 34.

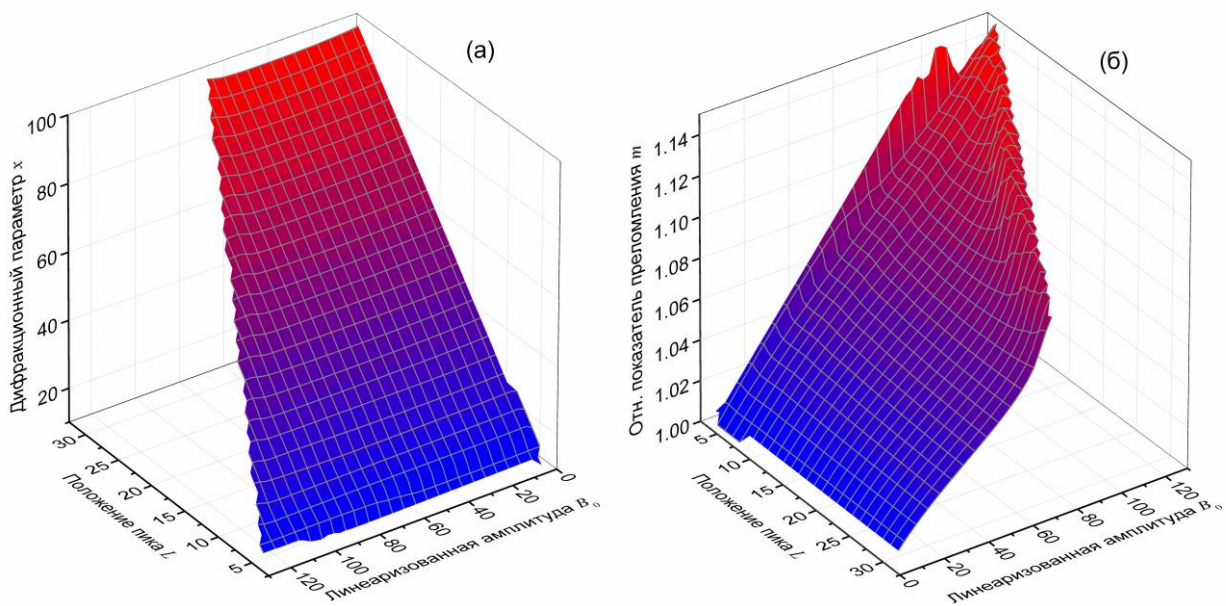


Рис. 23. То же, что и на Рис. 22, но после интерполяции на регулярную сетку. Цвет обозначает высоту (значение z координаты).

Наконец, можно заметить, что функции $x(L, B_0)$ и $m(L, B_0)$ почти линейны в данной области – это позволяет получить простые приближенные выражения. Действительно, линейная регрессия приводит к следующим соотношениям:

$$\begin{aligned} x &\approx 3.2 L, \\ m &\approx 1 + 0.066 B_0 \approx 1 + 0.135 B_p. \end{aligned} \quad (55)$$

Они построены внутри области полной однозначности, и для каждой характеристики частицы остается только главный влияющий спектральный параметр, поскольку зависимость от второго параметра хоть и незначительна, но все же сильно не линейна. В целом, Ур. (55) можно рассматривать как расширение для простейшего метода определения размера спектра [189]. Однако подробный анализ (включая ошибки) этих приближений выходит за рамки данного исследования, поскольку основной целью является строгая инверсия лежащего в основе двумерного отображения.

В заключение этого раздела отметим, что данный метод характеристики, включая приведенный выше анализ, и его эффективность, обсуждаемые далее, зависят от конкретного определения индикатрисы и её спектра. Таким образом, он не применим напрямую к другим приложениям, но общий подход можно легко повторить, чтобы построить метод характеристики заново.

3.2 Экспериментальные процедуры и тестируемые данные

Экспериментальная проверка разработанного спектрального метода характеристики основана на использовании СПЦ, который измеряет индикатрисы одиночных частиц в

диапазоне углов от 10° до 65° на длине волны падающего излучения 660 нм. Детальное описание СПЦ представлено в [88,91]. Были выбраны два соответствующих биологических объекта, которые имеют форму, близкую к сферической и (частично) попадают в область полной однозначности, обсуждаемую выше, а именно шарики молочного жира и сферизованные эритроциты. Для обоих образцов поглощением (мнимой частью ПП) на используемой длине волны можно пренебречь.

Измерения индикатрис молочного жира проводились ранее [200]. Вкратце, цельное молоко было получено от местного фермера. Перед измерением образец нагревали примерно до 20°C и разбавляли дистиллированной водой в 50 000 раз. Диапазон размеров этих шариков молочного жира составляет 0,5–6 мкм, ПП составляет 1,44–1,52. Средой являлась вода с $n_0 = 1.331$, что приводило к диапазону относительного ПП m 1.08– 1.14. В таком случае диапазон x составлял 3–38, что частично попадает в область полной однозначности [Рис. 20(а)].

Измерение эритроцитов проводилось по протоколу, описанному в [270]. После подписания информированного согласия у донора был взят образец крови путем венепункции и собран в вакуумную пробирку, содержащую антикоагулянт. Кровь была разбавлена лизирующим раствором хлорида аммония для сферизации эритроцитов. В этом случае ПП внешней среды $n_0 = 1.331$. Диапазон значений x и m составляет [35, 48] и [1.022, 1.048], соответственно, что полностью находится внутри рабочей области полной однозначности метода [Рис. 20(а)].

Оба набора данных, измеренных на СПЦ, сначала были обработаны методом нелинейной регрессии с использованием теории Лоренца-Ми, как описано в [200]. Таким образом, были получены наиболее подходящие значения и погрешности размера d и ПП n для каждой частицы. В дальнейшем они использовались в качестве эталона для оценки эффективности разработанного спектрального метода.

Дополнительно для оценки чувствительности разработанного метода к отклонениям от модели (сферической формы) были использованы синтетические данные для сфероидов [198]. Для этого была использована база индикатрис, первоначально насчитанная для характеристики шариков молочного жира [200], и взята та ее часть, что попадала в полную область однозначности. В результате получают следующие диапазоны: эквивалентный по объему диаметр $d_v \in [1.6, 6]$ мкм, отношение полуосей $\varepsilon \in [1, 1.41]$, $n \in [1.44, 1.48]$ (при $n_0 = 1.343$) и диапазон ориентации относительно падающего луча $[0^\circ, 90^\circ]$ Для расчета индикатрис был использован метод Т-матриц [25].

3.3 Результаты и обсуждения

3.3.1 Шарики молочного жира

При переходе к экспериментальным сигналам начинают возникать соответствующие искажения. В то время как однородный белый шум почти не влияет на спектр индикатрисы и, следовательно, на алгоритм решения обратной задачи, существуют и другие менее тривиальные искажения идеального сигнала шара. Например, на Рис. 24(а) представлена типичная индикатриса шарика молочного жира вместе с наиболее подходящей теоретической. Низкочастотная разница между ними похожа на пространственное размытие (скользящее среднее) и сильно влияет на спектр. В частности, это практически не влияет на L и A_0 , но значительно снижает A_p . В основном это связано с отклонением реальной формы частицы от сферической, что ожидается как для шариков молочного жира, так и для сферизованных эритроцитов (подробнее обсуждается в Главе 3). Другим фактором являются инструментальные искажения СПЦ, которые количественно схожи, но по крайней мере в два раза меньше по величине, как было оценено на основе измерения 4-х-микронных полистирольных шариков, форма которых очень близка к идеальной. Также они не будут обсуждаться далее, поскольку выходят за рамки обеих областей однозначности разработанного метода характеристики. Стоит обратить внимание, что ниже показаны реальные параметры измеряемых частиц (d и n) в отличие от безразмерных (x и m), используемых в других разделах.

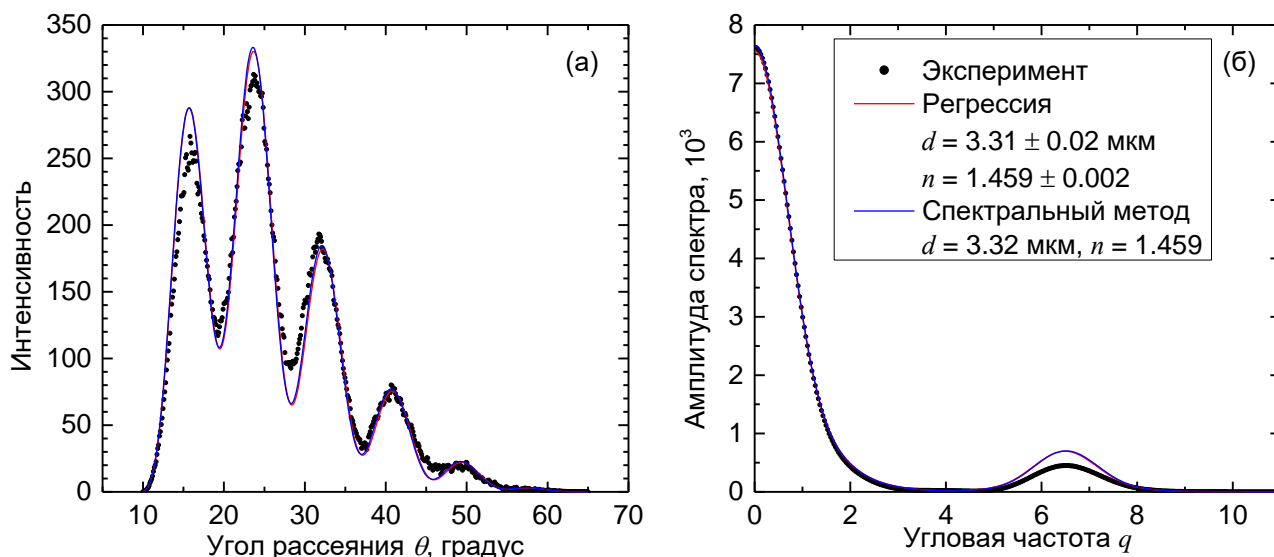


Рис. 24. Оконные индикатрисы (а) и их спектры мощности (б) для шарика молочного жира. Показана как экспериментальные, так и теоретические сигналы. Последние соответствуют характеристикам, полученным из подхода нелинейной регрессии и с помощью разработанного спектрального метода с параметрами (L, A_0). Значения отражены в легенде. Для регрессии представлены оценки ошибок (\pm), соответствующие одному стандартному отклонению.

На Рис. 24 также показана индикатриса, рассчитанная на основе характеристик, полученных с помощью спектрального метода с используемыми параметрами (L, A_0) . Естественно, что её спектр мощности согласуется с экспериментальным, и спектром индикатрисы регрессии в этих двух параметрах. Однако хорошее согласие спектрального метода и регрессии в целом, исходя из совпадения полученных характеристик [Рис. 24(а)] несколько удивляет. Важно отметить, что простейшая аппроксимация методом наименьших квадратов – это минимизация одной конкретной нормы ошибки, которая не совсем соответствует сложной структуре невязки. Тем не менее, эти два разных подхода дают очень близкие значения, что добавляет уверенности в их применении.

Из Рис. 24(б) также видно, что обе другие спектральные амплитуды (A_p и A_p/A_0) гораздо более чувствительны к ошибкам модели. Это проиллюстрировано на Рис. 35, на котором показаны большие различия как в индикатрисах, так и в их спектрах мощности, что приводит к систематическим ошибкам в полученных характеристиках (в основном для n). Следовательно, для всех рассмотренных экспериментальных целей (см. также раздел 3.3.2) амплитуда A_0 явно более устойчива по отношению к искажениям и приводит к более точному результату. Поэтому она рассматривается как основная для спектрального метода, оставляя две другие в разделе 3.4.

Обработывая всю популяцию на Рис. 25, была использована полная область однозначности, таким образом, часть образца с меньшими и большими размерами (около 53%) была отброшена. Всего была обработана 5181 частица. Согласие между предложенным методом и стандартной регрессией очень хорошее как с точки зрения полного распределения, так и его суммарных параметров. Также были опробованы две другие спектральные амплитуды в качестве спектральных параметров. Их результаты показаны на Рис. 36. Однако результаты определенно хуже из-за систематического сдвига по n , что соответствует результатам для одиночных частиц, обсуждаемым выше. Более того, меньшее количество частиц попадает в области однозначности, следовательно, параметры распределений по всей выборке (показанные в легендах) нельзя сравнивать напрямую.

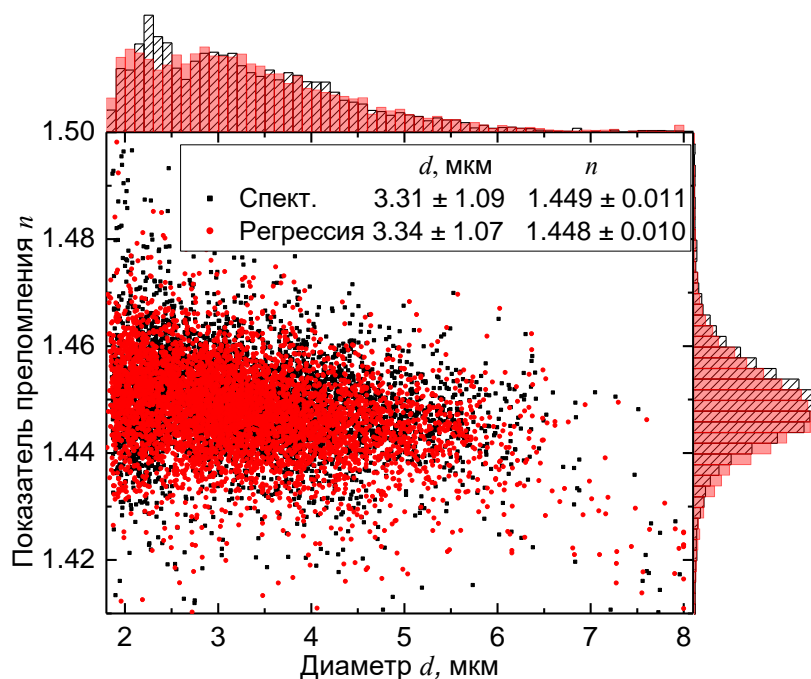


Рис. 25. Точечная диаграмма характеристик шариков молочного жира, полученных с помощью спектрального метода на основе (L, A_0) и метода наименьших квадратов (5181 частица). Также в легенде можно видеть среднее и стандартное отклонение (\pm) для распределений полученных характеристик, показанных сверху и справа; черные и красные бины относятся к спектральному методу и регрессии соответственно.

Преимущество принципиально более сложного метода, как нелинейная регрессия, состоит в том, что она дополнительно обеспечивает оценку ошибки для каждой характеристики, что можно рассматривать как наилучшую возможную точность для данного экспериментального измерения. Эти оценки были использованы для более подробного сравнения методов. Как показано на Рис. 26, существует корреляция между разницей характеристик двух методов и погрешностью регрессии. Более того, данные примерно симметричны относительно линии единичного наклона, что позволяет предположить, что точность спектрального метода в целом сопоставима с точностью метода нелинейной регрессии. Более того, наибольшие отклонения от линии чаще всего возникают при небольшой разнице в характеристиках, то есть там, где оба метода достаточно хороши для большинства практических целей. Хотя, не зная реальных характеристик измеряемых частиц, невозможно напрямую оценить точность спектрального метода, но можно утверждать, что эта ошибка меньше, чем разница между двумя этими методами плюс погрешность регрессии. Таким образом, Рис. 26 показывает, что для многих частиц спектральный метод обеспечивает точность лучше 100 нм и 0,01 по d и n соответственно.

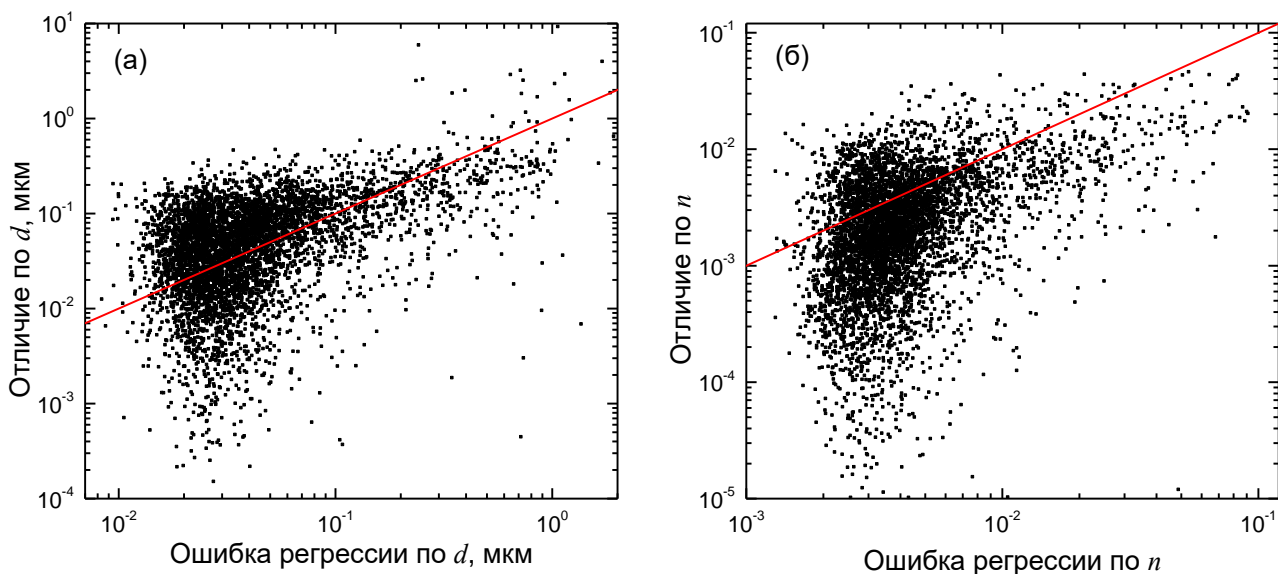


Рис. 26. Точечная диаграмма разницы между характеристиками d (а) или n (б), полученных с помощью метода наименьших квадратов и спектрального метода, в зависимости от погрешности предоставленной в рамках регрессии. Прямая линия с единичным наклоном показана для демонстрационных целей. Исходные данные такие же как и в Рис. 25.

3.3.2 Сферизованные эритроциты

Анализ сферизованных эритроцитов полностью аналогичен анализу шариков молочного жира (раздел 3.3.1). Всего было обработано 4483 частицы, все они удовлетворяют пределам полной области однозначности. Результаты показаны на Рис. 27 и Рис. 28. Как и в случае молочного жира, характеристики, полученные спектральным методом, очень близки к характеристикам, полученным из нелинейной регрессии, а различия между двумя методами сопоставимы с оценкой погрешности. Однако для частиц с наибольшей погрешностью, различия между методами в несколько раз меньше этой погрешности (Рис. 28). Это не означает, что точность спектрального метода выше. Напротив, это показывает, что спектральный метод обрабатывает искажения формы аналогично регрессии (см. Рис. 24). Тем не менее, эти результаты подтверждают вывод о том, что точность спектрального метода, по крайней мере, сопоставима с точностью метода нелинейной регрессии. Результаты для спектрального метода на основе A_p показаны на Рис. 37. Использование A_p/A_0 для этого эксперимента вообще невозможно, поскольку искажения (систематическое уменьшение) этого параметра смещают его за пределы обеих областей однозначности [Рис. 33(в,г)] для большинства измеренных частиц.

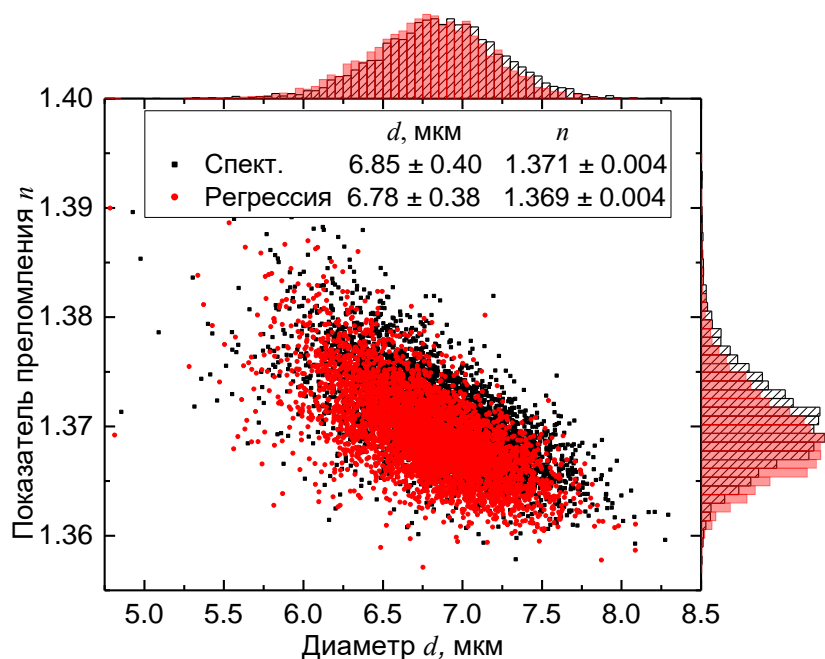


Рис. 27. То же, что и на Рис. 25, но для сферизованных эритроцитов (4483 частицы).

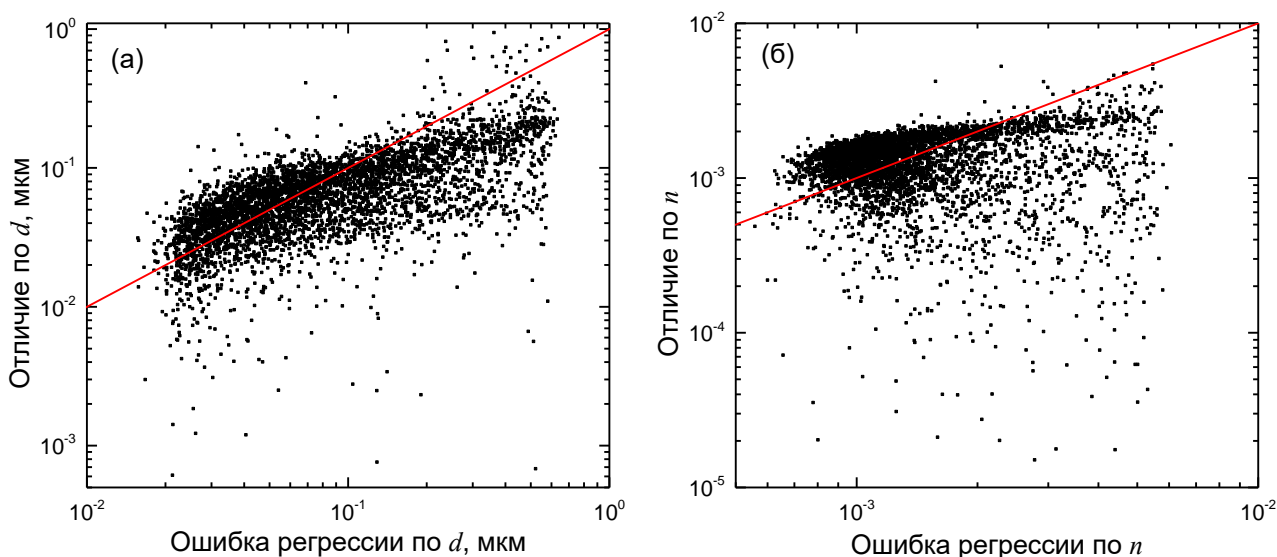


Рис. 28. То же, что и на Рис. 26, но для сферизованных эритроцитов. Исходные данные такие же, как на Рис. 28.

3.3.3 Характеризация сфероидов

Рассчитанные индикатрисы сфероидов позволили количественно исследовать влияние искажений формы. Были проанализированы 1123 синтетические индикатрисы и построен график зависимости полученной ошибки определяемых характеристик от соотношения сторон ε (Рис. 29). Для оценки ошибки определения размера был выбран эквивалентный по объему диаметр в качестве эталона, но это не влияет на следующие выводы. Во-первых, предлагаемый метод характеризации является непрерывным (стабильным) в отношении искажения формы, т.е. чем ближе частица к шару, тем меньше ошибки. Даже при $\varepsilon = 1.4$

полученные характеристики качественно верны, хотя ошибки n велики. Во-вторых, можно установить порог $\varepsilon = 1.1$, ниже которого ошибки могут считаться небольшими – в основном ниже 5% для размера (относительная ошибка) и 0.01 для ПП. Результаты с использованием двух других спектральных амплитуд, показаны на Рис. 38. Хотя будучи также непрерывны по ε , они определенно менее точны, что напрямую подтверждает гипотезу об их большей чувствительности к искажениям формы.

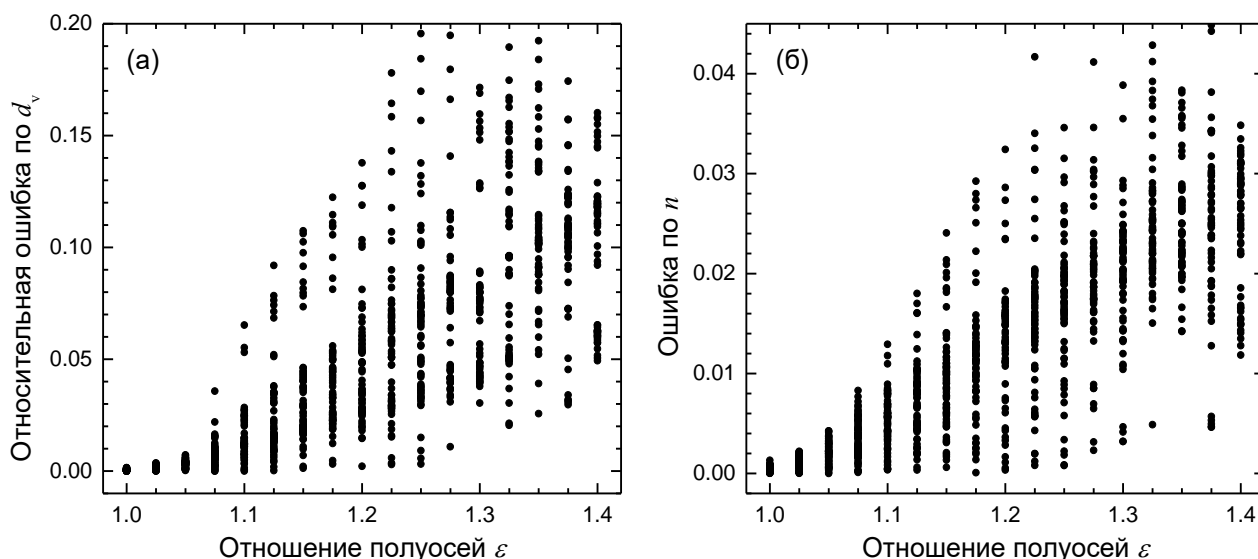


Рис. 29. Характеризация сфероидов (1123 частицы) с использованием спектрального метода основанного на (L, A_0) , показаны точечные диаграммы относительной ошибки размера d_v (а) и абсолютной ошибки n (б) в зависимости от отношения полуосей ε .

3.4 Использование других спектральных амплитуд

Здесь будут перечислены результаты использования двух других спектральных амплитуд A_p и A_p/A_0 совместно с L . Они дополняют результаты для (L, A_0) и кратко обсуждаются выше. Цель данного раздела – проиллюстрировать другие варианты комбинаций параметров. Но к сожалению, эти параметры гораздо более чувствительны к искажениям формы частиц (см., например, Рис. 35 и Рис. 38), что делает их применение явно хуже, чем использование (L, A_0) в большинстве экспериментальных условий.

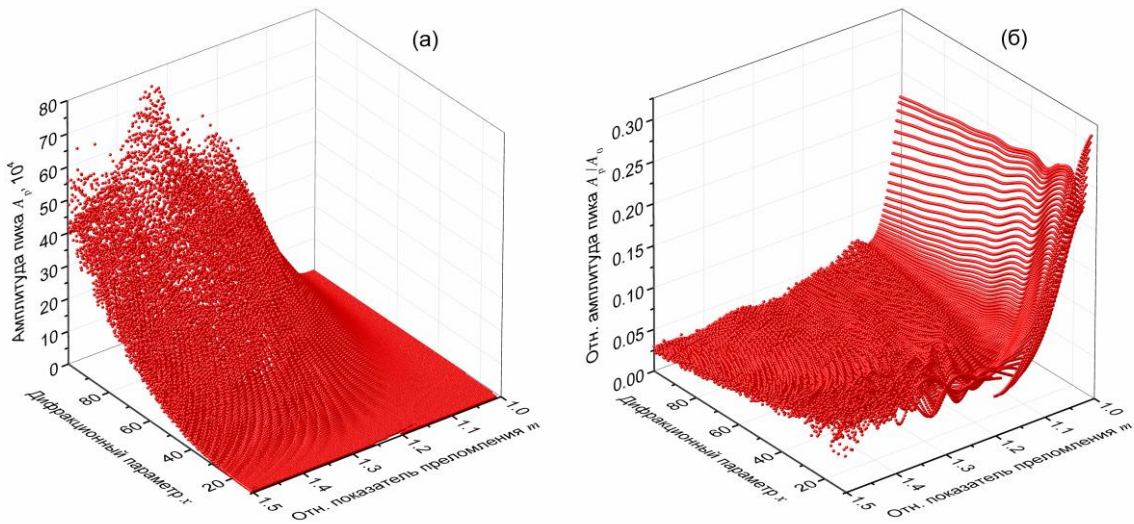


Рис. 30 То же, что и на Рис. 17(б), но для A_p (а) и A_p/A_0 (б).

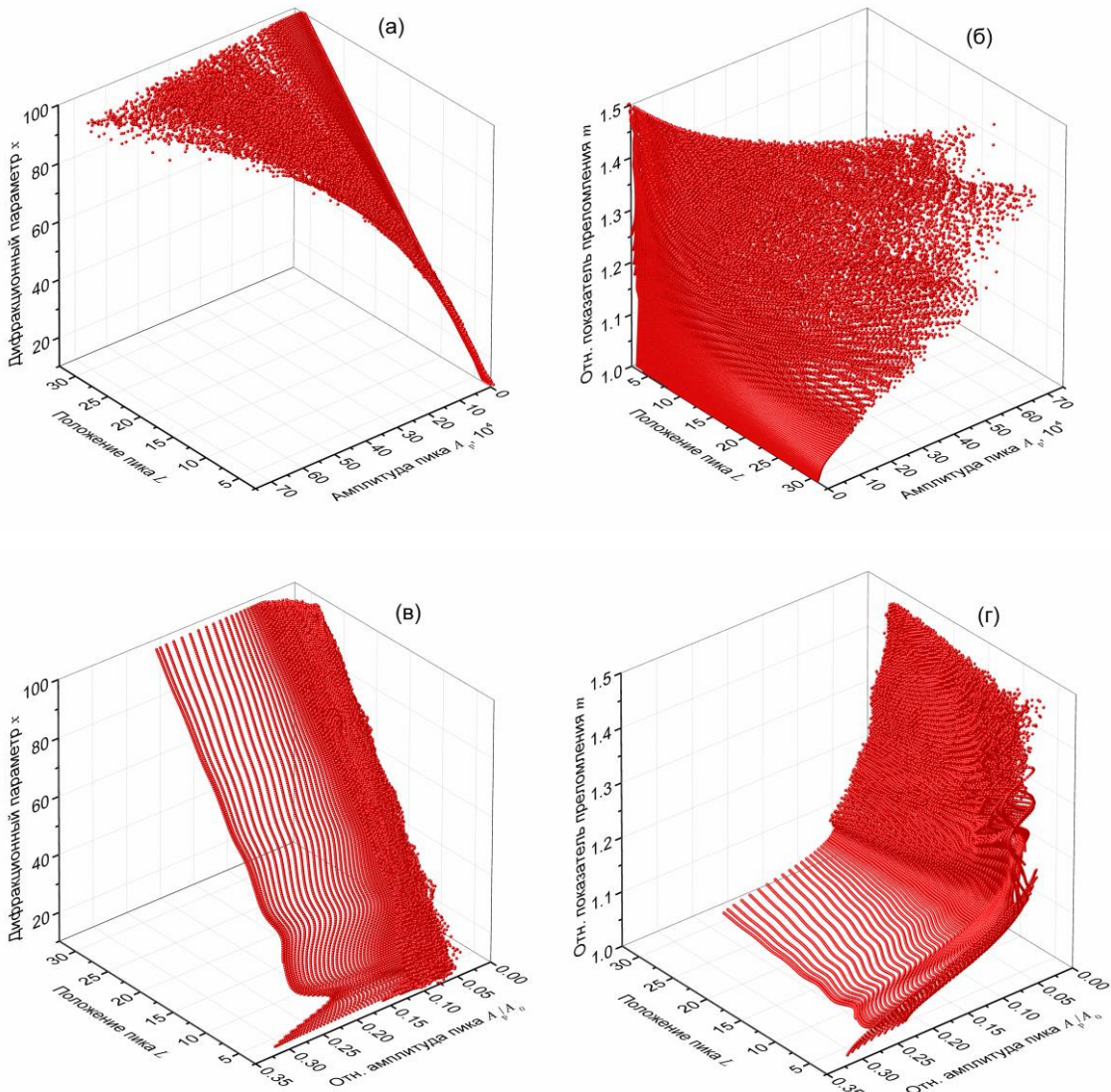


Рис. 31. То же, что и на Рис. 18, но с использованием A_p (а,б) и A_p/A_0 (в, г) в качестве второго спектрального параметра. Основано на тех же данных, что и Рис. 17(а) и Рис. 30. Для наглядности направление осей отличается на различных частях рисунка.

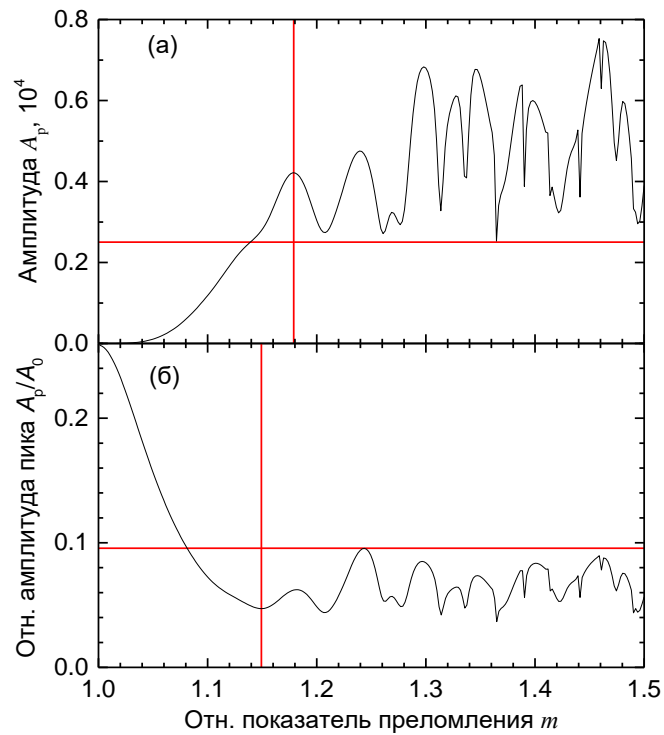


Рис. 32. То же, что и на Рис. 19, но для A_p (а) и A_p/A_0 (б). Стоит отметить, что последний является спадающей функцией от m внутри области однозначности. Красные линии обозначают пороговые значения m и амплитуды, использованные для определения соответствующих областей однозначности.

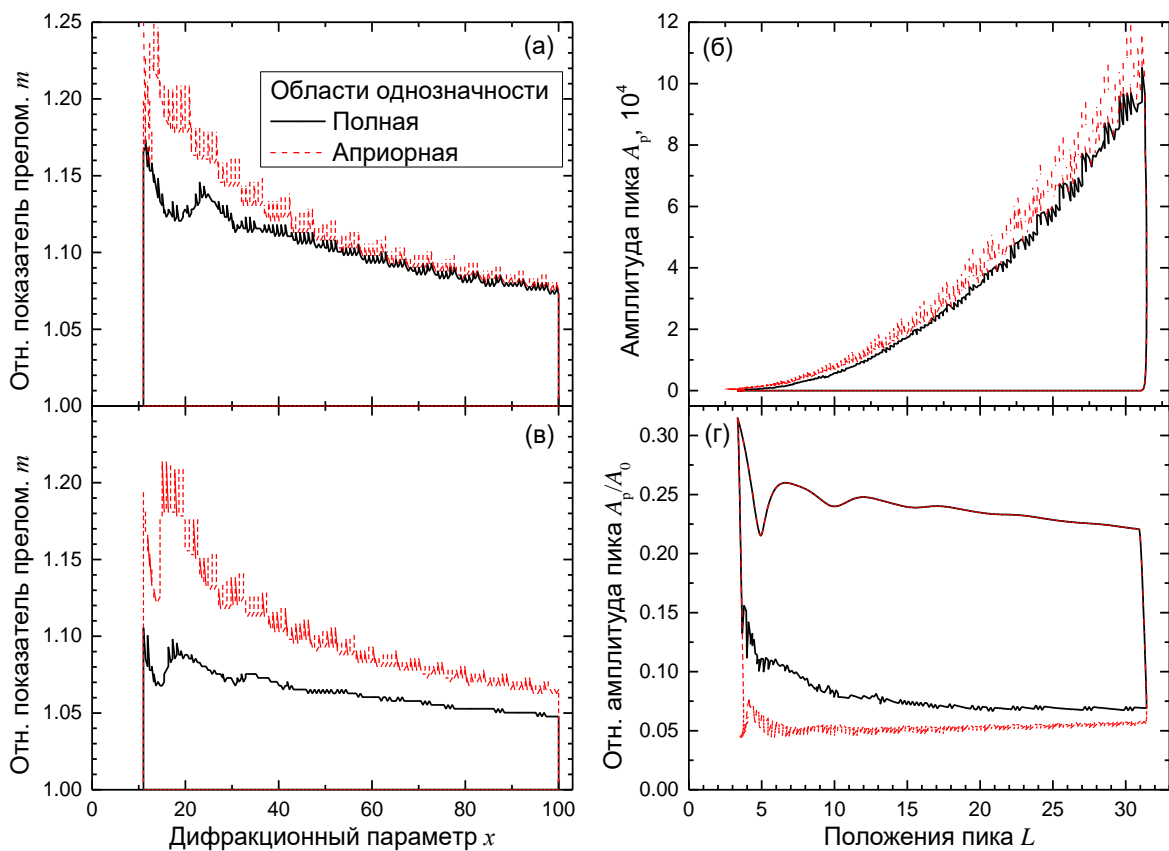


Рис. 33. То же, что и на Рис. 20, но с использованием A_p (а,б) и A_p/A_0 (в, г) в качестве второго спектрального параметра. В части (г) верхние границы для обеих областей совпадают, в отличие от нижних границ как на других частях рисунка и на Рис. 20.

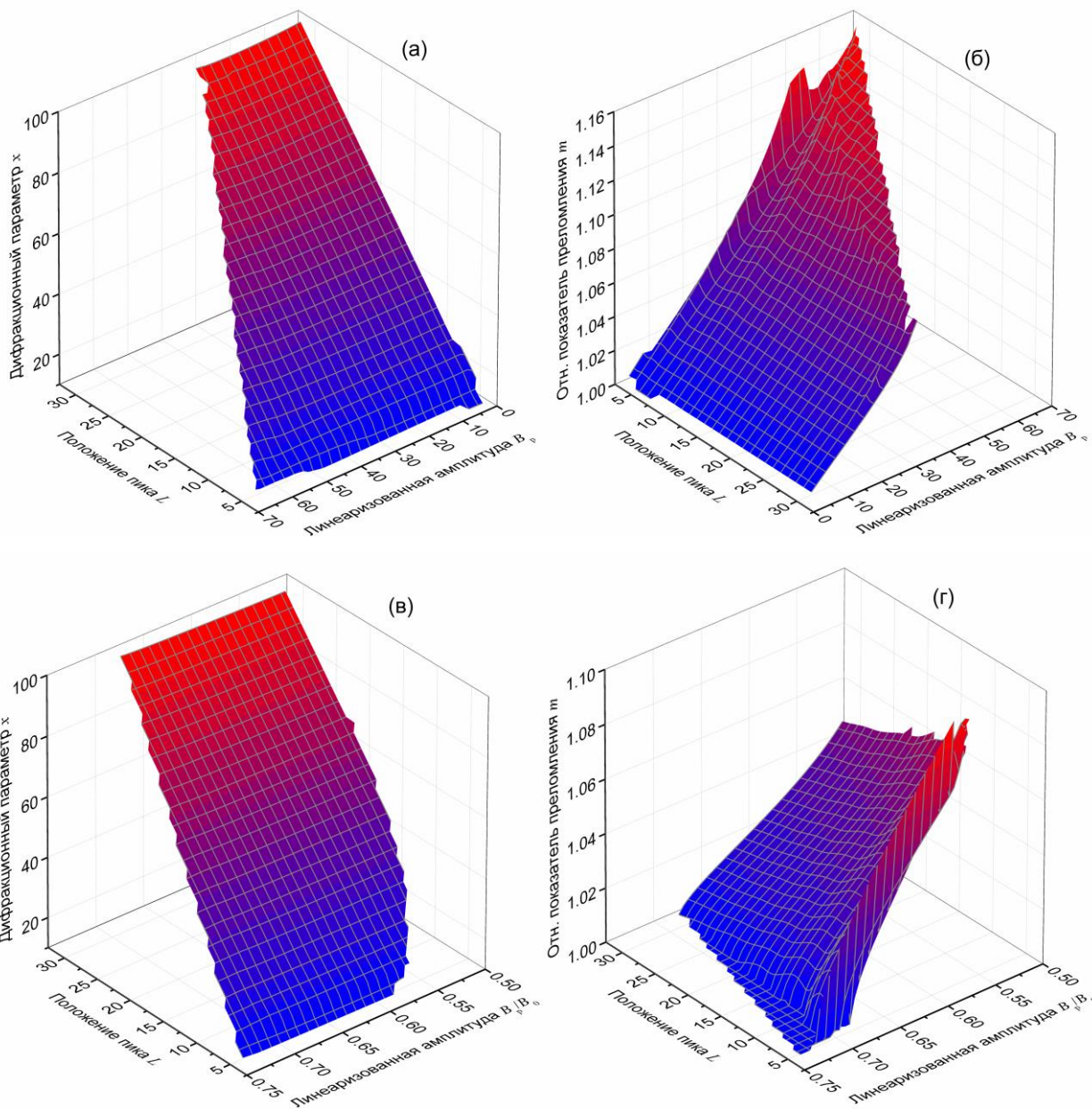


Рис. 34. То же, что и на Рис. 23, но с использованием V_p (а,б) и V_p/B_0 (в,г) в качестве спектральных параметров. Использована область полной однозначности, показанной на Рис. 33.

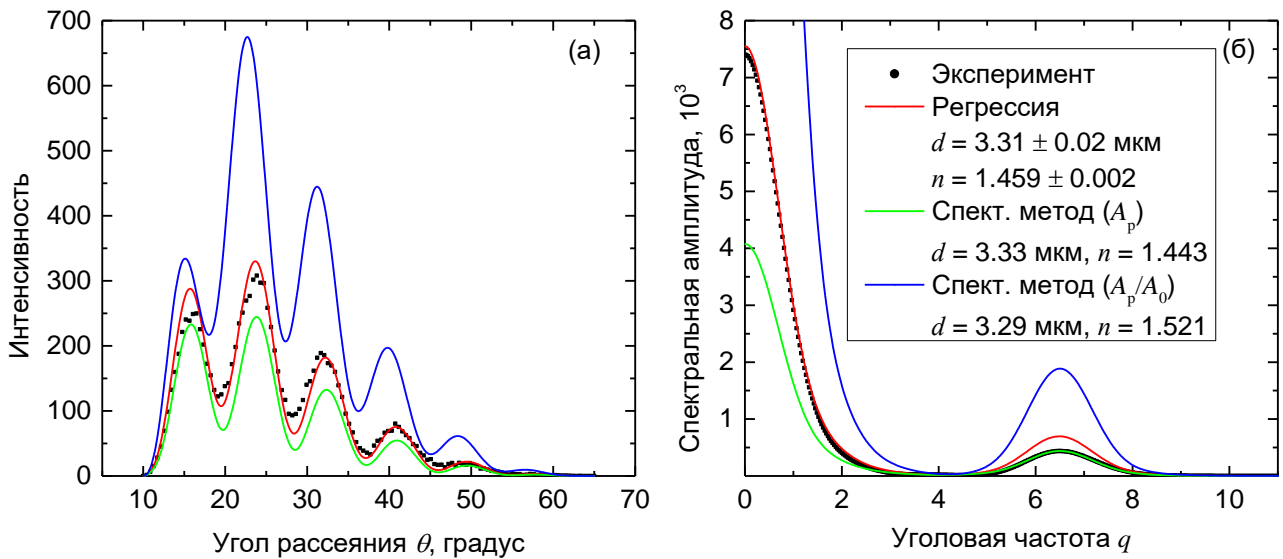


Рис. 35. То же, что и на Рис. 24, но с использованием A_p и A_p/A_0 в качестве второго спектрального параметра

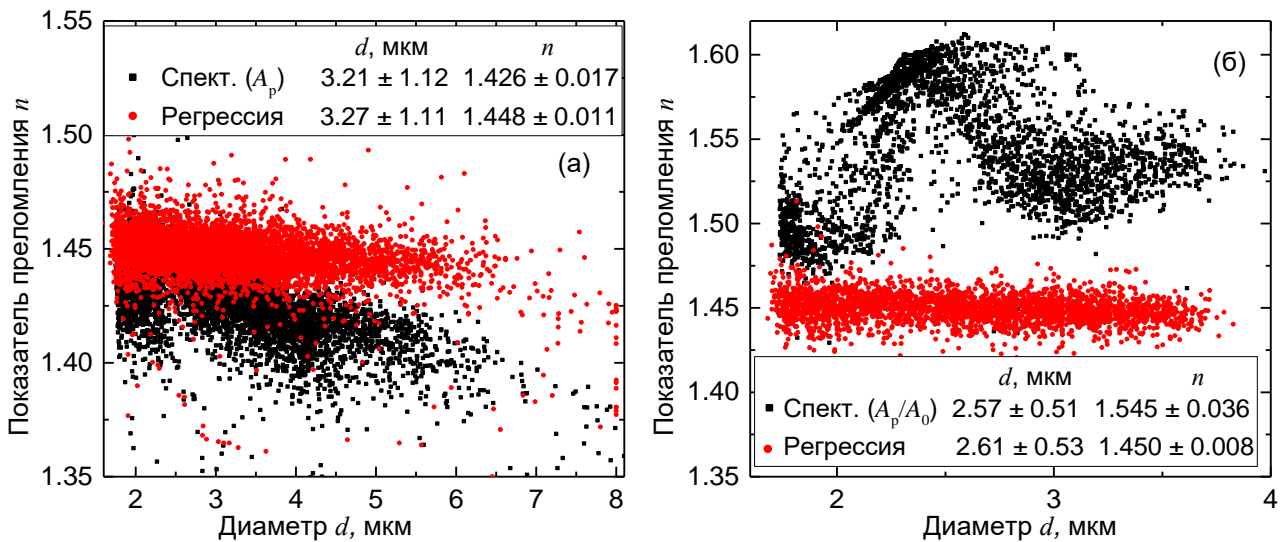


Рис. 36. То же, что и на Рис. 25, но без гистограмм и с использованием A_p (а) и A_p/A_0 (б) в качестве второго спектрального параметра. Во втором случае (б) была использована априорная область однозначности, так как почти все данные не попадали в область полной однозначности [Рис. 33(г)] из-за уменьшения значения A_p/A_0 в эксперименте. Число обработанных частиц составило 5485 и 2897 для (а) и (б) соответственно.

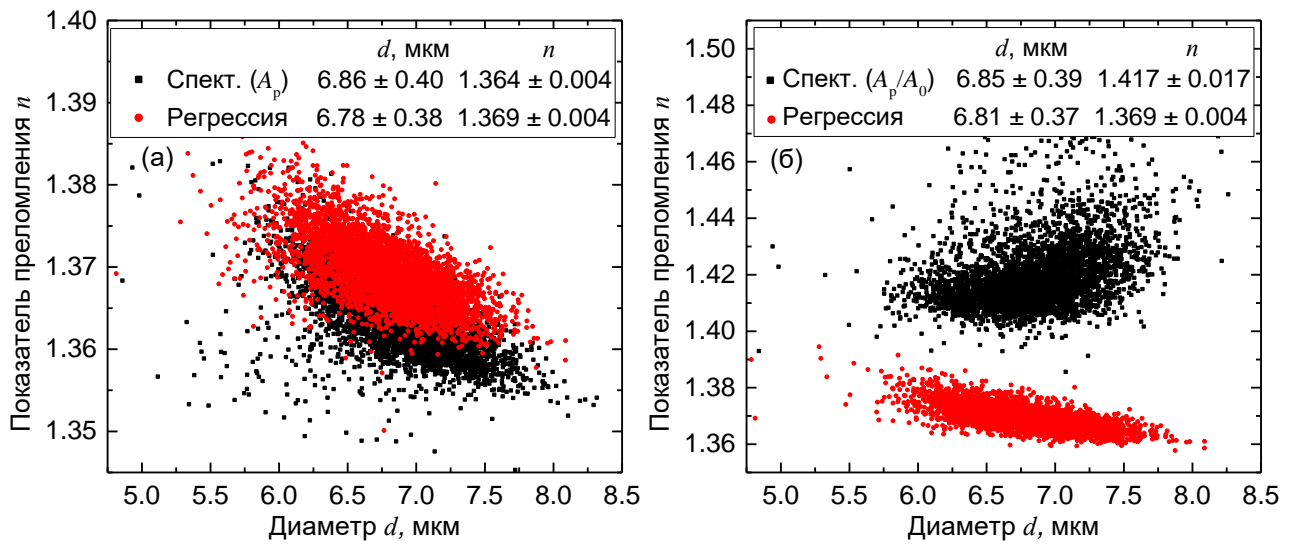


Рис. 37. То же, что и на Рис. 27, но с использованием A_p (а) и A_p/A_0 (б) в качестве второго спектрального параметра. Аналогично Рис. 36(б) была использована априорная область однозначности в (б) случае. Число обработанных частиц составило 4483 и 4271 для (а) и (б), соответственно.

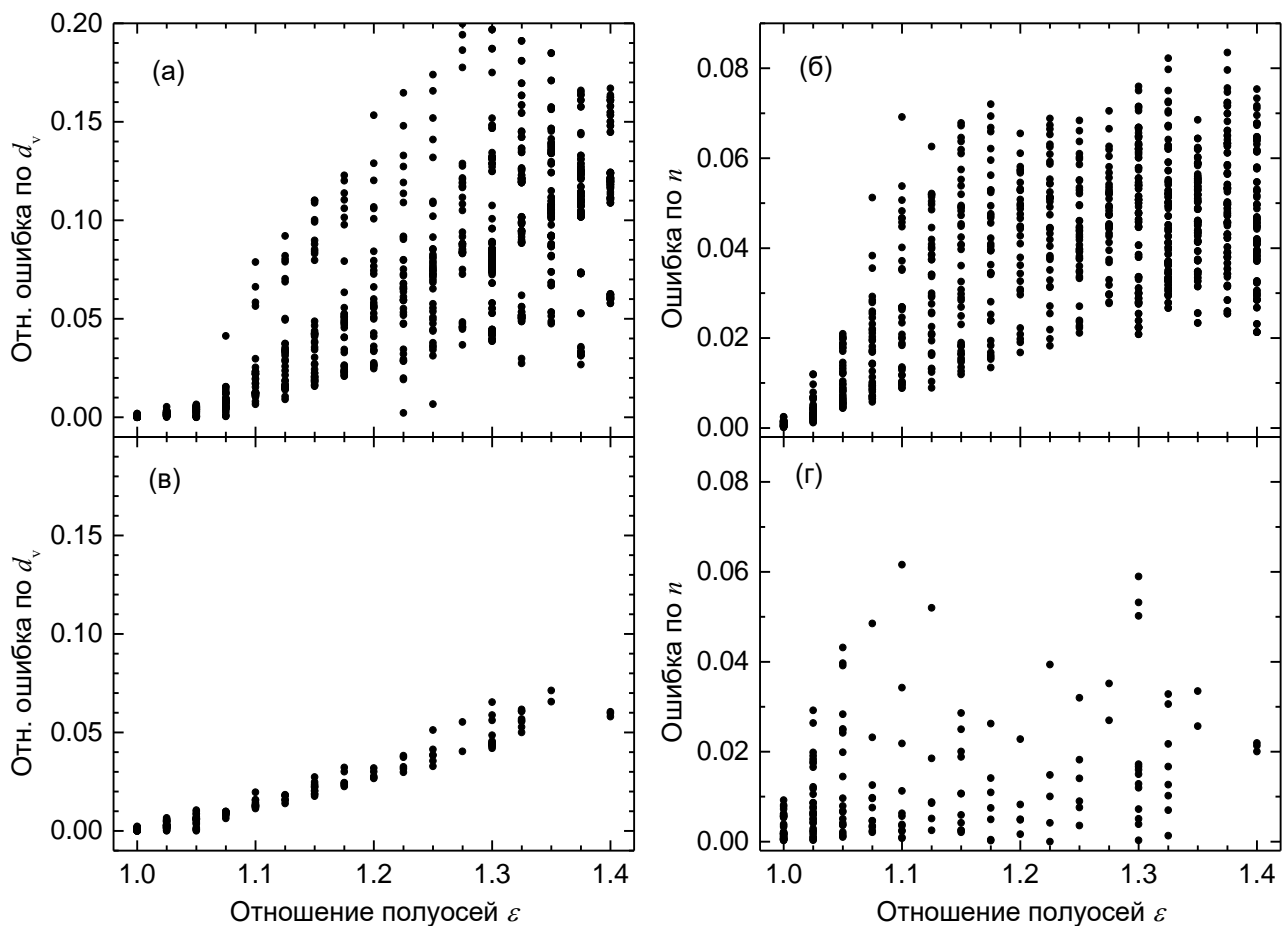


Рис. 38. То же, что и на Рис. 29, но с использованием A_p (а,б) и A_p/A_0 (в,г) в качестве второго спектрального параметра. Аналогично Рис. 36 (б) была использована априорная область однозначности в (в,г) случае. Число обработанных индикатрис составило 961 и 197 для (а,б) и (в,г) соответственно.

3.5 Использование фазы спектра для характеристики полистирольных шаров

В разделе 2.3.2 было показано, что фазовый спектр имеет зависимость от ПП. Далее (в разделе 4.3.3) будет показано, что зависимость сохраняется в достаточно большом диапазоне характеристик шара. Здесь будет представлено использование этой зависимости для характеристики полистирольных шаров. Спектр Фурье рассчитывался, используя представление

$$\mathcal{F}(v) = \frac{1}{\xi_2 - \xi_1} \int_{\xi_1}^{\xi_2} w(\xi) I(\xi) \exp(-iv\xi) d\xi \quad (56)$$

где $\xi = 2 \sin \theta/2$, аналогично разделу 4.1.

Поскольку фазовый спектр может принимать значения только от $-\pi$ до π было решено развивать метод для характеристики в диапазоне не превышающем 2π , а именно, продемонстрировать возможности характеристики полистирольных шаров.

Аналогично разделу 3.1.2 были насчитаны индикатрисы в диапазоне $d \in [44, 55]$ и $m \in [1.15, 1.22]$, у каждой были определены положение основного пика L и фаза в этой точке φ . Полученные значения фазы были однозначно скорректированы для поддержания гладкости получаемых зависимостей, а именно, если фаза была больше 1, то из нее вычиталось 2π . Полученные зависимости характеристик шара от параметров спектра представлены на Рис. 39

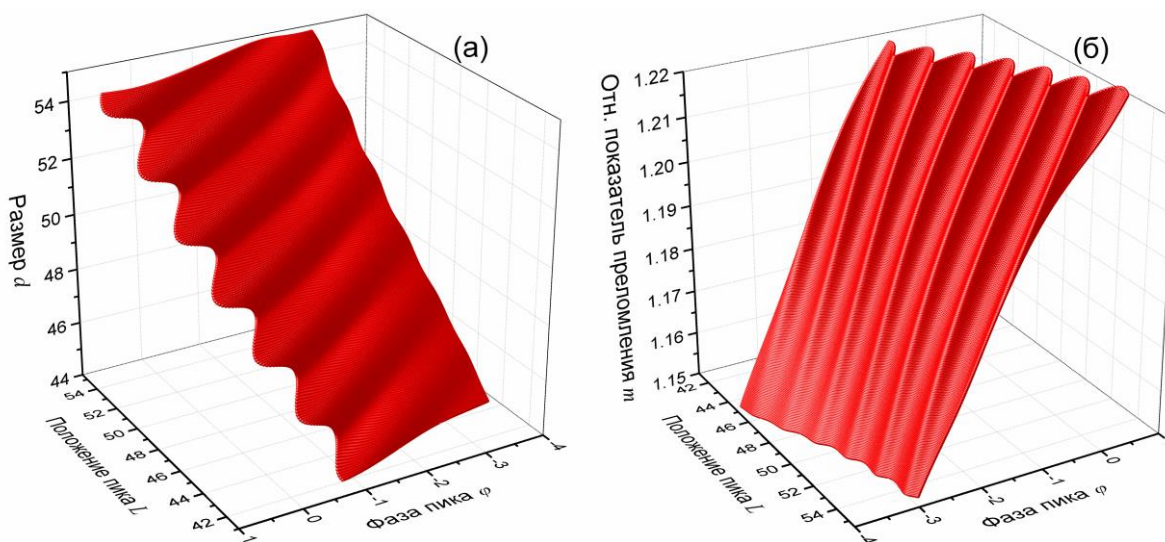


Рис. 39. Отображение параметров спектра: положения пика и значения фазы, – в размер и относительный ПП.

Интерполяция полученных отображений для ускорения работы производилась в два этапа: интерполяция на регулярную сетку параметров спектра и использование полученного

интерполянта для решения рутинных задач. Из эмпирического опыта следует, что увеличение плотности точек в регулярном интерполянте лишь незначительно повышает точность конечного решения, поэтому здесь и далее будет использована одна и та же плотность точек как для расчета прямой задачи (получение параметров спектра из характеристики мяча), так и для получения итогового интерполянта.

Как видно на Рис. 39, отображение имеет рябь, которая может иметь высокие производные и, как следствие, снижать точность решения. Поэтому была исследована зависимость точности определения характеристик от количества точек, используемых при отображении (Рис. 43). Максимальная относительная погрешность определения размера составляла сотые доли процента при 256 точках на каждую ось, что более чем достаточно для наших экспериментальных данных.

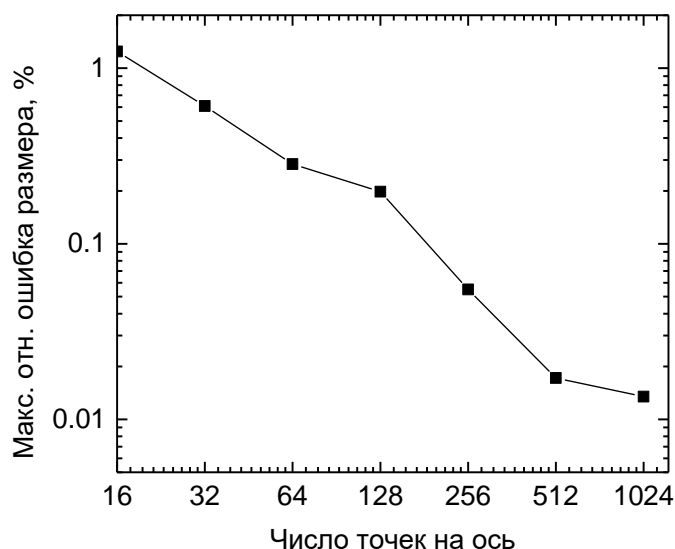


Рис. 40. Максимальный относительный размер ошибки в зависимости от количества точек на ось, используемых при построении прямого и вспомогательного (интерполяционного) отображений.

3.5.1 Экспериментальная проверка

Тестирование метода проводилось на измеренных индикатрисах полистирольных шаров и сравнение результатов с эталонным методом регрессии из работы [271]. Поскольку диапазон, в котором можно построить решение является небольшим, следует уделить больше внимания точности получаемых результатов в сравнении с эталонным методом. В отличии от раздела 3.3 для количественной оценки последней имеет место воспользоваться среднеквадратичной разницей двух сигналов (MSE):

$$\text{MSE} = \int_{\theta_1}^{\theta_2} W(\theta)^2 (I_{\text{экс}}(\theta) - I_{\text{теор}}(\theta))^2 d\theta, \quad (57)$$

где $I_{\text{эксп}}(\theta)$ – экспериментальная индикатриса, $I_{\text{теор}}(\theta)$ – индикатриса рассчитанная по теории Лоренца-Ми с характеристиками, предоставленными тем или иным методом, $W(\theta)$ – весовая функция примерно описывающая передаточную функцию СПЦ, предоставляющая равномерное распределение уровня шума по всей индикатрисе [92]:

$$W(\theta) = \frac{1^\circ}{\theta^\circ} \exp(-2 \ln(\theta^\circ/54^\circ)^2). \quad (58)$$

Мы не использовали такую количественную оценка в разделе 3.3, так как она сильно зависит от общей амплитуды сигнала и числа осцилляций в индикатрисе, что в свою очередь напрямую коррелирует с размером частицы (который там изменялся в широких пределах).

На Рис. 41 представлен пример экспериментального сигнала в сравнении с теоретическими, рассчитанными с использованием регрессии и спектрального метода. Хотя полученные результаты довольно близки и по точности сильно превышают дифракционный предел, их отличие связано с влиянием экспериментальных искажений на точное положение максимумов и минимумов в колебаниях индикатрисы, которые непосредственно влияют на используемые спектральные параметры.

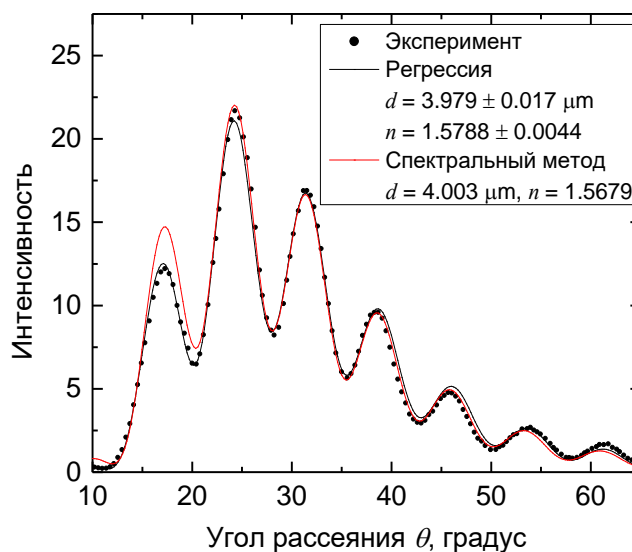


Рис. 41. Взвешенная индикатриса полистирольного шара в сравнении с теорией Лоренца-Ми. Используются характеристики полученные спектральным методом и регрессии представлены в легенде. MSE и $\log(\text{MSE})$ для спектрального метода 0.493 и -0.307 соответственно, а для регрессии 0.198 и -0.703

На Рис. 42 представлены результаты характеристики популяции полистирольных шаров. Видно, что распределение в целом совпадают по размеру, а по показателю преломления имеется заметное уширение у спектрального метода Рис. 42(а), при этом большинство частиц попадает в область одного стандартного отклонения по обеим характеристикам, полученным из регрессии. Однако несмотря на это, отличие реального сигнала от теоретического,

вычисленного из результатов обоих методов, статистически лишь немного уступает эталонному методу, что можно видеть из гистограммы Рис. 42(б).

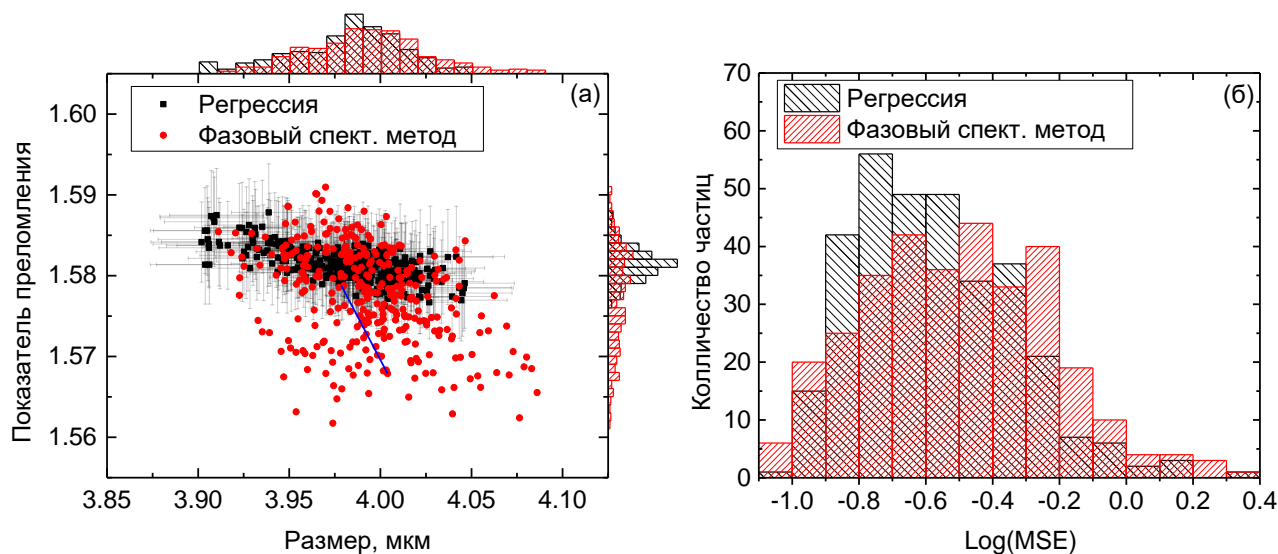


Рис. 42. Результаты характеристики полистирольных шаров спектральным методом с использованием фазового спектра и регрессии (323 частицы). Для последней представлена ошибка единичного измерения в виде одного стандартного отклонения (\pm). Также представлено сравнение получаемых MSE (см. текст) для каждого метода в виде гистограммы по десятичному логарифму. Синяя линия соединяет характеристики частицы, представленной на Рис. 41.

3.6 Заключение

Был разработан быстрый метод определения размера и ПП одиночного однородного шара по Фурье спектру мощности его индикатрисы рассеяния. Преследуя цель создания максимально простого и надежного алгоритма, было решено использовать только два спектральных параметра – положение ненулевого пика (основной частоты в спектре картины рассеяния) L и амплитуда нулевой частоты A_0 . Получившийся метод основан на интерполяции обратного отображения из пространства характеристик частицы x и t в пространство спектральных параметров L и A_0 . И как следствие, он работает только внутри области однозначности этого отображения. Для построения этой области были протестированы два подхода: на основе априорных предположений о диапазонах x и t и с использованием только измеренных параметров L и A_0 . Спектральный пик не может быть надежно разрешен относительно пика нулевой частоты для $x < 11$, в то время как предел для больших x был произвольно установлен на 100. Для меньших x априорная и полная область однозначности t составляет от 1 до 1.15 и 1.25 соответственно, в то время как для больших x верхняя граница t колеблется со снижением до 1.1 при росте x .

Разработанный метод был протестирован на двух экспериментальных объектах: шариках молочного жира и сферизованных эритроцитах – и показал точность не хуже, чем эталонный метод, основанный на нелинейной регрессии методом наименьших квадратов с использованием теории Лоренца-Ми. Более того, для частиц со значительным отклонением от сферической формы спектральный метод был намного ближе к результату регрессии теорией Лоренца-Ми, чем размер оценки погрешности последней. Также спектральный метод был протестирован на синтетических индикатрисах сфероидов с отношением полуосей ε до 1.4. Результаты качественно совпадают для всех случаев, однако хорошая точность (относительная погрешность d_v и абсолютная погрешность n менее 5% и 0,01 соответственно) систематически была получена только для $\varepsilon < 1.1$.

Основным преимуществом метода является его скорость – около 1 мс для одной индикатрисы на персональном компьютере, что как минимум в 1000 раз быстрее, чем прямая регрессия. Это позволяет использовать его в новых приложениях, например, в других алгоритмах итеративной оптимизации. Более того, метод не дает никаких оценок качества входных данных или погрешностей выходных характеристик; их можно получить только, рассматривая дополнительные параметры либо индикатрисы, либо ее спектра. Устойчивость метода к искажениям формы частицы и даже инструментальным искажениям связана с удачным выбором A_0 в качестве второго спектрального параметра. Методы, основанные на двух других протестированных параметрах: абсолютной и относительной амплитудах ненулевого спектрального пика – отлично справились с идеальными данными, но привели к большим систематическим сдвигам при наличии даже незначительных искажений формы. Следовательно, они во всех случаях во многом уступали методу, основанному на A_0 .

Продемонстрированы возможности характеристики с использованием фазы основного пика в качестве второго спектрального параметра. Основным ограничением выступила цикличность фазы, которая позволяет решить задачу только в некотором заранее выбранном промежутке по ПП. В данном случае было реализовано решение в области четырехмикронных полистирольных шаров. Построенный метод был протестирован на экспериментальных данных где показал высокую степень согласия с эталонным методом.

Важно отметить, помимо построенных методов определения характеристик для конкретной экспериментальной конфигурации, были предоставлены все необходимые детали и описания потенциальных проблем для их имплементации в другие возможные экспериментальные установки, способные измерять разрешенную по углу индикатрису рассеяния одиночной частицы.

Глава 4. Спектральный метод оценки несферичности

Как уже обсуждалось ранее, универсальное решение ОЗС (восстановление функции ПП в пространстве) возможно только при наличии некоторых ограничений, например, приближения слабого рассеяния, или сложного измерения фазы рассеянного поля. Кроме того, все эти варианты требуют большого количества экспериментальных данных. Следовательно, большинство практических применений по-прежнему прибегают к модельному подходу описанному в разделе 1.3, что особенно актуально при измерении непрерывного сигнала разрешенного по углу светорассеяния (индикатрисы). В таких случаях наиболее распространенным и очевидным подходом является прямая регрессия экспериментальных индикатрис к решению прямой задачи (моделированию), где вычислительные трудности связаны с поиском глобального минимума (раздел 1.3.2). Спектральные методы относятся к классу подходов (раздел 1.3.1), которые сжимают весь сигнал рассеяния в несколько параметров его спектра Фурье. Их преимущество – низкие вычислительные затраты (для инвертирования низкомерной карты) с сопоставимой точностью для реальных экспериментальных данных и устойчивостью по отношению к различным видам искажений.

Зачастую не ясно, насколько верно те или иные модели описывают исследуемые частицы. Во многих случаях отклонение от этой модели трудно контролировать независимо, что может привести к неконтролируемым ошибкам в результатах характеристики. Другими словами, невозможно надежно различить отклонения от модели и экспериментальные искажения, не оценивая порядок этого отклонения. Особенно остро эта проблема неопределенности модели стоит для однородного шара.

Есть два основных способа определения несферичности у исследуемых частиц. Во-первых, можно использовать поляризационные измерения оптических величин, которые должны быть равны нулю для идеальных шаров. Такой подход широко используется для суспензий (частиц со случайной ориентацией) [272,273] и был продемонстрирован для отдельных частиц в поляризационной сканирующей проточной цитометрии [91], хотя здесь получение высокого отношения сигнал/шум до сих пор является серьезной технической проблемой. В качестве альтернативы, если измеряются двумерные индикатрисы отдельных частиц, несферичность проявляется в их вращательной асимметрии [126]; однако этот подход не может обнаружить осесимметричные несферические частицы, ориентированные параллельно падающему излучению. Во-вторых, можно напрямую попытаться подогнать экспериментальную индикатрису сферической моделью. Примеры включают частицы аэрозоля кварца и хлорида натрия [274], частицы волокон диоксида кремния [275], продукты сжигания угля [276] и шарики молочного жира [200]. Однако для статистического исключения

одной модели всегда требуется другая. Это приводит к неоднозначности (зависимости от априорных предположений) и потенциальным случаям, когда и шар, и альтернативная модель неплохо описывают измеренные данные. В меньшей степени это относится к тестированию потенциально надежных методов, например, спектральный метод определения размера [215]. Невозможность проверить все многообразие несферических форм вынуждает прибегать к тестированию только на нескольких классах.

Цель данной главы – разработать метод обнаружения небольших отклонений отдельных частиц от сферической формы на основе измеренных одномерных индикатрис без каких-либо предположений об альтернативной модели. Концептуально идея состоит в том, что полученный спектральный параметр имеет сильную зависимость от несферичности, но слабую от других характеристик модели и возможных экспериментальных искажений. Помимо чувствительного обнаружения (или классификации) несферичности, этот параметр позволяет решать обратную задачу, то есть количественно оценивать несферичность. Данную главу можно рассматривать как развитие спектрального метода характеристики шара (Глава 3), где соответствующие параметры амплитудного спектра были специально разработаны так, чтобы быть нечувствительными к несферичности частицы, что частично объясняет широкое и надежное использование амплитудного спектра для решения ОЗС для шара. Поэтому в данной главе большое внимание уделяется фазовому спектру.

4.1 Экспериментальная индикатриса и Фурье преобразование

В соответствии с экспериментальной установкой, сканирующим проточным цитометром (СПЦ), индикатриса определяется как интенсивность светорассеяния, а именно элементы S_{11} и S_{14} матрицы Мюллера, проинтегрированные по азимутальному углу и рассматриваемые в зависимости от полярного угла в диапазоне от $\theta_1 = 10^\circ$ до $\theta_2 = 65^\circ$:

$$I(\theta) = \frac{1}{2\pi} \int_0^{2\pi} [S_{11}(\theta, \phi) + S_{14}(\theta, \phi)] d\phi, \quad (59)$$

где интеграл от S_{14} в точности равен нулю для любой осесимметричной частицы [216]. К последним относятся все частицы, теоретически рассмотренные в данной главе. Хотя это может быть потенциальным источником ошибок в эксперименте и возможных приложениях, нет оснований полагать, что эти ошибки будут значительными.

Здесь применяется почти такое же спектральное преобразование как и в Главе 3. А именно индикатриса также умножается на функцию окна Ханна

$$w(\theta) = \sin^2 \left(\pi \frac{\theta - \theta_1}{\theta_2 - \theta_1} \right). \quad (60)$$

Тогда Фурье спектр индикатрисы определяется как

$$\mathcal{F}(v) = \frac{1}{\theta_2 - \theta_1} \int_{\theta_1}^{\theta_2} w(\theta) I(\theta) \exp(-iv\theta) d\theta, \quad (61)$$

который нормирован таким образом, чтобы слабо зависеть от конкретного выбора углового диапазона. В отличие от преобразования в Главе 3, используется амплитудный спектр без возведения в квадрат и циклические частоты (без умножения на 2π внутри экспоненты), чтобы получить примерное равенство положения основного пика и дифракционного параметра (размера) частицы после перехода на координаты ξ в разделе 4.3.1. Практические расчеты выполняются с помощью быстрого преобразования Фурье, как представлено ниже, чтобы получить амплитудный и особенно фазовый спектр, максимально приближенный к непрерывному преобразованию. Также используется равномерная дискретизация по $N = 255$ интервалам с последующим заполнением массива нулями до $M = 4096$ точек (для увеличения спектрального разрешения):

$$\mathcal{F}(v_k) = \frac{\exp\left(-i\theta_1 \frac{2\pi k}{M \Delta\theta}\right)}{N} \sum_{j=0}^{N-1} w(\theta_1 + j\Delta\theta) I(\theta_1 + j\Delta\theta) \exp\left(-i \frac{2\pi}{M} kj\right), \quad (62)$$

где $\Delta\theta = (\theta_2 - \theta_1)/N$ и $v_k = 2\pi k/(M\Delta\theta)$. Такое же спектральное преобразование используется для функций в координатах ξ (описано ниже) с простой заменой θ на ξ .

4.2 Возможности амплитудного спектра.

В данном разделе рассматриваются особенности амплитудного спектра индикатрисы и исследуется его чувствительность к несферичности частицы. Хотя спектр мощности (то есть квадрат амплитуды) чаще используется при обработке сигналов, здесь и далее предпочтение будет отдаваться амплитудному спектру, поскольку он предполагает в дальнейшем плавный переход к фазовому и комплексному спектру. Чтобы абстрагироваться от конкретной длины волны падающего света λ и ПП основной среды n_0 , все линейные размеры в этой главе будут даны в безразмерных единицах дифракционного параметра, то есть они умножены на $2\pi n_0/\lambda$. Относительный ПП будет обозначен как $m = n/n_0$ и в дальнейшем слово «относительный» будет обычно опускаться. Также рассматриваются только непоглощающие частицы, т.е. вещественные m , и только $m > 1$. Ожидается, что случай $0 < m < 1$ может быть рассмотрен аналогичным образом, но если позволить m принимать значения по обе стороны от единицы, скорее всего, это нарушит однозначность обратной задачи во всем диапазоне характеристик частиц.

Поскольку эта глава является прямым продолжением предыдущей, индикатриса и её преобразование Фурье остаются такими же, за исключением фазового множителя в Ур. (62), связанным с началом координат (подробности см. в разделе 4.3). Пример амплитудного спектра был ранее представлен на Рис. 14 (для $d = 48$ и $m = 1.083$).

Основная идея данной главы заключается в том, что колебания, содержащиеся в индикатрисе, очень чувствительны к форме частицы. Это предположение основано на опыте работы со спектром индикатрисы и косвенно следует из других работ [124]. Основной спектральный пик как раз отвечает за большую часть этих колебаний и, следовательно, должен искажаться с любым их изменением. Остается только описать это количественно.

Из Главы 3 уже известна связь между некоторыми параметрами амплитудного спектра и характеристиками частиц. В частности, положение основного пика L (Рис. 14) сильно коррелирует с размером частицы; поэтому для достижения независимости от размера стоит сместить основной пик в начало координат (вычитая L из частоты). Также из предыдущей главы есть представление, что экспериментальные искажения проявляются в уменьшении разницы (контраста) амплитуд минимумов и максимумов индикатрисе (Рис. 43) и, как следствие, в уменьшении амплитуды основного пика A_p . Кроме того, A_p имеет зависимость от ПП. Таким образом, чтобы исключить влияние факторов, не связанных с формой частицы, спектр стоит нормировать делением его на амплитуду пика (Рис. 44).

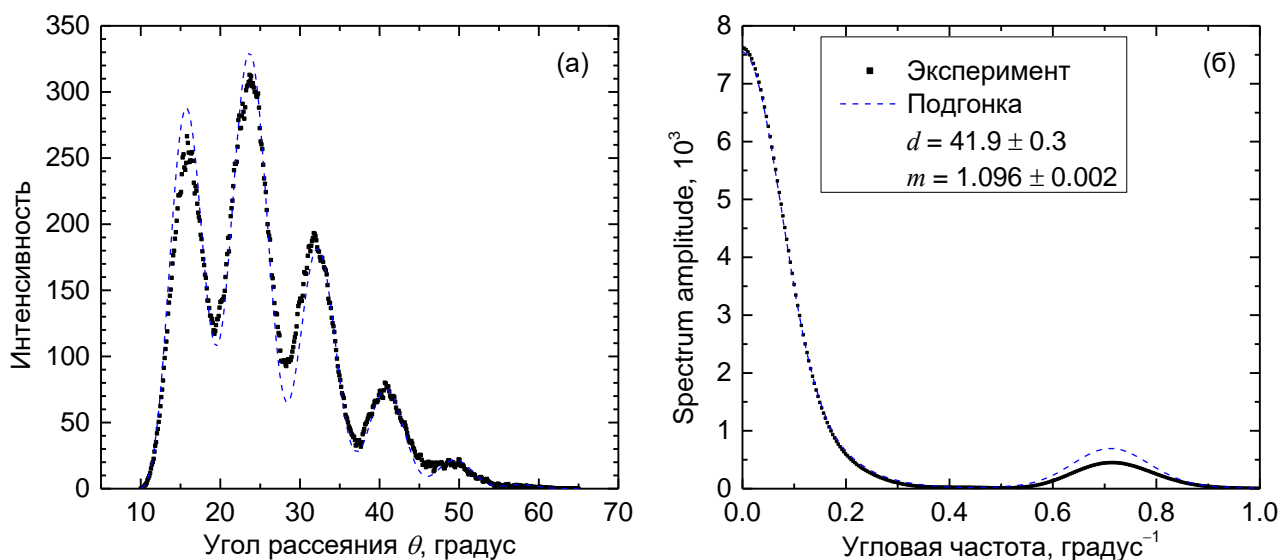


Рис. 43. Оконные индикатрисы (а) и их спектры мощности (б) для шарика молочного жира. Показаны как экспериментальные, так и теоретические сигналы. Последние соответствуют характеристикам, полученным с помощью нелинейной регрессии. Значения отражены в легенде совместно с оценкой ошибок (\pm), соответствующих одному стандартному отклонению. Взято из Главы 3.

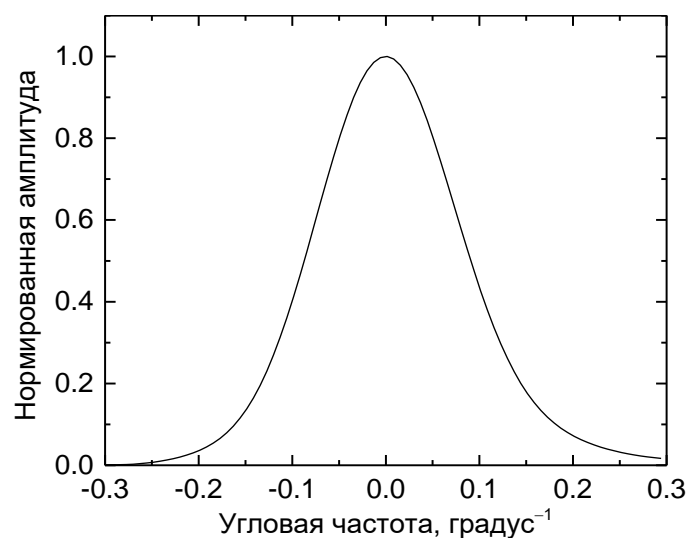


Рис. 44. Смещенный и нормированный основной пик амплитудного спектра. Та же частица, что и на Рис. 14.

Данная нормировка позволяет рассматривать только форму основного пика. Было выдвинуто предположение, что нарушение сферической симметрии частицы должно приводить к появлению дополнительных характерных частот, например, соответствующих размеру частиц по разным направлениям. Для небольших возмущений эти новые частоты должны вызывать уширение основного пика и, как следствие, увеличение интеграла нормированного пика. Последний далее рассматривается как потенциальный индикатор несферичности. Вычисление интеграла производилось по угловой частоте от $-0,3$ до $0,3$ град $^{-1}$.

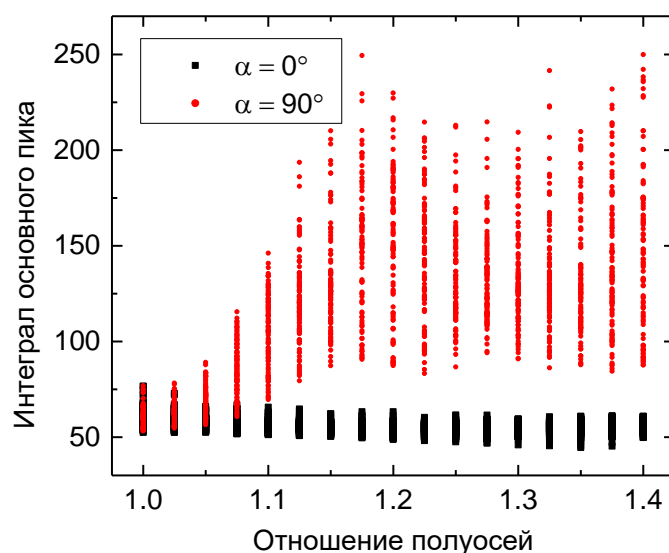


Рис. 45. Зависимость интеграла основного пика от отношения полуосей для двух разных ориентаций сфероидов. Вертикальное отклонение вызвано скрытыми характеристиками (размером и ПП).

Данный индикатор был протестирован на базе данных синтетических индикатрис сплюснутых сфероидов из раздела 3.3.3. На Рис. 45 показана зависимость интеграла пика от отношения полуосей для двух крайних ориентаций, определяемых углом между осью симметрии и направлением падения α . Хотя интеграл чувствителен к размеру и ПП (вертикальный разброс данных), он сильно зависит как от несферичности, так и от α . Касательно обнаружения несферичности, данные для $\alpha = 90^\circ$ показывают скромный потенциал, они гораздо менее чувствительны, чем параметр, разработанный далее (раздел 4.4). Что еще более важно, интеграл совершенно бесполезен при $\alpha = 0^\circ$, что можно объяснить сохранением симметрии сфероидов относительно направления падения луча. Последнее показано соответствующими индикатрисами на Рис. 46(а,б). Наблюдаются сильные искажения основного колебания при $\alpha = 35^\circ$, и почти отсутствие каких-либо изменений амплитуд колебаний при $\alpha = 0^\circ$, несмотря на то, что соотношение сторон существенно отличается от 1. Этому прямо соответствует амплитудный спектр на Рис. 46(в,г). Может показаться, что индикатрису сфероида в симметричной ориентации нельзя отличить от индикатрисы шара, но это не так (Рис. 46б). Имеются большие различия в положениях максимумов в индикатрисах для больших углов рассеяния (обсуждается в терминах фазового спектра в разделе 4.3). Отсюда следует, что амплитудный спектр, как правило, не достаточно чувствителен к несферичности частицы, что приводит к необходимости использовать дополнительную спектральную информацию.

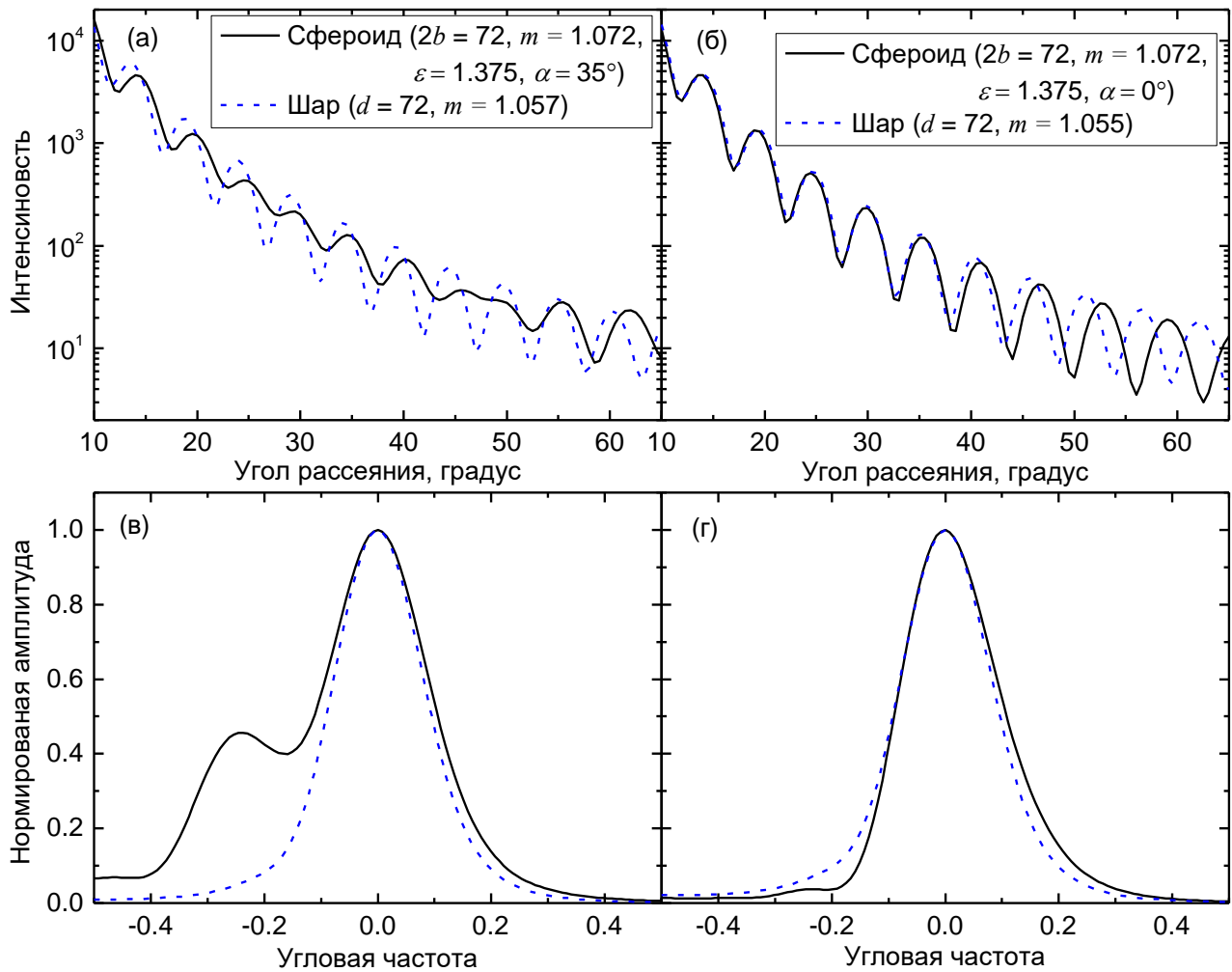


Рис. 46. Теоретические индикатрисы сфероидов ($2b$ – размер сфероида, см. след. разделы) в двух ориентациях в сравнении с наиболее близкими шарами (а, б) и нормированные основные пики их амплитудного спектра (в, г). Для лучшего визуального согласования индикатрис характеристики шаров были подобраны полуавтоматически (указаны в легенде). Здесь индикатрисы представлены без умножения на оконную функцию и в логарифмическом масштабе для лучшего последующего визуального сравнения.

4.3 Применение фазового спектра.

4.3.1 Приближение Рэлея-Ганса-Дебая

В предыдущем разделе (4.2) было показано, что амплитудный спектр практически нечувствителен к отношению полуосей сфероидов в симметричной ориентации. Ниже будет подробно проанализирован этот случай в рамках приближения РГД (рассмотренное ранее в Главе 2). В этом случае Ур. (59) с учетом Ур. (16) преобразуется в:

$$I(\theta) = \frac{V^2}{2\pi} \int_0^{2\pi} d\phi \frac{1}{8\pi^2} (m-1)^2 (1 + \cos^2\theta) R(\theta, \phi)^2, \quad (63)$$

где $R(\theta, \phi)$ – форм-фактор частицы, полностью определяемый ее геометрией, V – ее безразмерный объем. Для шара $V = \pi d^3/6$ и форм-фактор зависит только от полярного угла θ :

$$R(\theta) = \frac{3}{u^3} (\sin u - u \cos u), \quad u = d \sin \frac{\theta}{2}. \quad (64)$$

Это позволяет легко проинтегрировать интенсивность (63) по азимутальному углу ϕ и получить:

$$I(\theta) = \frac{V^2}{8\pi^2} (m-1)^2 (1 + \cos^2 \theta) R(\theta)^2. \quad (65)$$

Естественно перейти от θ к координате $\xi = 2\sin(\theta/2)$, эта замена близка к линейной на рассматриваемом интервале $[10^\circ, 65^\circ]$. Таким образом, получаем:

$$I(\xi) = \frac{V^2(m-1)^2}{8\pi^2} \left(2 - \xi^2 + \frac{\xi^4}{4}\right) \left(\frac{3}{2d^2\xi^2} \left[\frac{2}{d\xi} \sin \frac{d\xi}{2} - \cos \frac{d\xi}{2}\right]\right)^2, \quad (66)$$

где колебательная составляющая определяется выражением в квадратных скобках. Преобразуем его в:

$$\left(\frac{2}{d\xi} \sin \frac{d\xi}{2} - \cos \frac{d\xi}{2}\right)^2 = \frac{1}{2} (1 + \cos d\xi) - \frac{2}{d\xi} \sin d\xi + \frac{2}{d^2\xi^2} (1 - \cos d\xi). \quad (67)$$

Следовательно, сигнал имеет характерную частоту колебаний, равную d , которую можно определить из экспериментального сигнала с помощью спектрального анализа. Как упоминалось выше, зависимость этой частоты от размера выходит далеко за рамки применимости теории РГД [189]. В частности, аналогичное соответствие получается между положением пика в спектре $I(\theta)$ (Рис. 14), если единица измерения частоты представлена как рад^{-1} . Но здесь получено явное выражение этого явления в рамках теории РГД.

Следующим шагом является получение интенсивности рассеяния для сплюснутого сфероида. К счастью, форм-фактор сфероида [4] не сильно отличается от форм-фактора шара (65) и равен:

$$R(\theta, \phi) = \frac{3}{u^3} (\sin u - u \cos u), \quad u = \sin \frac{\theta}{2} 2a \sqrt{\frac{1 + \gamma}{1 + \gamma(1 - \cos^2 \theta')}}}, \quad (68)$$

где a – малая полуось (вдоль оси вращения), γ – квадрат эксцентриситета, θ' – угол между биссектрисой угла, образованного направлениями падения и рассеяния, и осью вращения сфероида. А именно,

$$\gamma = \left(\frac{b}{a}\right)^2 - 1, \quad \varepsilon = \frac{b}{a}, \quad (69)$$

$$\cos \theta' = \cos \frac{\theta}{2} \cos \phi \sin \alpha - \cos \alpha \sin \frac{\theta}{2}, \quad (70)$$

где ε – отношение полуосей, b – большая полуось, а α – угол ориентации (см. раздел 4.2). В терминах ξ Ур. (70) можно выразить как:

$$\cos\theta' = \sqrt{1 - \frac{\xi^2}{4} \cos\phi \sin\alpha - \cos\alpha \frac{\xi}{2}}. \quad (71)$$

Результирующая интенсивность сфероида в симметричной ориентации ($\alpha = 0^\circ$) вместе с интенсивностью шара показаны на Рис. 47, где виден сдвиг колебаний, очень похожий на тот, который наблюдался выше при строгом моделировании [Рис. 46(б)].

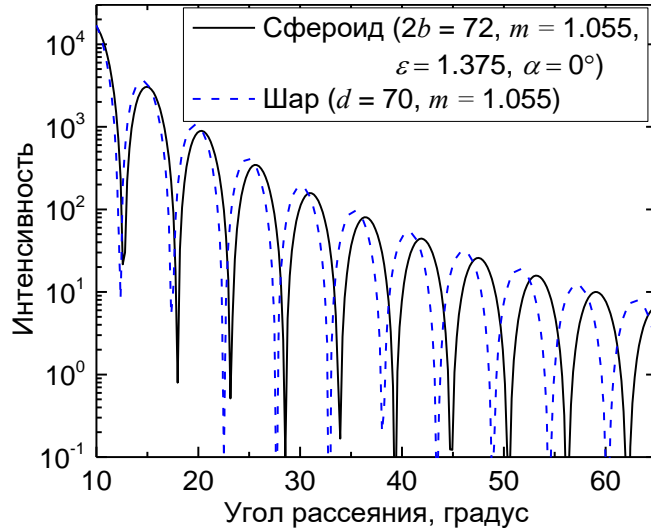


Рис. 47. Синтетические индикатрисы шара и сфероида в приближении РГД. Как и на Рис. 46, была проведена полуавтоматическая подгонка и индикатрисы представлены в логарифмическом масштабе без использования каких-либо окон.

Этот эффект можно объяснить, разложив выражение для сфероида (68) по степеням малости γ , которое по сути заменяет размер шара в (64):

$$2a \sqrt{\frac{1 + \gamma}{1 + \gamma(1 - \cos^2\theta')}} = 2a + a\gamma \left(\sqrt{1 - \frac{\xi^2}{4} \cos\phi \sin\alpha - \cos\alpha \frac{\xi}{2}} \right)^2 + \mathcal{O}(\gamma^2). \quad (72)$$

Это означает, что частота колебаний $R(\theta, \phi)$ относительно θ (или ξ) теперь, вообще говоря, зависит от ϕ . Однако эта зависимость исчезает при $\alpha = 0^\circ$, что приводит к тривиальному интегрированию в Ур. (63) аналогично шару. В этом случае результирующую индикатрису можно интерпретировать как синусоидальный сигнал с нелинейно нарастающей фазой [см. Ур. (67)]. Это объясняет, почему почти нет различий в формах амплитудного спектра пика, как показано на Рис. 48(а), что полностью аналогично строгому моделированию [Рис. 46(г)]. В то же время наблюдается значительная разница (сдвиг) в фазовом спектре, см. Рис. 48(б). Здесь и далее все значения фазы даны в радианах в диапазоне $(-\pi, \pi]$, в отличие от разделов 2.3.2 и 3.5, что влечет разрывы фазовой зависимости, в то время как преобразование Фурье применяется к функциям от ξ вместо θ . Последнее не вносит качественных изменений в спектр, но типичные значения (или сдвиги) новой частоты примерно в $180/\pi$ раз больше, чем

угловая частота в единицах град⁻¹, используемых выше. Напротив, при интегрировании несимметричных ориентаций по азимутальному углу в Ур. (63) эффективно проявляет сдвинутые (или усредненные) частоты, что приводит к более сложному амплитудному спектру вокруг пика, аналогичному показанному на Рис. 46(в).

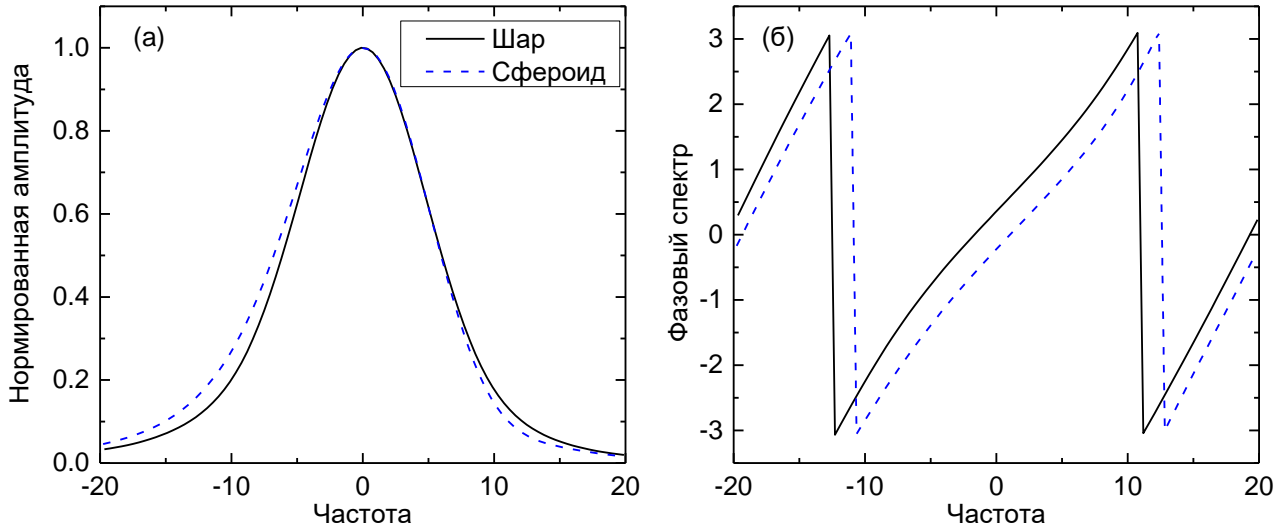


Рис. 48. Нормированный основной пик синтетических индикатрис из Рис. 47 (в приближении РГД), показывающий отдельно амплитуду (а) и фазу (б) комплексного спектра. Частота соответствует ξ координатам.

В качестве единственного параметра фазового спектра было выбрано его значение на частоте максимальной амплитуды, далее обозначаемой как фаза пика. Для шаров этот параметр мал (в приближении РГД), но не совсем равен нулю из-за степенных членов в Ур. (66). Таким образом, разница фаз пика между сфероидом и соответствующим шаром является удобным индикатором несферичности.

4.3.2 Фаза основного пика в приближение Рэлея-Ганса-Дебая

В данном разделе приведена аналитическая оценка поведения фазы пика в приближении РГД в зависимости от несферичности. Для начала, рассмотрим Ур. (66)

$$I(\xi) = \frac{6V^2(m-1)^2}{8\pi^2} \frac{\left(2 - \xi^2 + \frac{\xi^4}{4}\right)}{d^4 \xi^4} \left(\frac{1 + \cos(d\xi)}{2} - \frac{2 \sin d\xi}{d\xi} + \frac{2(1 - \cos d\xi)}{d^2 \xi^2} \right), \quad (73)$$

с заменой размера D на $x(\gamma)$ в соответствии с формулой (68)

$$d \rightarrow \zeta(\gamma) = 2a \sqrt{\frac{1 + \gamma}{1 + \gamma \left(1 - \frac{\xi^2}{4}\right)}}, \quad V = \frac{4\pi}{3} b^2 a = \frac{4\pi}{3} a^3 (1 + \gamma^2). \quad (74)$$

Итоговая интенсивность в таком случае разбивается на следующие множители

$$I(\xi, \gamma) = Y(\xi)K(\zeta(\gamma)\xi)(1 + \gamma^2)^2, \quad (75)$$

где

$$Y(\xi) = \frac{4}{3}64a^6(m-1)^2 \left(2 - \xi^2 + \frac{\xi^4}{4} \right), \quad (76)$$

$$K(\zeta(\gamma)\xi) = \frac{1}{\zeta^4(\gamma)\xi^4} \left(\frac{(1 + \cos \zeta(\gamma)\xi)}{2} - \frac{2 \sin \zeta(\gamma)\xi}{\zeta(\gamma)\xi} + \frac{2(1 - \cos \zeta(\gamma)\xi)}{\zeta(\gamma)^2 \xi^2} \right). \quad (77)$$

Чтобы описать поведение фазы основного пика следует применить преобразование Фурье к выражению интенсивности выше и разложить фазу в пике в ряд Тейлора по степеням γ до первого порядка:

$$\tilde{I}_w(v, \gamma) = \int_{-\infty}^{\infty} w(\xi)I(\xi, \gamma)\exp(-i\xi v)d\xi, \quad (78)$$

$$\arg(\tilde{I}_w(L, \gamma)) \cong \arg(\tilde{I}_w(L, \gamma))\Big|_{\gamma=0} + \left(\frac{\partial \arg(\tilde{I}_w(L, \gamma))}{\partial L} \frac{\partial L}{\partial \gamma} + \frac{\partial \arg(\tilde{I}_w(L, \gamma))}{\partial \gamma} \right) \Big|_{\gamma=0} \quad (79)$$

Где амплитуда пика находится на частоте $v = L(\gamma)$, и символ \cong обозначает равенство с точностью до членов более высоких порядков по γ . Принимая во внимание, что для любой дифференцируемой функции $g(t): \mathbb{R} \rightarrow \mathbb{C}$

$$\frac{\partial \arg g(t)}{\partial t} = \frac{\partial \operatorname{Im}(\ln g(t))}{\partial t} = \operatorname{Im} \left(\frac{g'(t)}{g(t)} \right), \quad (80)$$

получаем для выражения (79)

$$\arg(\tilde{I}_w(L, \gamma)) \cong \arg(\tilde{I}_w(L, \gamma))\Big|_{\gamma=0} + \left(\operatorname{Im} \left(\frac{1}{\tilde{I}_w} \frac{\partial \tilde{I}_w}{\partial L} \right) \frac{\partial L}{\partial \gamma} + \operatorname{Im} \left(\frac{1}{\tilde{I}_w} \frac{\partial \tilde{I}_w}{\partial \gamma} \right) \right) \Big|_{\gamma=0} \gamma. \quad (81)$$

Основной пик в данном случае существует для любого γ , по определению L – это значение v , при котором $|\tilde{I}_w(v, \gamma)|^2$ достигает максимума. Таки образом,

$$\frac{\partial |\tilde{I}_w(v, \gamma)|^2}{\partial v} \Big|_{v=L} = \frac{\partial \tilde{I}_w^* \tilde{I}_w}{\partial v} \Big|_{v=L} = 0, \quad (82)$$

где * обозначает комплексное сопряжение. Дифференцируя выражение (82) по γ получаем

$$\frac{\partial^2 \tilde{I}_w^* \tilde{I}_w}{\partial v^2} \Big|_{v=L} \frac{\partial L}{\partial \gamma} + \frac{\partial^2 \tilde{I}_w^* \tilde{I}_w}{\partial \gamma \partial v} \Big|_{v=L} = 0. \quad (83)$$

Откуда можем выразить производную положения пика как:

$$\frac{\partial L}{\partial \gamma} = - \frac{\frac{\partial^2 \tilde{I}_w^* \tilde{I}_w}{\partial \gamma \partial v}}{\frac{\partial^2 \tilde{I}_w^* \tilde{I}_w}{\partial v^2}} \Bigg|_{v=L} = - \frac{\operatorname{Re} \left(\tilde{I}_w^* \frac{\partial^2 \tilde{I}_w}{\partial \gamma \partial v} + \frac{\partial \tilde{I}_w^*}{\partial \gamma} \frac{\partial \tilde{I}_w}{\partial v} \right)}{\operatorname{Re} \left(\tilde{I}_w^* \frac{\partial^2 \tilde{I}_w}{\partial v^2} + \left| \frac{\partial \tilde{I}_w}{\partial v} \right|^2 \right)} \Bigg|_{v=L}. \quad (84)$$

В результате, для расчета коэффициента первого порядка в Ур. (81) нужно оценить первую и вторую частную производную спектра индикатрисы в точке $(L(0), 0)$. Для этого используем явную форму спектра, представленную в Ур. (78), оставим только члены пропорциональные a^{-4} и $\exp(i\xi a)$ из Ур. (77) и пренебрежём разницей между $\zeta(0) = 2a$ и $L(0)$. Все эти предположения верны для $a \gg 1$, а ожидаемая относительная ошибка равна $\mathcal{O}(1/a)$. Таким образом, получаем:

$$\tilde{I}_w(L, 0) \cong \int_{-\infty}^{\infty} w(\xi) Y(\xi) \frac{\exp(2i\xi a)}{16a^4 \xi^4} \exp(-i\xi L) d\xi = \int_{-\infty}^{\infty} \frac{w(\xi) Y(\xi)}{16a^4 \xi^4} d\xi \stackrel{\text{def}}{=} J_0, \quad (85)$$

где последовательность вещественных интегралов J_i определяется как

$$J_i \stackrel{\text{def}}{=} \int_{-\infty}^{\infty} \frac{w(\xi) Y(\xi)}{16a^4 \xi^4} \xi^i d\xi. \quad (86)$$

Принимая во внимание свойство Фурье преобразования

$$\frac{\partial \overline{g(x)}(v)}{\partial v} = -ix \overline{g(x)}(v), \quad (87)$$

получаем производные по частоте

$$\begin{aligned} \frac{\partial \tilde{I}_w(L(\gamma), \gamma)}{\partial L} \Bigg|_{\gamma=0} &= \frac{\partial \tilde{I}_w}{\partial v} \Bigg|_{(L,0)} \cong -i \int_{-\infty}^{\infty} \xi w(\xi) Y(\xi) \frac{\exp(2i\xi a)}{16a^4 \xi^4} \exp(-i\xi L) d\xi = -iJ_1, \\ \frac{\partial^2 \tilde{I}_w}{\partial v^2} \Bigg|_{(L,0)} &\cong - \int_{-\infty}^{\infty} \xi^2 w(\xi) Y(\xi) \frac{\exp(2i\xi a)}{16a^4 \xi^4} \exp(-i\xi L) d\xi = -J_2. \end{aligned} \quad (88)$$

Используя

$$K'(x) \cong \frac{\partial}{\partial x} \left(\frac{\exp(ix)}{x^4} \right) = \frac{\exp(ix)}{x^4} \left(i - \frac{4}{x} \right) \cong i \frac{\exp(ix)}{x^4}, \quad (89)$$

получаем производные по γ

$$\begin{aligned} \frac{\partial \tilde{I}_w}{\partial \gamma} \Bigg|_{(L,0)} &= \int_{-\infty}^{\infty} w(\xi) Y(\xi) K'(\zeta(\gamma)\xi) \xi \frac{\partial \zeta}{\partial \gamma} \exp(-i\xi v) d\xi \Bigg|_{(L,0)} \cong \\ &\cong \int_{-\infty}^{\infty} w(\xi) Y(\xi) i \frac{\exp(2i\xi a)}{16\xi^4 a^4} \xi 2a \frac{\xi^2}{8} \exp(-i\xi L) d\xi = i \frac{a}{4} J_3, \end{aligned} \quad (90)$$

$$\frac{\partial^2 \tilde{I}_w}{\partial \gamma \partial v} \cong \int_{-\infty}^{\infty} w(\xi) Y(\xi) i \frac{\exp(2i\xi a)}{16\xi^4 a^4} \frac{2a\xi^3}{8} (-i\xi) \exp(-i\xi L) d\xi = \frac{a}{4} J_4.$$

Подставляя получившиеся выражения в Ур. (81) получаем разницу фаз основного пика с изменением γ в первом приближении

$$\Delta\varphi \stackrel{\text{def}}{=} \arg(\tilde{I}_w(L, \gamma)) - \arg(\tilde{I}_w(L, \gamma))\Big|_{\gamma=0} \cong \frac{J_1 J_4 - J_2 J_3}{J_1^2 - J_0 J_2} \frac{a}{4} \gamma. \quad (91)$$

Были проведены вычисления $\Delta\varphi$ для сфероидов в диапазоне $a \in [40, 100]$ и $\varepsilon \in [1, 1.2]$, путем моделирования индикатрис согласно Ур. (75) и Фурье преобразованию описанному в разделе 4.1. Также были посчитаны интегралы J_0, \dots, J_4 и проведено сравнение численных расчетов $\Delta\varphi$ с её разложением первого порядка в Ур. (91) показано на Рис. 49, демонстрирующем хорошее согласие на малых значениях $a\gamma$. Таким образом, было получено полное теоретическое доказательство в условиях приближения РГД того, что изменение фазы пропорционально $a\gamma$, намекая на последний как на характеристику частицы, ответственную за несферичность. Ниже это будет рассмотрено в соответствии со строгим моделированием.

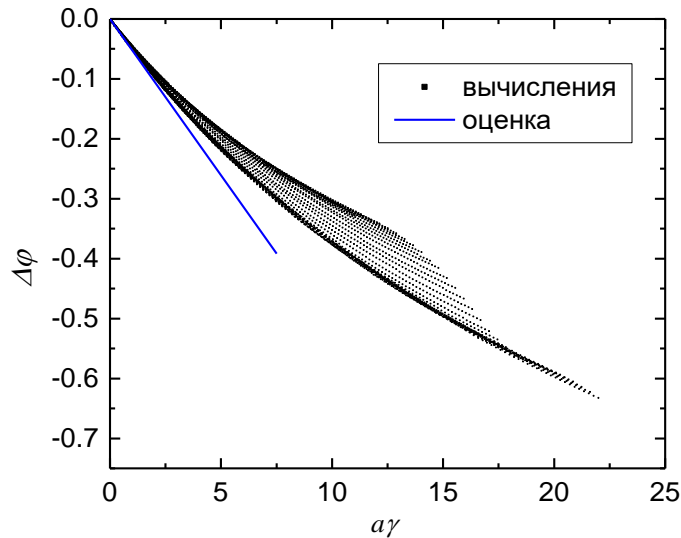


Рис. 49. Разность между фазой основного пика сфероида в симметричной ориентации и шара как функция от $a\gamma$. Результаты в РГД приближения сравниваются с разложением последнего до первого порядка, описанным Ур. (91).

4.3.3 Фаза основного пика в теории Лоренца-Ми

Основным ограничением приближения РГД является очень упрощенное представление о влиянии ПП m , которое сводится к масштабированию всей индикатрисы (и, следовательно, её спектра) одним коэффициентом, зависящим от m . Это удобно для анализа (нормированный спектр не зависит от m), но далеко от реальности практического использования. Как было отмечено ранее в разделе 2.3.2, фаза имеет зависимость от ПП, и чтобы выяснить влияние

последнего в широком диапазоне характеристик, вышеописанная спектральная обработка была применена к набору индикатрис шаров, рассчитанных с использованием теории Лоренца-Ми в диапазоне $d \in [20, 150]$ и параметра набега фазы $\rho = 2x(m - 1) \in [0.5, 30]$. На Рис. 50 показана зависимость фазы пика от d и ρ с сильной линейной зависимостью от m (кроме случаев, когда ρ близок 1, раздел 2.3.2). Она была использована в демонстрации решения ОЗС для полистирольных четырех-микронных шаров в разделе 3.5.

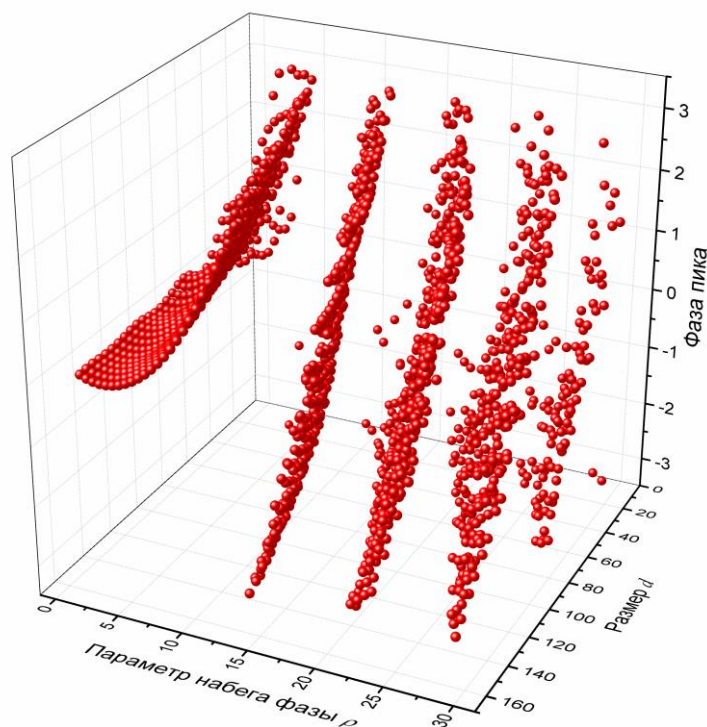


Рис. 50. Зависимость фазы пика от размера и параметра набега фазы $2x(m - 1)$.

Первое очевидное следствие этой зависимости состоит в том, что нельзя обойтись только фазой пика для определения несферичности. Поэтому для компенсации зависимости от ПП, было решено взять разность фаз пиков от сфероида и эквивалентного шара, аналогично тому, что рассматривалось в РГД приближении в разделе 4.3.2. Эффективные характеристики эквивалентного шара были получены прямым применением спектрального метода характеристики шаров (описанном в Главе 3) к соответствующему сфероиду, используя устойчивость последнего к таким искажениям (раздел 3.3.3). Этот подход был протестирован на базе данных сплюснутых сфероидов, описывающих шарики молочного жира [200] (подробности см. в разделе 4.4). Результаты для трех конкретных ориентаций сфероидов, показанные на Рис. 51, имеют разную зависимость от $2a\gamma$. Сравнивая эту картину с аналогичной для интеграла от пика (Рис. 45), видно, что рабочие диапазоны α для этих двух спектральных параметров противоположны и в некотором смысле дополняют друг друга. Это

подводит к следующему логическому шагу – объединить эти параметры во что-то, что будет иметь значительную зависимость от $a\gamma$ для всех ориентаций α .

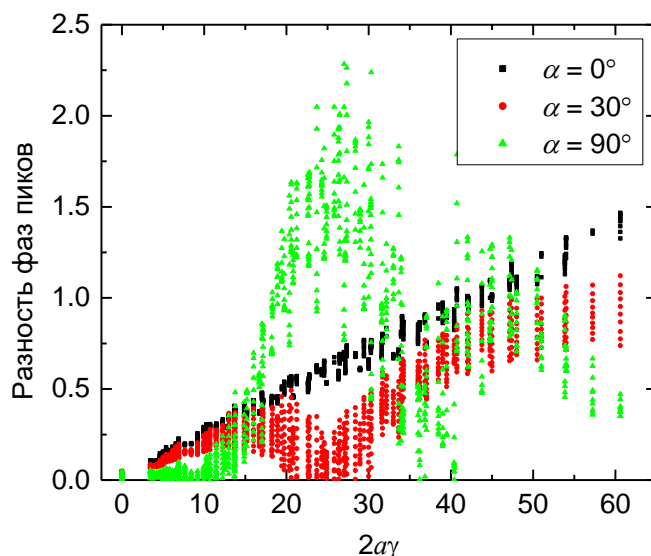


Рис. 51. Зависимость разности фаз пиков между сфероидом и эквивалентным шаром от угла ориентации α и квадрата эксцентриситета γ . Важно отметить множитель 2 на оси абсцисс, который вводится для соответствия последующим результатам.

4.4 Оценка несферичности с помощью комплексного спектра.

Как обсуждалось ранее в разделах 4.2 и 4.3, искажения формы проявляются либо в амплитудном либо в фазовом спектрах (в области основного пика) и сложным образом зависят от ориентации и ПП. Поэтому следует объединить информацию, содержащуюся в обоих спектрах, и скомпенсировать другие характеристики частицы (особенно m) с помощью спектрального метода характеристики шаров (СМХШ, Глава 3). Таким образом, помимо комплексного спектра $Z(v)$ произвольной несферической частицы, нормированного на положение и амплитуду основного пика (см. раздел 4.2), имеется нормированный комплексный спектр $Z_0(v)$ эквивалентного шара полученного из СМХШ и теории Лоренца-Ми. Чтобы количественно оценить разницу между основными пиками этих двух спектров, был введен параметр P , определяемый следующим интегралом:

$$P = \int_{-v_0}^{v_0} W_P(v) |Z(v) - Z_0(v)| dv \quad (92)$$

где $W_P(v)$ – весовая функция, а v_0 – частота, определяющая промежуток интегрирования, равная 20. Выбор v_0 основан на экспериментально наблюдаемой ширине пика в широком диапазоне характеристик частиц и является компромиссом между высокой чувствительностью к несферичности [например, Рис. 46(в)] и проявлением артефактов,

возникающих из-за соседних спектральных особенностей шаров. Наиболее важным из последних является пик нулевой частоты [Рис. 14(в)], находящийся в $(-L)$ координате после нормализации основного пика, что налагает ограничения на минимальный обрабатываемый размер. Когда d меньше примерно $2\nu_0$, окно интегрирования в Ур. (92) перекрывается с пиком нулевой частоты. Таким образом, на P влияет эффект несферичности пика нулевой частоты, что заметно отличается по свойствам эффекта основного пика. В итоге, область применимости текущего метода ограничена размером $d \geq 40$, но можно попытаться расширить ее до области применимости СМХШ ($d \geq 22$, Рис. 52) за счет уменьшения чувствительности.

Также, основываясь на опыте, было решено использовать весовую функцию вида:

$$W_p(\nu) = |\nu|, \quad (93)$$

поскольку вблизи окрестности максимума пика чувствительность к несферичности падает ввиду нормализации.

Данный параметр P в дальнейшем используется как основной индикатор несферичности. Из раздела 4.3.2 известно, что отклонения спектра пропорциональны параметру $a\gamma$ сфероида. К сожалению, a не известен экспериментально, поэтому логично заменить его эффективным размером d_{sp} , полученным из СМХШ. Это позволяет напрямую оценивать γ после оценки произведения $d_{sp}\gamma$ по P . Чтобы понять поведение $P(d_{sp}\gamma)$, были использованы 3 различные базы данных: сфероидов, рассчитанные для анализа шариков молочного жира при длинах волн падающего излучения 405 нм и 660 нм (взяты из работы [200], вычислены с помощью метода Т-матриц [25]) и эритроцитов при 660 нм (рассчитаны с помощью ADDA [277] и взяты из работы [219]). Соответствующие диапазоны характеристик частиц (m и диаметр d_v эквивалентный по объему диаметру шара) показаны на Рис. 52 вместе с областью полной однозначности СМХШ (Глава 3). Диапазоны баз данных сфероидов обрезаются с дополнительным ограничением при больших m для обеспечения лучшей точности СМХШ, а также при условии $d > 40$, что обсуждается выше.

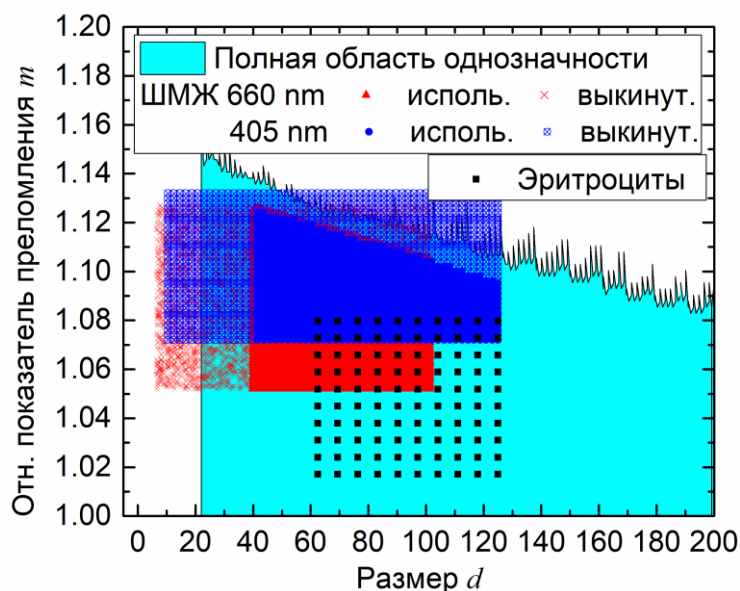


Рис. 52. Характеристики сфероидов и эритроцитов в трех использованных базах данных относительно области полной однозначности СМХШ (Глава 3). Для шариков молочного жира (ШМЖ) части баз данных отбрасываются, как объяснено в тексте.

Для каждой индикатрисы в базе данных сфероидов были вычислены d_{sp} и P и построен график его зависимости от параметра $d_{sp}\gamma$. Как видно из Рис. 53, сильное влияние ориентации все же сохраняется при больших отклонениях от шара, однако для меньшей несферичности существует сильная линейная корреляция между P и $d_{sp}\gamma$.

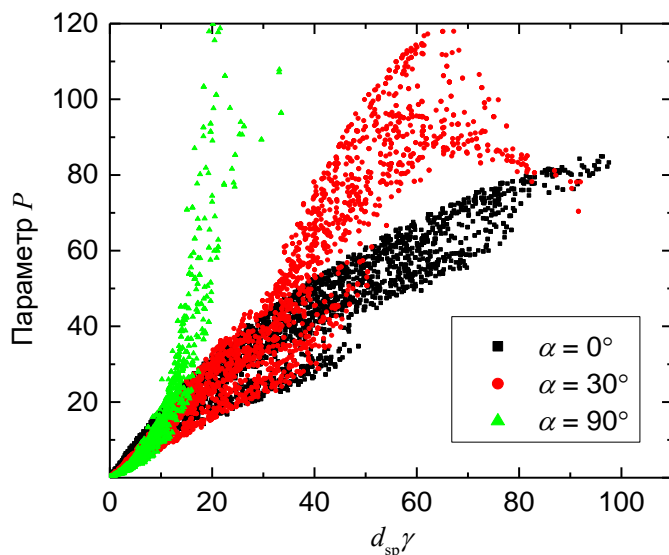


Рис. 53. Зависимость P от $d_{sp}\gamma$ для трех ориентаций сфероидов на основе базы данных для шариков молочного жира при длине волны 405 нм.

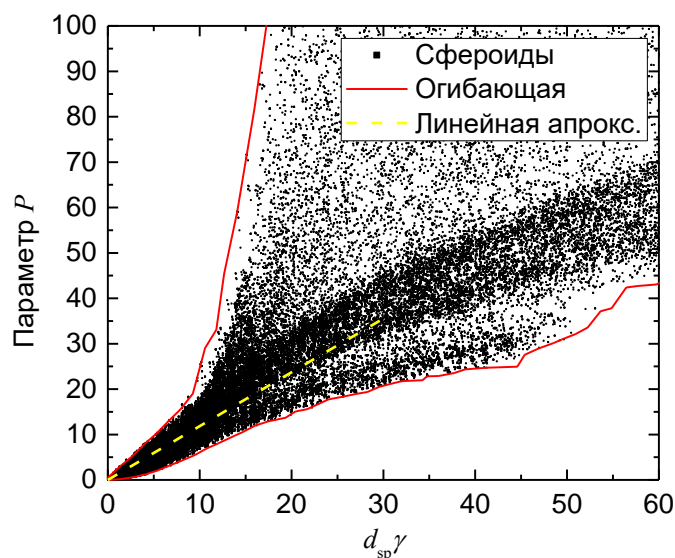


Рис. 54. Зависимость P от $d_{sp}\gamma$, рассчитанная из всех баз данных сфероидов, показывающая только 64883 случайно выбранных точки из 805683. Также показаны линейная аппроксимация и огибающая (см. текст).

Объединенный результат для всех баз данных сфероидов показан на Рис. 54. Для решения обратной задачи сначала была построена огибающая: все данные были разделены на интервалы $d_{sp}\gamma$, найдя минимальное и максимальное значения P для каждого интервала, затем эти точки были объединены в монотонные кривые (с небольшой корректировкой отдельных точек для обеспечения монотонности). Эти кривые можно легко инвертировать, получая диапазон $d_{sp}\gamma$ для любого значения P . Поскольку d_{sp} известен для каждой обработанной частицы, этот диапазон можно преобразовать в диапазон γ или ε . Дополнительно, методом наименьших квадратов была проведена линейная аппроксимация данных, удовлетворяющих как $P < 30$, так и $d_{sp}\gamma < 20$, что привело к следующему линейному приближению:

$$P = 1.19 d_{sp}(\varepsilon_{es}^2 - 1),$$

$$\varepsilon_{es} = \sqrt{1 + \frac{P}{1.19 d_{sp}}}, \quad (94)$$

где ε_{es} – это линейная оценка отношения полуосей. Рассчитывая это отношение для каждого сфероида из базы данных, позволило оценить ошибки восстановления. Явно варьируя ε и эквивалентный объему диаметр d_v , были вычислены медианные ошибки при изменении m и α . Абсолютная ошибка ε и относительная $(\varepsilon - 1)$ показаны на Рис. 55(а, б). Как и ожидалось, абсолютная ошибка увеличивается с ростом ε , в то время как относительная ошибка $(\varepsilon - 1)$ является наибольшей для почти сферических частиц (где можно только надеяться на качественную классификацию). Средняя ошибка ε по всем данным составила 0,024, а средняя относительная ошибка $(\varepsilon - 1)$ – 23%. Общая хорошая точность частично объясняется

отбрасыванием наиболее проблемных индикатрис, которые не проходят внутренний контроль СМХШ (основной пик слишком мал, чтобы его можно было правильно идентифицировать), но по-прежнему классифицируются как несферические. Соотношение количественно обработанных индикатрис показано на Рис. 55(с). Например, большая их часть в области $40 < d < 50$, $1.2 < \varepsilon < 1.4$ точно соответствует большим ошибкам ε .

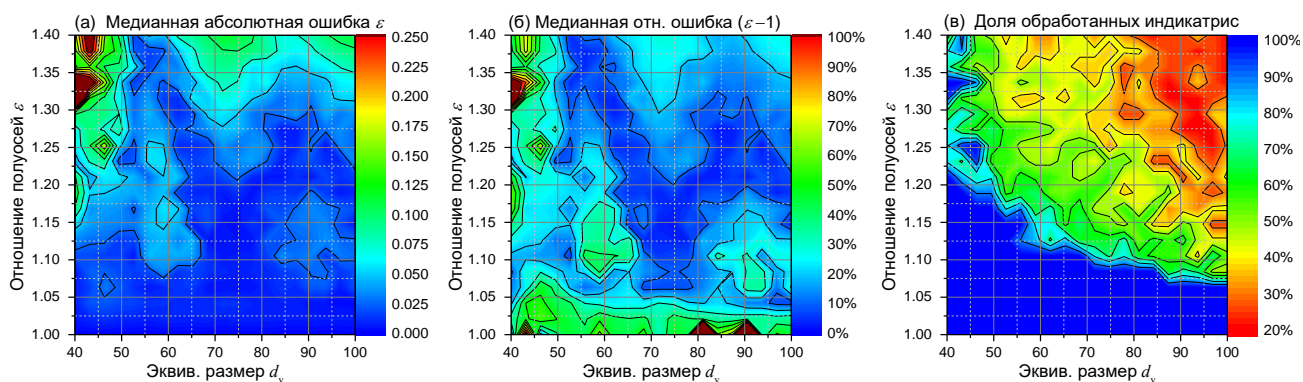


Рис. 55. Точность восстановления ε по формуле (94) из рассчитанных индикатрис сфероидов. Показаны контурные графики медианной абсолютной ошибки ε (а), медианной относительной ошибки $(\varepsilon - 1)$ (б) и доля индикатрис, обработанная СМХШ (в). Показана зависимость от ε и d_v , медианные значения и доли взяты при вариации скрытых характеристик (m и α).

Представленный метод конструктивно устойчив к экспериментальным искажениям (исходя из текущего их понимания), поскольку в нем используется только форма основного пика без учета его абсолютной амплитуды. Последняя, как известно, в наибольшей степени подвержена искажениям, поэтому не использовалась в СМХШ. Экспериментальная проверка этой устойчивости представлена в разделе (4.7). Еще одним важным преимуществом метода является его скорость. Время обработки определяется временем СМХШ и последующим вычислением теории Лоренца-Ми – оба занимают около 1 мс на одну индикатрису на персональном компьютере.

Дополнительно, этот алгоритм можно изменить, заменив СМХШ любым другим методом характеристики шаров, включая прямую нелинейную регрессию [278]. Это может значительно расширить область применимости, которая сейчас в основном ограничена областью применения СМХШ, за счет увеличения времени обработки. Однако это требует перестройки Рис. 54, включая огибающую и линейное приближение, в новом диапазоне представляющих интерес характеристик частиц. Тем не менее, данный вариант будет кратко проиллюстрирован в разделе 4.7.1.

4.5 Обобщенная геометрическая характеристика несферичности.

В разделе 4.4 был представлен спектральный параметр P , сильно коррелирующий с несферичностью частицы. Этот параметр не ограничен определенной формой частицы, но в предыдущих разделах мы рассматривали только сфероиды, естественная мера несферичности которых связана с эксцентриситетом. Цель данного раздела – определить аналогичную геометрическую характеристику для количественной оценки несферичности произвольных форм и изучить её корреляцию с P .

Для достижения этой цели было решено использовать функционал, который помещает шар внутрь частицы произвольной формы таким образом, что симметричная разница их объемов минимальна. Другими словами, задача сводится к минимизации следующей l_1 -нормы:

$$S_p(d, \mathbf{p}) = \int_V |\delta_p(\mathbf{r}) - \delta_s(\mathbf{r}, d, \mathbf{p})| dV, \quad (95)$$

где δ_p и δ_s – индикаторные функции формы частицы и шара соответственно, d и \mathbf{p} – диаметр и положение центра шара (относительно системы отсчета частицы). Нормированное минимальное значение $S_p(d, \mathbf{p})$ – это относительное отклонение объема от шара, что и является искомой общей характеристикой несферичности:

$$\eta = \frac{1}{V_s} \int_V |\delta_p(\mathbf{r}) - \delta_s(\mathbf{r}, d^*, \mathbf{p}^*)| dV, \quad (96)$$

где d^* , \mathbf{p}^* и V_s – оптимальные характеристики и объем шара.

Как правило, следует варьировать оба аргумента $S_p(d, \mathbf{p})$, но для частиц, рассматриваемых в данной работе (имеющих как цилиндрическую симметрию, так и симметрию отражения относительно горизонтальной плоскости), оптимальный центр шара совпадает с центром симметрии частицы. В случае сплюснутого сфероида получаем:

$$S_e(d) = \int_0^{\max(b, d/2)} |z_e(r) - z_s(r, d)| 4\pi r dr, \quad (97)$$

где

$$z_e(r) = \begin{cases} a \sqrt{1 - \frac{r^2}{b^2}}, & r < b, \\ 0, & r > b, \end{cases} \quad (98)$$

$$z_s(r) = \begin{cases} \frac{d}{2} \sqrt{1 - \frac{4r^2}{d^2}}, & r < d, \\ 0, & r > d. \end{cases}$$

Этот интеграл легко вычислить в замкнутой форме, в результате чего:

$$S_e(d) = \frac{4\pi}{24} \left(d^3 + \frac{2}{\sqrt{\gamma}} (4b^2 - d^2)^{\frac{3}{2}} - \frac{8b^3}{\varepsilon} \right), \quad a < d/2 < b. \quad (99)$$

где предполагается, что радиус находится между полуосями сфероида. Оптимальный диаметр получается путем нахождения корня производной $S_e(d)$:

$$d^* = \frac{4b}{\sqrt{4 + \gamma}} \quad (100)$$

В результате, итоговое относительное отклонение есть

$$\eta = \frac{(4 + \gamma)(2\sqrt{1 + \gamma} - \sqrt{4 + \gamma})}{8\sqrt{1 + \gamma}} = \frac{3}{8}\gamma + \mathcal{O}(\gamma^2). \quad (101)$$

Поскольку полученное η почти линейно связано с γ , естественно заменить $d_{sp}\gamma$ на $d_{sp}\eta$ при решении обратной задачи, как описано в разделе 4.4. И в частности, Рис. 54 будет преобразован в Рис. 56 с соответствующим линейным приближением:

$$P = 3.5 d_{sp}\eta, \quad \eta = \frac{P}{3.5 d_{sp}}. \quad (102)$$

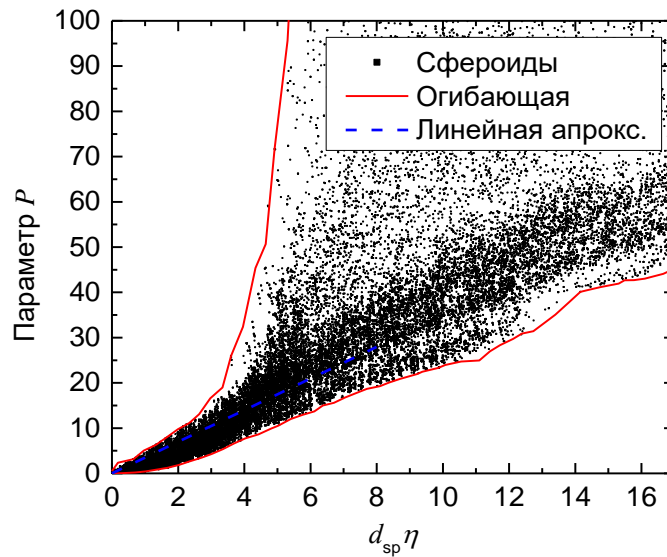


Рис. 56. То же что и на Рис. 54, но с использованием $d_{sp}\eta$ вместо $d_{sp}\gamma$.

Для сфероидов использование η не добавляет новой информации, однако истинная ценность этой характеристики проявляется в более сложных формах. Например, при рассмотрении эритроцита, его двояковыпукло-дискоидная форма определяется минимизацией свободной энергии мембраны и зависит от 3 характеристик: D , h , c [279], см. пример на Рис. 57. D – диаметр эритроцита (не путать с диаметром шара d выше), h – максимальная толщина, c – минимальная толщина (в центре клетки). В нескольких примерах ниже будут

указаны конкретные значения этих характеристик в реальных единицах измерения мкм, в отличие от безразмерных единиц, используемых на протяжении всей главы.

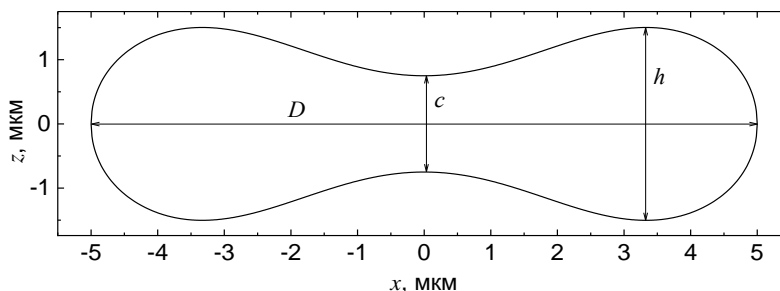


Рис. 57. Пример формы эритроцита (в данной главе рассматриваются более сферические формы).

Были взяты почти сферические эритроциты из расширенной версии базы данных индикатрис, которая была описана ранее [279] и рассчитана с использованием ADDA [277]. В частности, были рассмотрены только частицы с индексом сферичности больше 0.95. Последний определяется как отношение объема частицы к объему шара с такой же площадью поверхности. Подобный индекс для сфероидов имеет нелинейную зависимость от γ (квадратичную при малых γ), что делает его менее подходящим для решения обратной задачи. Такое же нелинейное поведение ожидается и для эритроцитов, и для других форм. Для каждой частицы из базы данных был получен профиль формы $z_{RBC}(r)$, и вычислен η , численно минимизируя функционал, аналогичный Ур. (97), с использованием алгоритма Нелдера-Мида. Затем, индикатрисы обрабатывались спектральным методом, что дало P и d_{sp} для каждой частицы. Результаты представлены на Рис. 58, где также были построены монотонные огибающие, как описано выше в разделе 4.4. Можно утверждать, что эритроциты представляют собой более общий пример несферических форм, чем сфероиды, и соответствующие огибающие могут использоваться для оценки доверительных интервалов η для частиц неизвестной формы. Однако в этом отношении есть несколько предостережений.

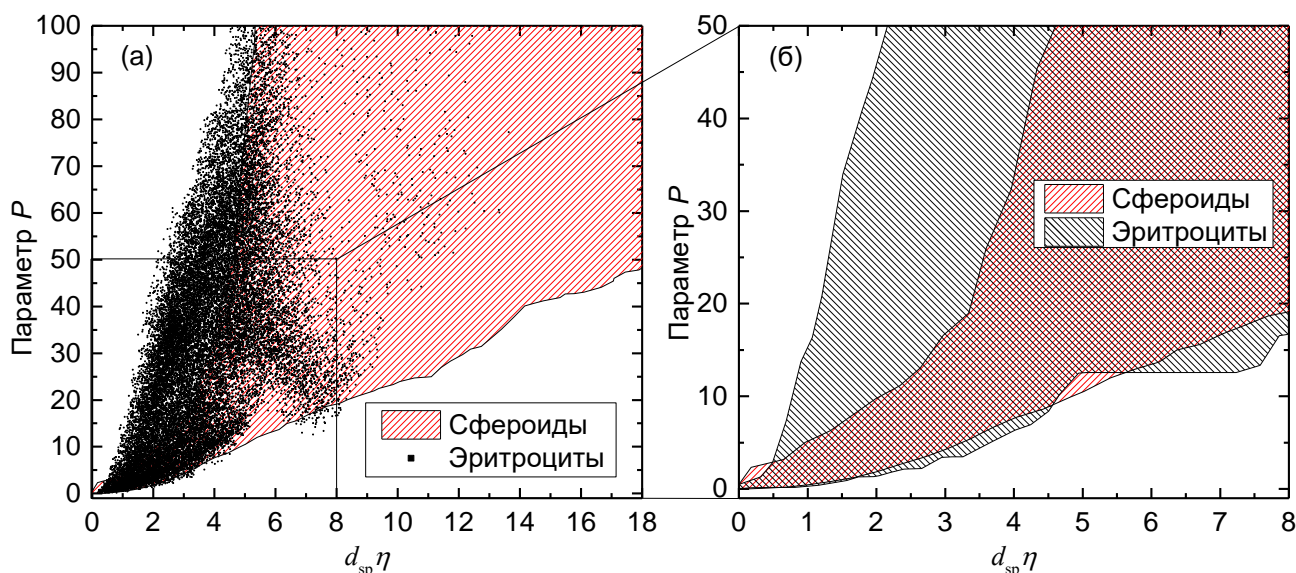


Рис. 58. (а) Зависимость параметра P от $d_{sp}\eta$, рассчитанная по базе данных эритроцитов вместе с монотонной огибающей (аналог Рис. 56). (б) Сравнение полученной огибающей с огибающей сфероидов на Рис. 56 в уменьшенном поле зрения.

Во-первых, база данных эритроцитов ограничена диапазоном ориентаций (угол α) от 70° до 90° . Это исторически использовалось для нативных (сильно несферических) форм эритроцитов, где это оправдано гидродинамическими соображениями потока внутри капилляра СПЦ [279]. Однако это обоснование неприменимо для почти сферических форм, следовательно, построенные огибающие в некоторой степени неполные из-за пропущенных ориентаций. Более того, Рис. 58(б) показывает, что для эритроцитов P растет быстрее с $d_{sp}\eta$ при промежуточных значениях, чем для сфероидов. Это означает, что основной спектральный пик и индикатриса в целом, как правило, более чувствительны к локальным искажениям формы большой амплитуды (см., например, Рис. 59), чем к тем, которые распределены по всему профилю формы (как для сфероидов), при фиксированном η . В принципе, эту проблему можно решить, изменив меру отклонения объема, например, используя l_2 -норму в Ур. (97). Однако применимость этого определения ограничена, поскольку не известно, как его использовать без указания конкретной системы координат, то есть как изменить исходное Ур. (95). Более того, другие ограниченные попытки в этом направлении (данные не приведены) не показали значительных улучшений в решении обратной задачи.

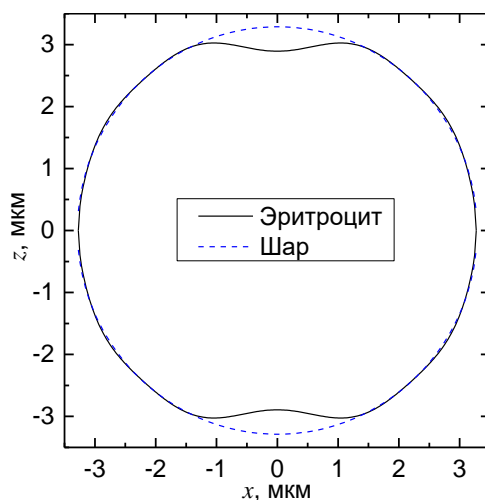


Рис. 59. Пример эритроцита почти сферической формы и ближайшего шара с использованием Ур. (95). Характеристики эритроцитов: $D = 6.54$ мкм, $h = 6.07$ мкм, $c = 5.79$ мкм. Диаметр шара 6.57 мкм, $\eta = 0.023$, $d_{sp}\eta = 1.5$, $P = 32$. Важно ответить, что используются реальные единицы измерения в мкм.

С другой стороны, есть частицы, которые падают ниже сфероидной огибающей, т.е. имеют большие $d_{sp}\eta$ при относительно малых P . Типичный пример показан на Рис. 60, где несферичность частицы в основном влияет на амплитуду основных колебаний, напоминая типичное экспериментальное искажение (правда, большей амплитуды). Данный метод очень слабо воспринимает такие отклонения от шара, так как он был специально разработан для игнорирования от таких искажений. К счастью, такие события случаются редко и существенно не отклоняются от общей тенденции.

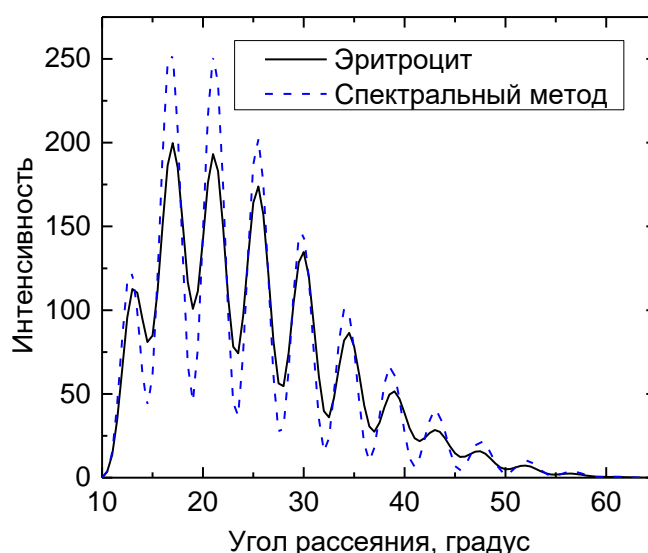


Рис. 60. Теоретические оконные индикатрисы эритроцита и шара, соответствующего результатам СМХШ. Характеристики эритроцита: $D = 6.6$ мкм, $h = 5.28$ мкм, $c = 4.19$ мкм, $m = 1.039$, $\alpha = 71.1^\circ$. Результаты обработки: $\eta = 0.087$, $d_{sp}\eta = 7.23$, $P = 12.6$. Важно ответить, что используются реальные единицы измерения в мкм.

4.6 Экспериментальные особенности

Экспериментальная проверка разработанного спектрального метода проводилась с использованием СПЦ, который надежно измеряет индикатрисы одиночных частиц в диапазоне углов от 10° до 65° на длине волны 660 нм. Детали СПЦ описаны в [91,261]. Были выбраны два соответствующих биологических объекта, которые имеют форму, близкую к сферической и (частично) попадают в область однозначности СМХШ, обсуждаемую выше, а именно шарики молочного жира и эритроциты в процессе сферизации. Поглощением (мнимой частью ПП) на этой длине волны можно пренебречь для обоих образцов.

Измерения индикатрис для шариков молочного жира (ШМЖ) были выполнены в работе [200]. Вкратце, цельное (ненормализованное) молоко было получено от местного фермера. Перед измерением образец нагревали примерно до 20°C и разбавляли дистиллированной водой в 50 000 раз. Диапазон размеров таких ШМЖ составляет 0.5–6 мкм, ПП n составляет 1.44–1.52. Средой выступала вода с ПП $n_0 = 1.331$, что привело к диапазону относительного ПП m 1.08–1.14. Диапазон d составил 6–76, что частично попадает в область полной однозначности СМХШ (Рис. 52). Также были рассмотрены предыдущие результаты классификации на две модели (шар и сфероид) с использованием критерия Фишера с уровнем значимости 5% [200]. Важно отметить, что данный подход обязательно требует альтернативную модель для оценки несферичности.

Исследование эритроцитов проводили по протоколу, описанному в [270]. После подписанного информированного согласия у донора был взят образец крови путем венепункции и собран в вакуумную пробирку, содержащую антикоагулянт. Кровь помещали в лизирующий раствор хлорида аммония (0.15 М) для сферизации эритроцитов. В этом случае ПП среды составил $n_0 = 1.331$. Диапазоны d и m (для эквивалентных СМХШ шаров) составляют [70, 96] и [1.022, 1.048], соответственно, что полностью находится внутри рабочей области СМХШ (Рис. 52).

Также во время эксперимента с эритроцитами были измерены индикатрисы полистирольных шариков. Эти частицы полностью соответствуют модели идеального шара, являясь удобным объектом для испытания алгоритма. Но их диапазоны d и m равны [49,4, 50,7] и [1,192, 1,201], соответственно, которые попадают на границу области однозначности и не могут быть обработаны СМХШ. Поэтому СМХШ был заменен в вышеописанном алгоритме нелинейной регрессией по методу наименьших квадратов для оценки эффективного размера и показателя преломления, как описано в разделе 4.4. Хотя этот подход гораздо менее изучен, он имеет под собой некоторые основания. Ранее в Главе 3 было показано, что

результаты СМХШ очень близки к результатам нелинейной регрессии, даже при наличии значительных экспериментальных искажений и/или искажений формы.

Тем не менее, пришлось немного изменить алгоритм регрессии, поскольку стандартная нелинейная регрессия не гарантирует хорошего совпадения положения спектрального пика, в отличие от СМХШ. Следовательно, минимизировался функционал суммы квадратов с дополнительным штрафным членом в виде квадрата невязки положения пика, аналогично работе [200]. Вес этого штрафного члена был выбран эмпирически, чтобы гарантировать хорошее соответствие положения спектрального пика (намного больше, чем для основного члена). Однако алгоритм DiRect, используемый для глобальной оптимизации [278], имеет тенденцию стагнировать с этой обновленной мерой ошибки из-за сильной корреляции между положением пика и размером частицы. Таким образом, сначала DiRect использовался без штрафного члена, чтобы найти соответствующий минимум, а затем происходило переключение на алгоритм Левенберга–Марквардта для локальной оптимизации с дополнительным штрафным членом.

4.7 Результаты и обсуждения

4.7.1 Полистирольные шарики

Алгоритм, описанный в разделе 4.4, с использованием эталонного метода характеристики, описанного в разделе 4.6, был применен к измеренным индикатрисам полистирольных шариков для расчета параметра P для каждой частицы. Результаты представлены на Рис. 61 в виде гистограммы. Большинство частиц имеют P в диапазоне [2.5, 15]. С одной стороны, это меньше, чем у большинства сфероидов и эритроцитов (см. Рис. 56, Рис. 58 и результаты ниже). С другой стороны, эти значения намного больше, чем теоретические результаты для шаров на тех же рисунках ($P \leq 0.5$). Это вызвано остаточным влиянием экспериментальных искажений в сочетании с высокой чувствительностью данного метода. Из-за различий между эталонным методом характеристики и СМХШ, используемым в остальной части главы, и большим m , будет некорректно количественно перенести эти результаты на шарики молочного жира и эритроциты, т.е. указать верхнюю границу P для сферических частиц с учетом текущего уровня экспериментальных искажений. Тем не менее, стоит отметить значение $P = 10$ как удобную предварительную отметку.

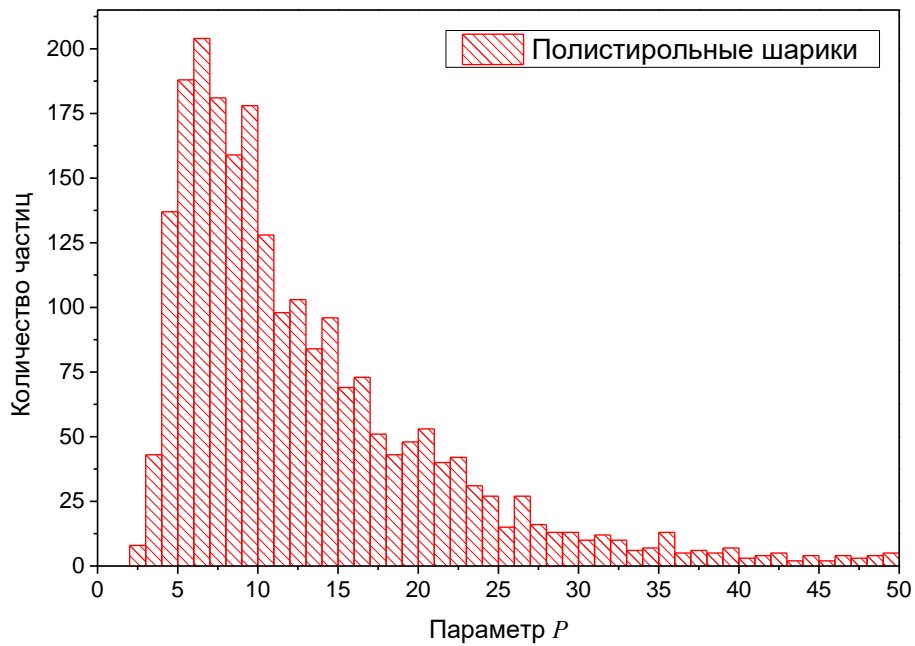


Рис. 61. Распределение полистирольных шариков по рассчитанным значениям P . Важно отметить, что здесь использован эталонный метод характеристики шаров, отличающийся от того, который используется в остальных частях данной главы.

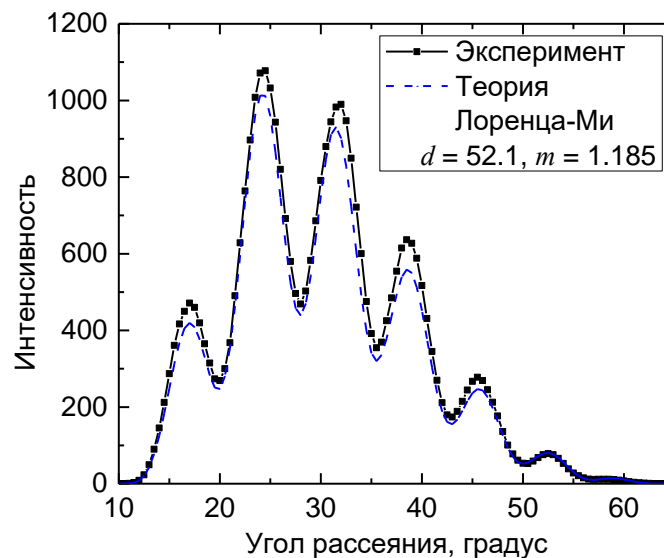


Рис. 62. Оконная индикатриса полистирольного шарика с наименьшим значением P (2.43) в сравнении с наилучшей теоретической индикатрисой полученной из регрессии. Характеристики соответствующего шара указаны в легенде.

4.7.2 Шарики молочного жира

Алгоритм был применен к измеренным данным шариков молочного жира, в результате были получены параметры P для сигналов, которые попадают в область, изображенную на Рис. 52 ($d \geq 40$). Наиболее сферическая частица (имеющая наименьшее значение P) представлена на Рис. 63. Отметим хорошее согласие между смоделированными и

экспериментальными индикатрисами, лишь немного хуже, чем у полистирольных шариков. Кроме того, полученные результаты можно сравнить с ранее проведенной классификацией на шары и сферойды (см. Раздел 4.6). Результаты представлены на Рис. 64.

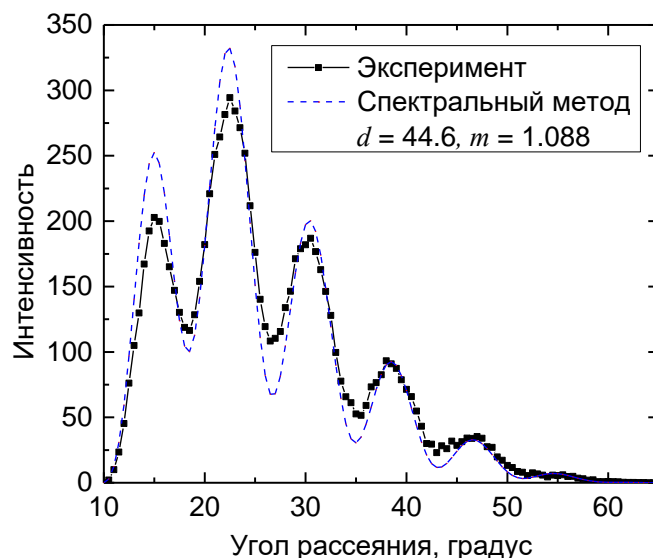


Рис. 63. Оконная индикатриса шарика молочного жира с наименьшим значением P (2.94) в сравнении с теоретической, полученной с помощью СМХШ. Характеристики соответствующего шара указаны в легенде.

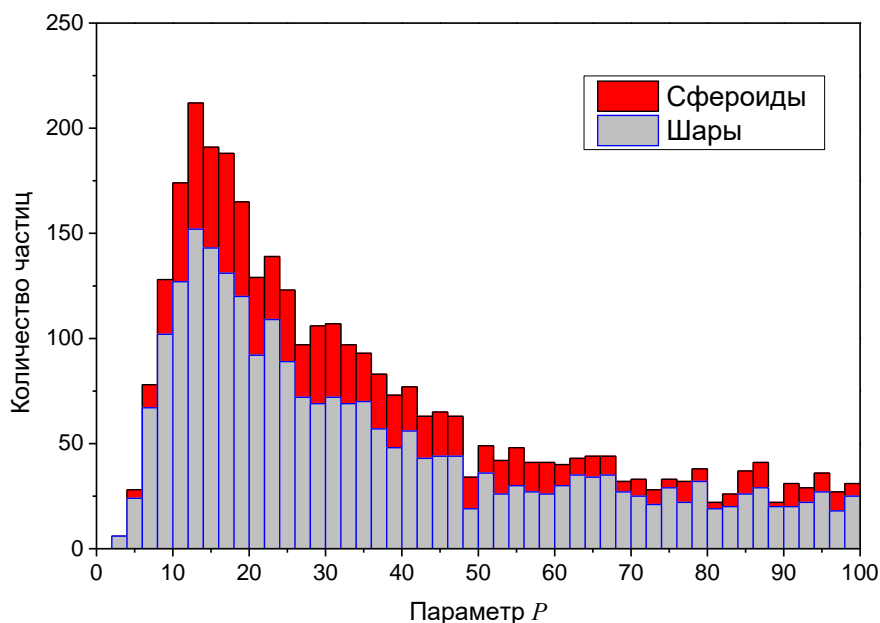


Рис. 64. Гистограмма с накоплением по параметру P для шариков молочного жира, классифицированных на шары и сферойды с помощью критерия Фишера (см. текст). Представлено 3415 частиц из 4730 обработанных (имеющих $P < 100$), и 3728 частиц не могут быть обработаны СМХШ (в основном из-за того, что они слишком малы).

В области $P < 10$ наблюдается хорошее согласие с критерием Фишера, т. е. последний классифицирует большинство частиц как шары. С увеличением P доля частиц,

классифицируемых как шары, сначала уменьшается, но затем достигает постоянного уровня, далекого от нуля. Это говорит о том, что сильно несферические частицы плохо описываются как сферическими, так и сфероидными моделями. В таком случае критерий регистрирует не шары, а частицы, индикатрисы которых больше похож на индикатрисы шаров, чем на индикатрисы сфероидов. Это общий недостаток всех методов классификации, основанных на альтернативной модели формы. В то время как, данный спектральный метод и чувствителен к небольшой несферичности, и специфичен для обнаружения шаров. Только небольшая часть всего образца шариков молочного жира может считаться сферической (3% при использовании предварительного критерия $P < 10$).

4.7.3 Сферизованные эритроциты

Разработанный алгоритм был применен к измеренным индикатрисам эритроцитов в процессе сферизации, в результате были получены параметр P и оценка η для каждой частицы. На Рис. 65 показана зависимость P от порядкового номера частицы, которая примерно пропорциональна времени измерения в СПЦ. Отсутствие данных на начальном этапе измерения связано с сильно несферическими частицами, которые не проходят внутренний контроль СМХШ (не имеют значимого спектрального пика). Постепенное увеличение фракции частиц с малым P на последующей стадии соответствует увеличению количества сферизованных эритроцитов со временем.

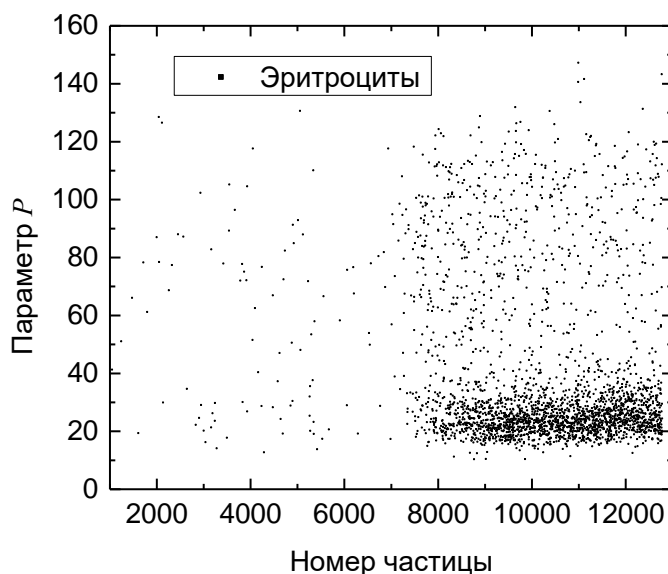


Рис. 65. Спектральный параметр P эритроцитов как функция порядкового номера частицы (примерно пропорционален времени). Показаны только результаты, прошедшие внутренний контроль СМХШ, который исключает сильно несферические частицы из рассмотрения.

Несмотря на качественное согласие с концепцией сферизации, эти результаты вызывают вопросы об окончательной форме сферизованного эритроцита. Распределение эритроцитов по

P , показанное на Рис. 66(а), имеет значительно большие значения, чем полученные для полистирольных шариков (Рис. 61). Это делает весьма вероятным, что окончательная форма эритроцитов в потоке внутри СПЦ не является идеальным шаром. На данный момент существуют две гипотезы: деформация из-за гидродинамического напряжения или существующая неоднородность эритроцитов, оказывающая заметное влияние на индикатрису. Чтобы сделать обсуждение более количественным, была использована огибающая базы данных эритроцитов [(Рис. 58(а))] для оценки минимального η для каждого измеренного эритроцита (прошедшего контроль СМХШ) – результаты показаны на Рис. 66(б). Большинство частиц по крайней мере на 1% отличаются от идеальных шаров, хотя это число следует рассматривать как предварительное, так как эффект экспериментальных (оптических) искажений здесь не учитывается. Кроме того, стоит отметить на Рис. 67 несколько форм эритроцитов из базы данных, соответствующих минимальному экспериментальному значению $P = 10$. Это демонстрирует высокую чувствительность параметра P к несферичности, но их не следует рассматривать как репрезентативные формы в реальных экспериментах. Такие формы могут появиться только в случае неполной сферизации (например, недостаточной концентрации соответствующего химического агента), в то время как обе вышеупомянутые гипотезы предполагают разные формы: либо неоднородные, либо без плоскости симметрии, перпендикулярной оси симметрии. Таким образом, форма сферизованных эритроцитов в СПЦ – интересная тема для будущих биофизических исследований, для которых параметр P является важным, но не единственным инструментом. Однако, также это может быть следствием неоднородности ПП в частице. И в будущем важно понять, что именно вызывает высокие значения параметра P – несферичность или неоднородность.

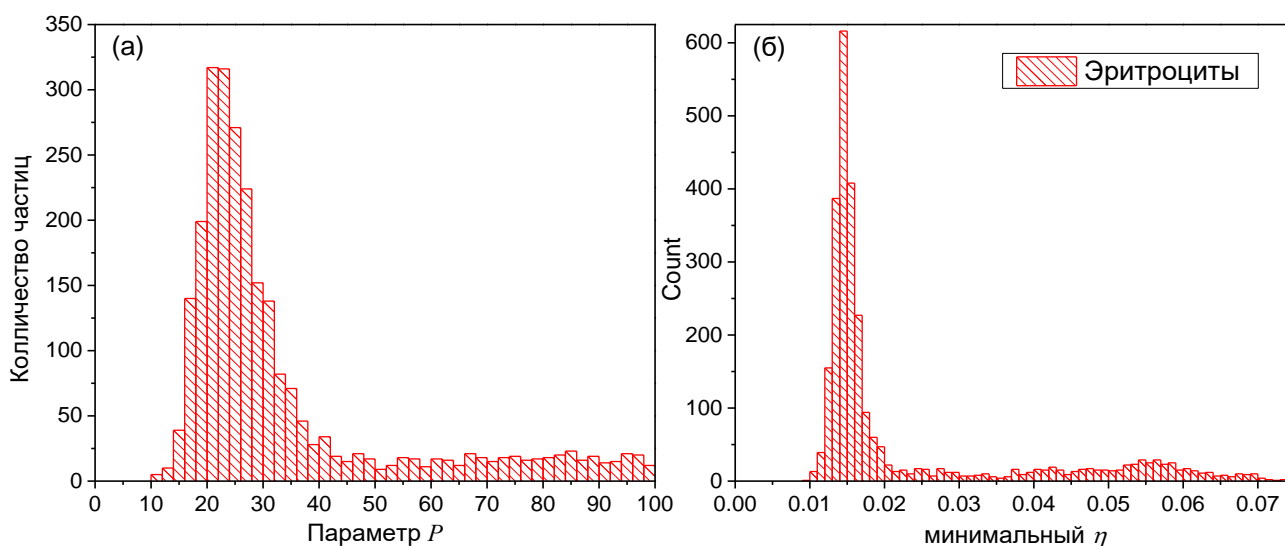


Рис. 66. Распределение эритроцитов во время сферизации по P (а) и по соответствующему минимальному значению η (б), рассчитанному по огибающей из Рис. 58(а).

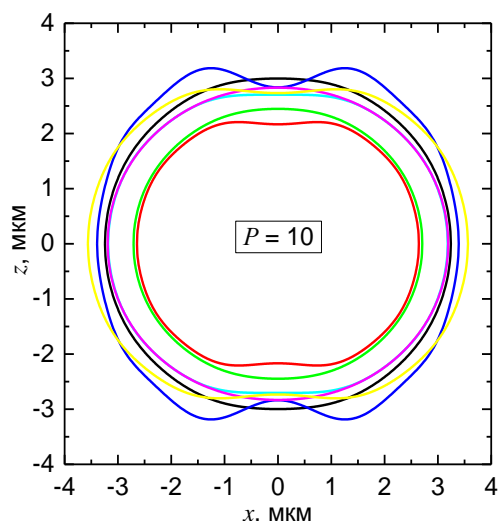


Рис. 67. Формы эритроцитов из базы данных, которые имеют $P = 10$. Другие характеристики эритроцитов, такие как t и α , различаются между этими формами.

4.8 Заключение главы.

Был разработан метод оценки несферичности частиц произвольной формы на основе комплексного спектра Фурье их индикатрис, измеренных с помощью СПЦ. В рамках смоделированных данных было исследовано влияние несферичности на амплитудный спектр и фазовый спектр. Затем была исследована зависимость фазы спектрального пика сфероидов от их эксцентриситета в рамках приближения РГД, и получены аналитические выражения для случая симметричной ориентации сфероида относительно падающего луча. Это дало понимание как информации, содержащейся в фазовом спектре, так и естественной характеристики несферичности для сфероидов. Во-вторых, на основе этих выводов был предложен новый спектральный параметр P , определенный как взвешенное отклонение

комплексного спектра, рассматриваемого возле основного пика, от спектра эквивалентного шара, определенного с помощью СМХШ (Глава 3). Также была предложена и общая геометрическая характеристика несферичности η – относительное отличие по объему от шара в смысле l_1 -нормы. Параметр P и характеристика η применимы к частицам произвольной формы и, что наиболее важно, сильно коррелируют друг с другом. Последнее было продемонстрировано с помощью строго смоделированных индикатрис сфероидов и двояковогнутых дисков в широком диапазоне размеров, показателей преломления и ориентации, соответствующих типичным значениям шариков молочного жира и эритроцитов.

На основе полученной корреляции был построен метод, обеспечивающий как оценку, так и доверительный интервал (минимальное и максимальное возможное значение) η по полученному в эксперименте значению P . Было показано, что метод является как чувствительным, так и специфичным к небольшой несферичности. При тестировании на смоделированных индикатрисах сфероидов средняя ошибка оценки ε составила 0.024, хотя значительная часть сфероидов с $\varepsilon > 1.1$ не могла быть обработана количественно (кроме идентификации их как несферических). Область применимости метода определяется, главным образом, областью применения СХМШ и включает большинство биологических объектов с размерами более 7 длин волн в жидкой среде. В этом диапазоне можно обрабатывать около 1000 частиц в секунду, используя стандартный персональный компьютер. Более того, метод может быть расширен до более высоких показателей преломления, используя нелинейную регрессию в качестве эталонного метода решения ОЗС для шара вместо СМХШ. Этот подход был применен к идеально сферическим полистирольным шарикам, и получен ориентировочный уровень $P = 10$ для экспериментальных искажений.

При проверке на экспериментальных данных новый метод показал качественное согласие с предыдущими, но во многих отношениях некоторое превосходство. Например, вместо классификации шариков молочного жира на шары и сфероиды (что имеет очень ограниченную практическую применимость) новый метод смог более надежно отличать шары от несферических частиц. Применительно к эритроцитам во время процесса сферизации метод ставит под сомнение достижение эритроцитами идеальной формы шара в потоке внутри СПЦ, либо наблюдается неоднородность показателя преломления.

Заключение

В данной диссертации проведено развитие спектральных методов решения обратной задачи светорассеяния. Теоретический анализ в рамках РГД и ВКБ приближений, а затем и в рамках строгого светорассеяния позволил обосновать эффективность ранее разработанных эмпирических спектральных методов. Предложен спектральный метод характеристики шаров по индикатрисе рассеяния с использованием амплитудного спектра, была исследована его устойчивость в сравнении с эталонным методом. Продемонстрирована возможность использования фазового спектра для решения обратной задачи в узкой области размера и показателя преломления. Предложен спектральный метод оценки несферичности с использованием комплексного спектра, предложена мера несферичности для произвольной модели частицы.

Теоретические основы спектрального метода

Спектр индикатрисы в РГД приближении полностью определяется ИАФ – функцией, зависящей только от геометрии частицы. Важно, что носитель ИАФ соответствует диаметру частицы, а ее старшие производные разрываются на границе носителя. Поскольку на практике измерение индикатрисы невозможно провести точно в направлении вперед (от нуля градусов), использование оконной функции Ханна приводит к подавлению спектра индикатрисы везде, где ИАФ имеет бесконечную гладкость. Таким образом, крайний правый спектральный пик обязательно находится в точке соответствующей размеру и имеет аналитическое выражение для своей формы в случае шара. Полученные выводы получилось обобщить на случай ВКБ. Однако здесь ИАФ дополнительно получила зависимость от направления рассеяния, но численно было показано, что эта зависимость слабая, по крайней мере, для шара. Таким образом, это эквивалентно небольшому изменению оконной функции, что приводит только к изменению формы пика. Получена оценка зависимости фазы от показателя преломления, вызванная изменением «естественной» координаты рассеяния в данном приближении. В общем случае, анализируемом в рамках объемно интегрального уравнения, был введен аналог ИАФ, основанный на векторе поляризации внутри частицы. Эта модифицированная ИАФ имеет тот же носитель, который объясняет ту же структуру спектра индикатрисы в предположении, что ИАФ медленно меняется с θ и φ . Эти результаты подтверждают надежность спектрального метода определения размера в широком диапазоне приложений и открывают пути для его дальнейшего развития.

Спектральный метод характеристики шара

В данной работе был разработан метод определения размера и показателя преломления однородного шара по Фурье спектру мощности его индикатрисы рассеяния. Были определены

параметры спектра наилучшим образом коррелирующие с характеристиками шара – положение основного пика и амплитуда нулевой частоты. Полученный метод основан на интерполяции отображения из параметров спектра в характеристики частицы. Были определены области полной и априорной однозначности для этого отображения (последнее предполагает некоторое априорное знание о размере и показателе преломления исследуемой частицы). Разработанный метод был протестирован на двух экспериментальных объектах: шариках молочного жира и сферизованных эритроцитах – и показал точность не хуже, чем эталонный метод, основанный на нелинейной регрессии методом наименьших квадратов с использованием теории Лоренца-Ми. Также спектральный метод был протестирован на синтетических индикатрисах сфероидов с отношением полуосей ε до 1.4. Результаты качественно совпадают для всех случаев, однако хорошая точность систематически была получена только для $\varepsilon < 1.1$. Также продемонстрированы возможности характеристики с использованием фазы основного пика в качестве второго спектрального параметра. Основным ограничением выступила цикличность фазы, которая позволяет решить задачу только в некотором заранее выбранном промежутке по показателю преломления. В данном случае было реализовано решение в области четырехмикронных полистирольных шаров. Построенный метод был протестирован на экспериментальных данных где показал высокую степень согласия с эталонным методом.

Спектральный метод оценки несферичности

В данной работе был разработан метод оценки несферичности одиночной частицы произвольной формы на основе комплексного спектра Фурье её индикатрисы. В рамках смоделированных данных было исследовано влияние несферичности на амплитудный спектр и фазовый спектр. В приближении РГД были получены аналитические выражения для случая симметричной ориентации сфероида относительно падающего луча. Они качественно объяснили информацию содержащуюся в фазовом спектре и указали на комбинацию характеристик несферичности, коррелирующую с изменениями в сигнале рассеяния. На основе этих выводов был предложен новый спектральный параметр P , определенный как взвешенное отклонение комплексного спектра, рассматриваемого возле основного пика, от спектра эквивалентного шара, определенного с помощью метода характеристики шаров по амплитудному спектру. Дополнительно была предложена общая геометрическая характеристика несферичности – относительное отличие по объему от шара в смысле L_1 -нормы. Корреляция между параметром P и универсальной характеристикой несферичности была продемонстрирована на примере индикатрис сфероидов и двояковогнутых дисков в широком диапазоне размеров, показателей преломления и ориентации. На ее основе был

построен метод оценки несферичности, включая доверительный интервал. Было показано, что метод является как чувствительным, так и специфичным к небольшой несферичности. При проверке на экспериментальных данных новый метод показал качественное согласие с предшествующими, но во многих отношениях некоторое превосходство.

Основные результаты

1. Проведен подробный анализ литературы в области характеристики одиночных частиц с использованием светорассеяния. На данный момент наилучшие результаты показывают сканирующая проточная цитометрия и цифровая голография, которые обеспечивают надежную характеристику как сферических, так и несферических частиц с точностью, превышающей дифракционный предел. Спектральный метод широко используется для быстрого определения размера частицы, однако отсутствие строгой теории ограничивало его дальнейшее развитие.
2. Построен аналитический базис спектрального метода в рамках приближений РГД и ВКБ. Доказано, что спектр зависит от гладкости автокорреляционной функции объема частицы и, как следствие, от размера ее носителя. Обобщение данных результатов на приближение ВКБ, а затем и на общий случай рассеяния подтвердило надежность спектрального метода для определения размера в широком диапазоне приложений. В приближении РГД выведено соотношение между оконной функцией и формой основного пика в спектре шара. В приближении ВКБ выведена зависимость фазового спектра от показателя преломления.
3. Разработаны два быстрых метода определения размера и показателя преломления шаров по спектру Фурье индикатрисы, детально исследованы их области применимости. Первый метод, основанный на двух параметрах амплитудного спектра, показал схожие с эталонным методом результаты в характеристике биологических объектов сферической формы, таких как шарики молочного жира и сферизованные эритроциты. Второй метод, основанный на использовании фазового спектра, подходит для характеристики полистирольных шариков с хорошей точностью.
4. Разработан спектральный метод оценки несферичности частиц любой формы. Установлено, что естественной характеристикой несферичности для сфероидов является размер умноженный на квадрат эксцентриситета. На основе этого предложена универсальная характеристика несферичности для произвольной формы. Данная характеристика коррелирует с предложенным спектральным параметром несферичности, вычисляемым из комплексного спектра индикатрисы. Проверка на экспериментальных данных показала качественное согласие нового метода оценки несферичности с эталонным

методом, а в некоторых приложениях и лучшую чувствительность. В частности, данный метод позволил количественно описать кинетику лизиса эритроцитов.

Основные результаты докладывались на

1. XVI международной конференции «Рассеяние света и электромагнитных волн» ELS (Колледж Парк, США, 19-25 марта 2017 г);
2. XVII международной конференции «Рассеяние света и электромагнитных волн» ELS (Колледж-Стейшен, США, 5-9 марта 2018 г);
3. Международном симпозиуме «Прогресс в электромагнитных исследованиях», PIERS (Тояма, Япония, 1-4 августа 2018 г.);
4. XVIII международной конференции «Рассеяние света и электромагнитных волн» ELS (Ханчжоу, Китай, 10-14 июля 2019 г);
5. XIX международной конференции «Рассеяние света и электромагнитных волн» ELS (онлайн 12-16 июня 2021 г);
6. Международной конференции по метаматериалам и нанофотонике, METANANO (онлайн, 13-17 сентября 2021 г);
7. Научных семинарах в Институте химической кинетики и горения СО РАН.

опубликованы в следующих статьях:

1. **Romanov A.V.**, Yurkin M.A. Single-particle characterization by elastic light scattering // *Laser & Photon. Rev.* 2021. Vol. 15. P. 2000368.
<https://doi.org/10.1002/lpor.202000368> (Q1)
2. **Romanov A.V.**, Konokhova A.I., Yastrebova E.S., Gilev K.V., Strokotov D.I., Chernyshev A.V., Maltsev V.P., Yurkin M.A. Spectral solution of the inverse Mie problem // *J. Quant. Spectrosc. Radiat. Transf.* 2017. Vol. 200. P. 280–294.
<https://doi.org/10.1016/j.jqsrt.2017.04.034> (Q2)
3. **Romanov A.V.**, Konokhova A.I., Yastrebova E.S., Gilev K.V., Strokotov D.I., Maltsev V.P., Yurkin M.A. Sensitive detection and estimation of particle non-sphericity from the complex Fourier spectrum of its light-scattering profile // *J. Quant. Spectrosc. Radiat. Transf.* 2019. Vol. 235. P. 317–331.
<https://doi.org/10.1016/j.jqsrt.2019.07.001> (Q2)
4. **Romanov A.V.**, Yurkin M.A. Rigorous analysis of the spectral sizing of single particles based on light scattering patterns // *Optics & Laser Technology.* 2022. Vol. 151. P. 108047.
<https://doi.org/10.1016/j.optlastec.2022.108047> (Q1)

и опубликованы в тезисах конференций:

1. **Romanov A. V.**, Konokhova A. I., Yurkin M. A. A spectral method to characterize single spheres from light-scattering patterns // The book of abstracts ELS-XVI, 19–25 March 2017, College Park, MD, USA – P.107.
2. **Romanov A. V.**, Maltsev V. P., and Yurkin M. A. A spectral method to detect the particle non-sphericity from its light-scattering pattern // The book of abstracts ELS-XVII, 5–9 March 2018, College Station, TX, USA – P.107.
3. **Romanov A. V.**, Maltsev V. P., and Yurkin M. A. Estimating particle non-sphericity from the Fourier spectrum of its light-scattering pattern // PIERS 2018 Toyama Abstracts, 1–4 August 2018, Toyama, Japan – P.1309.
4. **Romanov A. V.**, Maltsev V. P., and Yurkin M. A. Assessing particle non-sphericity from the Fourier spectrum of its light-scattering pattern // The book of abstracts ELS-XVIII, 10–14 June 2019, Hangzhou, China – P.117.
5. **Romanov A. V.**, and Yurkin M. A. Characterization of a single sphere using amplitude and phase Fourier spectrum of its light-scattering profile // The book of abstracts ELS-XIX, 12–16 July 2021, online – P.64.
6. **Romanov A. V.**, and Yurkin M. A. Retrieving the refractive index of a sphere from the phase spectrum of its light-scattering profile // J. Phys.: Conf. Ser., 13–17 September 2021, online – P. 012125.

Литература

1. Schnaiter M. et al. Measurement of Wavelength-Resolved Light Absorption by Aerosols Utilizing a UV-VIS Extinction Cell // *Aerosol Sci. Technol.* Taylor & Francis, 2005. Vol. 39, № 3. P. 249–260.
2. Vehring R. et al. The characterization of fine particles originating from an uncharged aerosol: Size dependence and detection limits for Raman analysis // *J. Aeros. Sci.* 1998. Vol. 29, № 9. P. 1045–1061.
3. Schutzmann S. et al. High-energy angle resolved reflection spectroscopy on three-dimensional photonic crystals of self-organized polymeric nanospheres // *Opt. Express.* 2008. Vol. 16, № 2. P. 897–907.
4. Bohren C., Huffman D. *Absorption and Scattering of Light by Small Particles.* New York: Wiley, 1983.
5. Mishchenko M.I., Travis L.D., Lacis A.A. *Scattering, Absorption, and Emission of Light by Small Particles.* Cambridge: Cambridge University Press, 2002. 448 p.
6. Kerker M., Hampton M.I. The use of unfiltered light in determining particle radius by the polarization ratio of the scattered light // *J. Opt. Soc. Am.* Optical Society of America, 1953. Vol. 43, № 5. P. 370–372.
7. Jaggard D.L. et al. Light scattering from particles of regular and irregular shape // *Atmos. Environ.* 1981. Vol. 15, № 12. P. 2511–2519.
8. Abbireddy C.O.R., Clayton C.R.I. A review of modern particle sizing methods // *Proc. Inst. Civil Eng. Geotech. Eng.* ICE Publishing, 2009. Vol. 162, № 4. P. 193–201.
9. Stetefeld J., McKenna S.A., Patel T.R. Dynamic light scattering: a practical guide and applications in biomedical sciences // *Biophys. Rev.* 2016. Vol. 8, № 4. P. 409–427.
10. Sanvito T. et al. Single particle extinction and scattering optical method unveils in real time the influence of the blood components on polymeric nanoparticles // *Nanomedicine.* 2017. Vol. 13, № 8. P. 2597–2603.
11. Konokhova A.I. et al. Light-scattering flow cytometry for identification and characterization of blood microparticles // *J. Biomed. Opt.* 2012. Vol. 17. P. 057006.
12. Bulyshev A.E. et al. Three-dimensional vector microwave tomography: theory and computational experiments // *Inv. Probl.* IOP Publishing, 2004. Vol. 20, № 4. P. 1239–1259.
13. García de Abajo F.J. Optical excitations in electron microscopy // *Rev. Mod. Phys.* 2010. Vol. 82, № 1. P. 209–275.
14. Cherqui C. et al. Characterizing localized surface plasmons using electron energy-loss spectroscopy // *Annu. Rev. Phys. Chem.* 2016. Vol. 67, № 1. P. 331–357.
15. Coenen T., Vesseur E.J.R., Polman A. Angle-resolved cathodoluminescence spectroscopy // *Appl. Phys. Lett.* American Institute of Physics, 2011. Vol. 99, № 14. P. 143103.
16. Applegate R.W. et al. Optically integrated microfluidic systems for cellular characterization and manipulation // *J. Opt. A: Pure Appl. Opt.* 2007. Vol. 9, № 8. P. S122–S128.
17. Mohandas N. et al. Accurate and independent measurement of volume and hemoglobin concentration of individual red cells by laser light scattering // *Blood.* 1986. Vol. 68, № 2. P. 506–513.
18. Davis E.J., Chorbajian E. The measurement of evaporation rates of submicron aerosol droplets // *Ind. Eng. Chem. Fund.* 1974. Vol. 13, № 3. P. 272–277.
19. Holler S. et al. Two-dimensional angular optical scattering for the characterization of airborne microparticles // *Opt. Lett.* 1998. Vol. 23, № 18. P. 1489.
20. Garcia-Sucerquia J. et al. Digital in-line holographic microscopy // *Appl. Opt.* Optical Society of America, 2006. Vol. 45, № 5. P. 836–850.
21. Glover A.R., Skippon S.M., Boyle R.D. Interferometric laser imaging for droplet sizing: a method for droplet-size measurement in sparse spray systems // *Appl. Opt.* 1995. Vol. 34, № 36. P. 8409–8421.

22. Vászárhelyi L. et al. Microcomputed tomography–based characterization of advanced materials: a review // *Mater. Today Adv.* 2020. Vol. 8. P. 100084.
23. Kinnunen M., Karmenyan A. Overview of single-cell elastic light scattering techniques // *J. Biomed. Opt.* 2015. Vol. 20, № 5. P. 051040–051040.
24. Frisvad J.R., Kragh H. On Ludvig Lorenz and his 1890 treatise on light scattering by spheres // *Eur. Phys. J. H.* 2019. Vol. 44, № 2. P. 137–160.
25. Mishchenko M.I., Travis L.D. Capabilities and limitations of a current FORTRAN implementation of the T-matrix method for randomly oriented, rotationally symmetric scatterers // *J. Quant. Spectrosc. Radiat. Transf.* 1998. Vol. 60. P. 309–324.
26. Taflove A., Hagness S.C. *Advances in Computational Electrodynamics: the Finite-Difference Time-Domain Method.* 3rd ed. Boston: Artech House, 2005. 1038 p.
27. Yurkin M.A., Hoekstra A.G. The discrete dipole approximation: an overview and recent developments // *J. Quant. Spectrosc. Radiat. Transfer.* 2007. Vol. 106, № 1–3. P. 558–589.
28. Kahnert M. Numerical solutions of the macroscopic Maxwell equations for scattering by non-spherical particles: A tutorial review // *J. Quant. Spectrosc. Radiat. Transfer.* 2016. Vol. 178. P. 22–37.
29. Mishchenko M.I. *Electromagnetic Scattering by Particles and Particle Groups: An Introduction.* Cambridge, UK: Cambridge University Press, 2014. 450 p.
30. Lim J. et al. Born approximation model for light scattering by red blood cells // *Biomed. Opt. Express.* 2011. Vol. 2, № 10. P. 2784.
31. Sung Y., Barbastathis G. Rytov approximation for x-ray phase imaging // *Opt. Express.* Optical Society of America, 2013. Vol. 21, № 3. P. 2674–2682.
32. Assili S. A Review of Tomographic Reconstruction Techniques for Computed Tomography // [arXiv:1808.09172 \[physics\]](https://arxiv.org/abs/1808.09172). 2018.
33. *Optical Coherence Tomography: Technology and Applications.* 2nd ed. / ed. Drexler W., Fujimoto J.G. Springer International Publishing, 2015.
34. Goldman L.W. Principles of CT and CT Technology // *J. Nucl. Med. Technol.* 2007. Vol. 35, № 3. P. 115–128.
35. Müller P., Schürmann M., Guck J. The Theory of Diffraction Tomography // [arXiv:1507.00466 \[physics, q-bio\]](https://arxiv.org/abs/1507.00466). 2016.
36. Kim M.K. Principles and techniques of digital holographic microscopy // *J. Photon. Energy.* 2010. P. 018005.
37. Tahara T. et al. Digital holography and its multidimensional imaging applications: a review // *Microscopy.* Oxford Academic, 2018. Vol. 67, № 2. P. 55–67.
38. Chen N., Rehman S., Sheppard C.J.R. Recent Advances in Optical Microscopy Methods for Subcellular Imaging of Thick Biological Tissues // *Crit. Rev. Biomed. Eng.* Begel House Inc., 2013. Vol. 41, № 4–5.
39. Morris J.D., Payne C.K. *Microscopy and Cell Biology: New Methods and New Questions* // *Annu. Rev. Phys. Chem.* 2019. Vol. 70, № 1. P. 199–218.
40. Maltsev V.P., Semyanov K.A. *Characterisation of Bio-Particles from Light Scattering.* Utrecht: VSP, 2004. 132 p.
41. Strokotov D.I. et al. Is there a difference between T- and B-lymphocyte morphology? // *J. Biomed. Opt.* 2009. Vol. 14, № 6. P. 064036.
42. Moskalensky A.E. et al. Accurate measurement of volume and shape of resting and activated blood platelets from light scattering // *J. Biomed. Opt.* 2013. Vol. 18, № 1. P. 017001.
43. Pan Y.-L. et al. Characterizing and monitoring respiratory aerosols by light scattering // *Opt. Lett.* Optical Society of America, 2003. Vol. 28, № 8. P. 589–591.
44. Walters S. et al. Characterizing the size and absorption of single nonspherical aerosol particles from angularly-resolved elastic light scattering // *J. Quant. Spectrosc. Radiat. Transf.* 2019. Vol. 224. P. 439–444.
45. Dong K. et al. Label-free classification of cultured cells through diffraction imaging // *Biomed. Opt. Express.* 2011. Vol. 2, № 6. P. 1717–1726.

46. Wang W. et al. Rapid classification of micron-sized particles of sphere, cylinders and ellipsoids by diffraction image parameters combined with scattered light intensity // *J. Quant. Spectrosc. Radiat. Transf.* 2019. Vol. 224. P. 453–459.
47. Lee S.-H. et al. Characterizing and tracking single colloidal particles with video holographic microscopy // *Opt. Express.* 2007. Vol. 15, № 26. P. 18275–18282.
48. Wang A. et al. Using the discrete dipole approximation and holographic microscopy to measure rotational dynamics of non-spherical colloidal particles // *J. Quant. Spectrosc. Radiat. Transf.* 2014. Vol. 146. P. 499–509.
49. Alexander R., Leahy B., Manoharan V.N. Precise measurements in digital holographic microscopy by modeling the optical train // *J. Appl. Phys.* American Institute of Physics, 2020. Vol. 128, № 6. P. 060902.
50. van de Hulst H.C. *Light Scattering by Small Particles.* New York: Dover, 1981. 479 p.
51. Gallinet B., Butet J., Martin O.J.F. Numerical methods for nanophotonics: standard problems and future challenges // *Laser Photon. Rev.* 2015. Vol. 9, № 6. P. 577–603.
52. Latychevskaia T., Fink H.-W. Practical algorithms for simulation and reconstruction of digital in-line holograms // *Appl. Opt.* 2015. Vol. 54, № 9. P. 2424.
53. Castagner J.-L., Bigio I.J. Polar nephelometer based on a rotational confocal imaging setup // *Appl. Opt.* 2006. Vol. 45, № 10. P. 2232.
54. van der Pol E. et al. Refractive index determination of nanoparticles in suspension using nanoparticle tracking analysis // *Nano Lett.* 2014. Vol. 11, № 14. P. 6195–6201.
55. Gardiner C. et al. Measurement of refractive index by nanoparticle tracking analysis reveals heterogeneity in extracellular vesicles // *J. Extracel. Vesic.* 2014. Vol. 3. P. 25361.
56. Shuler M.L., Aris R., Tsuchiya H.M. Hydrodynamic Focusing and Electronic Cell-Sizing Techniques // *Appl. Microbiol.* 1972. Vol. 24, № 3. P. 384–388.
57. Mora J.F.D.L., Riesco-Chueca P. Aerodynamic focusing of particles in a carrier gas // *J. Fluid Mech.* Cambridge University Press, 1988. Vol. 195. P. 1–21.
58. Ba C. et al. High-throughput label-free flow cytometry based on matched-filter compressive imaging // *Biomedical Optics Express.* 2018. Vol. 9, № 12. P. 6145.
59. Rajwa B. et al. Automated classification of bacterial particles in flow by multiangle scatter measurement and support vector machine classifier // *Cytom. A.* 2008. Vol. 73, № 4. P. 369–379.
60. Konokhova A.I. et al. High-precision characterization of individual E. coli cell morphology by scanning flow cytometry // *Cytom. A.* 2013. Vol. 83, № 6. P. 568–575.
61. Bain A., Preston T.C. Mie scattering from strongly absorbing airborne particles in a photophoretic trap // *J. Appl. Phys.* 2019. Vol. 125, № 9. P. 093101.
62. Jakubczyk D. et al. Optical diagnostics of a single evaporating droplet using fast parallel computing on graphics processing units // *Opto-Electron. Rev.* 2016. Vol. 24, № 3.
63. Kinnunen M. et al. Optical tweezers-assisted measurements of elastic light scattering / ed. Genina E.A. et al. Saratov, Russian Federation, 2014. P. 90310A.
64. Kinnunen M. et al. Effect of the size and shape of a red blood cell on elastic light scattering properties at the single-cell level // *Biomed. Opt. Express.* 2011. Vol. 2, № 7. P. 1803.
65. Geffrin J.M. et al. Electromagnetic three-dimensional reconstruction of targets from free space experimental data // *Appl. Phys. Lett.* 2008. Vol. 92, № 19. P. 194103.
66. Chaumet P.C., Belkebir K. Three-dimensional reconstruction from real data using a conjugate gradient-coupled dipole method // *Inv. Probl.* 2009. Vol. 25, № 2. P. 024003.
67. Doornbos R.M.P. et al. Elastic light-scattering measurements of single biological cells in an optical trap // *Appl. Opt.* 1996. Vol. 35, № 4. P. 729.
68. Cross E.S. et al. Single particle characterization using a light scattering module coupled to a time-of-flight aerosol mass spectrometer // *Atmos. Chem. Phys.* 2009. P. 7769–7793.
69. Gill R.J., Mohan S., Dreizin E.L. Sizing and burn time measurements of micron-sized metal powders // *Rev. Sci. Instrum.* 2009. Vol. 80, № 6. P. 064101.

70. Wang X. et al. A novel optical instrument for estimating size segregated aerosol mass concentration in real time // *Aerosol Sci. Technol.* 2009. Vol. 43, № 9. P. 939–950.
71. Loiko V.A. et al. Morphometric model of lymphocyte as applied to scanning flow cytometry // *J. Quant. Spectrosc. Radiat. Transf.* 2006. Vol. 102, № 1. P. 73–84.
72. Tycko D.H. et al. Flow-cytometric light scattering measurement of red blood cell volume and hemoglobin concentration // *Appl. Opt.* 1985. Vol. 24, № 9. P. 1355–1365.
73. Flynn R.A. et al. Two-beam optical traps: Refractive index and size measurements of microscale objects // *Biomed. Microdevices.* 2005. Vol. 7, № 2. P. 93–97.
74. Ding L. et al. A method of simultaneously measuring particle shape parameter and aerodynamic size // *Atmos. Environ.* 2016. Vol. 139. P. 87–97.
75. Lane P.A. et al. Characterization of single particle aerosols by elastic light scattering at multiple wavelengths // *J. Quant. Spectrosc. Radiat. Transf.* 2018. Vol. 208. P. 188–195.
76. Szymanski W.W. et al. A new method for the simultaneous measurement of aerosol particle size, complex refractive index and particle density // *Meas. Sci. Technol.* 2002. Vol. 13, № 3. P. 303–307.
77. Moteki N. Capabilities and limitations of the single-particle extinction and scattering method for estimating the complex refractive index and size-distribution of spherical and non-spherical submicron particles // *J. Quant. Spectrosc. Radiat. Transf.* 2020. Vol. 243. P. 106811.
78. Umhauer H., Bottlinger M. Effect of particle shape and structure on the results of single-particle light-scattering size analysis // *Appl. Opt.* 1991. Vol. 30, № 33. P. 4980–4986.
79. Ackleson S.G., Spinrad R.W. Size and refractive index of individual marine particulates: a flow cytometric approach // *Appl. Opt.* 1988. Vol. 27, № 7. P. 1270–1277.
80. Potenza M.A.C., Sanvito T., Pullia A. Accurate sizing of ceria oxide nanoparticles in slurries by the analysis of the optical forward-scattered field // *J. Nanopart. Res.* 2015. Vol. 17, № 2. P. 110.
81. Potenza M., Milani P. Free nanoparticle characterization by optical scattered field analysis: opportunities and perspectives // *J. Nanopart. Res.* 2014. Vol. 16, № 11. P. 1–15.
82. Ray A.K. et al. Precision of light scattering techniques for measuring optical parameters of microspheres // *Appl. Opt.* 1991. Vol. 30, № 27. P. 3974–3983.
83. Nakagawa M. et al. Design and characterization of a novel single-particle polar nephelometer // *Aerosol Sci. Technol.* 2016. Vol. 50, № 4. P. 392–404.
84. Abdelmonem A. et al. PHIPS–HALO: the airborne Particle Habit Imaging and PolarScattering probe – Part 1: Design and operation // *Atmos. Meas. Tech.* 2016. Vol. 9, № 7. P. 3131–3144.
85. Abdelmonem A. et al. First correlated measurements of the shape and light scattering properties of cloud particles using the new Particle Habit Imaging and Polar Scattering (PHIPS) probe // *Atmos. Meas. Tech.* 2011. Vol. 4, № 10. P. 2125–2142.
86. Schnaiter M. et al. Cloud chamber experiments on the origin of ice crystal complexity in cirrus clouds // *Atmos. Chem. Phys.* 2016. Vol. 16, № 8. P. 5091–5110.
87. Zhang L. et al. Scattering pulse of label free fine structure cells to determine the size scale of scattering structures // *Rev. Sci. Instrum.* 2016. Vol. 87, № 4. P. 044301.
88. Maltsev V.P. Scanning flow cytometry for individual particle analysis // *Rev. Sci. Instrum.* 2000. Vol. 71, № 1. P. 243–255.
89. Konokhova A.I. et al. Ultimate peculiarity in angular spectrum enhances the parametric solution of the inverse Mie problem // *J. Quant. Spectrosc. Radiat. Transf.* 2019. Vol. 235. P. 204–208.
90. Gilev K.V. et al. Advanced consumable-free morphological analysis of intact red blood cells by a compact scanning flow cytometer // *Cytometry A.* 2017. Vol. 91. P. 867–873.
91. Strokotov D.I. et al. Polarized light-scattering profile - advanced characterization of nonspherical particles with scanning flow cytometry // *Cytometry A.* 2011. Vol. 79A, № 7. P. 570–579.
92. Konokhova A.I. et al. Light-scattering gating and characterization of plasma microparticles // *J. Biomed. Opt.* 2016. Vol. 21, № 11. P. 115003.

93. Dyatlov G.V. et al. The scanning flow cytometer modified for measurement of two-dimensional light-scattering pattern of individual particles // *Meas. Sci. Technol.* 2008. Vol. 19, № 1. P. 015408.
94. Philips L.A. et al. Holographic characterization of contaminants in water: Differentiation of suspended particles in heterogeneous dispersions // *Water Res.* 2017. Vol. 122. P. 431–439.
95. Wang H. et al. Pattern recognition and classification of two cancer cell lines by diffraction imaging at multiple pixel distances // *Pattern Recognit.* 2017. Vol. 61. P. 234–244.
96. Dannhauser D. et al. Label-free analysis of mononuclear human blood cells in microfluidic flow by coherent imaging tools // *J. Biophoton.* 2017. Vol. 10. P. 683–689.
97. Wang S. et al. Development and evaluation of realistic optical cell models for rapid and label-free cell assay by diffraction imaging // *J. Biophoton.* 2019. Vol. 12, № 4. P. e201800287.
98. Jacobs K.M., Lu J.Q., Hu X.-H. Development of a diffraction imaging flow cytometer // *Opt. Lett.* 2009. Vol. 34, № 19. P. 2985.
99. Yu S. et al. A novel method of diffraction imaging flow cytometry for sizing microspheres // *Opt. Express.* 2012. Vol. 20, № 20. P. 22245–22251.
100. Jacobs K.M. et al. Diffraction imaging of spheres and melanoma cells with a microscope objective // *J. Biophoton.* 2009. Vol. 2, № 8–9. P. 521–527.
101. Hu X.-H., Lu J.Q. Label-Free Cell Classification with Diffraction Imaging Flow Cytometer // *Advanced Optical Flow Cytometry* / ed. Tuchin V.V. Weinheim, Germany: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2011. P. 311–331.
102. Sa Y. et al. Study of low speed flow cytometry for diffraction imaging with different chamber and nozzle designs: Study of Low Speed Flow Cytometry // *Cytom. A.* 2013. Vol. 83, № 11. P. 1027–1033.
103. Wang H. et al. Acquisition of cross-polarized diffraction images and study of blurring effect by one time-delay-integration camera // *Appl. Opt.* 2015. Vol. 54, № 16. P. 5223.
104. Zhang J. et al. Analysis of cellular objects through diffraction images acquired by flow cytometry // *Opt. Express.* 2013. Vol. 21, № 21. P. 24819–24828.
105. Feng Y. et al. Polarization imaging and classification of Jurkat T and Ramos B cells using a flow cytometer // *Cytometry.* 2014. Vol. 85, № 9. P. 817–826.
106. Xie L. et al. Automatic classification of acute and chronic myeloid leukemic cells with wide-angle label-free static cytometry // *Opt. Express.* Optical Society of America, 2017. Vol. 25, № 23. P. 29365–29373.
107. Zhang N. et al. Discriminating Ramos and Jurkat cells with image textures from diffraction imaging flow cytometry based on a support vector machine // *Curr. Bioinform.* 2018. Vol. 13, № 1. P. 50–56.
108. Wang W. et al. Resolving power of diffraction imaging with an objective: a numerical study // *Opt. Express.* 2017. Vol. 25, № 9. P. 9628.
109. Holler S., Fuerstenau S.D., Skelsey C.R. Simultaneous two-color, two-dimensional angular optical scattering patterns from airborne particulates: Scattering results and exploratory analysis // *J. Quant. Spectrosc. Radiat. Transf.* 2016. Vol. 178. P. 167–175.
110. Holler S. et al. Multivariate analysis and classification of two-dimensional angular optical scattering patterns from aggregates // *Appl. Opt.* 2004. Vol. 43, № 33. P. 6198.
111. Neukammer J. et al. Angular distribution of light scattered by single biological cells and oriented particle agglomerates // *Appl. Opt.* 2003. Vol. 42, № 31. P. 6388.
112. Crosta G.F. et al. Classification of single-particle two-dimensional angular optical scattering patterns and heuristic scatterer reconstruction // *Opt. Eng.* International Society for Optics and Photonics, 2003. Vol. 42, № 9. P. 2689–2701.
113. Apostolopoulos G., Tsinopoulos S.V., Dermatas E. A methodology for estimating the shape of biconcave red blood cells using multicolor scattering images // *Biomed. Signal Proc. Contr.* 2013. Vol. 8, № 3. P. 263–272.
114. Dannhauser D. et al. Multiplex single particle analysis in microfluidics // *Analyst.* 2014. Vol. 139, № 20. P. 5239–5246.

115. Dannhauser D. et al. Optical signature of erythrocytes by light scattering in microfluidic flows // *Lab Chip*. 2015. Vol. 15, № 16. P. 3278–3285.
116. Kaye P.H. et al. Classifying atmospheric ice crystals by spatial light scattering // *Opt. Lett.* 2008. Vol. 33, № 13. P. 1545.
117. Ulanowski Z. et al. Retrieving the size of particles with rough and complex surfaces from two-dimensional scattering patterns // *J. Quant. Spectrosc. Radiat. Transf.* 2012. Vol. 113, № 18. P. 2457–2464.
118. Hesselbacher K.H., Anders K., Frohn A. Experimental investigation of Gaussian beam effects on the accuracy of a droplet sizing method // *Appl. Opt.* 1991. Vol. 30, № 33. P. 4930–4935.
119. Roth N., Anders K., Frohn A. Refractive-index measurements for the correction of particle sizing methods // *Appl. Opt.* 1991. Vol. 30, № 33. P. 4960–4965.
120. Maeda M., Akasaka Y., Kawaguchi T. Improvements of the interferometric technique for simultaneous measurement of droplet size and velocity vector field and its application to a transient spray // *Exp. Fluids*. 2002. Vol. 33, № 1. P. 125–134.
121. Xie L. et al. 2D light scattering static cytometry for label-free single cell analysis with submicron resolution: Novel 2D Light Scattering Static Cytometer // *Cytom. A*. 2015. Vol. 87, № 11. P. 1029–1037.
122. Xu J., Ge B., Lu Q. Wide-range and accurate particle sizing using extended interferometric particle imaging technique // *Rev. Sci. Instrum.* 2018. Vol. 89, № 12. P. 123707.
123. Aptowicz K.B. et al. Optical scattering patterns from single urban aerosol particles at Adelphi, Maryland, USA: A classification relating to particle morphologies // *J. Geophys. Res.* 2006. Vol. 111, № D12. P. D12212.
124. Pan Y.-L. et al. Measurement and autocorrelation analysis of two-dimensional light-scattering patterns from living cells for label-free classification // *Cytom. A*. 2011. Vol. 79A, № 4. P. 284–292.
125. Crosta G.F. et al. Automated classification of single airborne particles from two-dimensional angle-resolved optical scattering (TAOS) patterns by non-linear filtering // *J. Quant. Spectrosc. Radiat. Transf.* 2013. Vol. 131. P. 215–233.
126. Aptowicz K.B. et al. Decomposition of atmospheric aerosol phase function by particle size and asphericity from measurements of single particle optical scattering patterns // *J. Quant. Spectrosc. Radiat. Transf.* 2013. Vol. 131. P. 13–23.
127. Sindoni O.I. et al. Optical scattering by biological aerosols: experimental and computational results on spore simulants // *Opt. Express*. 2006. Vol. 14, № 15. P. 6942.
128. Ding H. et al. Fourier transform light scattering of inhomogeneous and dynamic structures // *Phys. Rev. Lett.* 2008. Vol. 101, № 23. P. 238102.
129. Choi W. et al. Field-based angle-resolved light-scattering study of single live cells // *Opt. Lett.* 2008. Vol. 33, № 14. P. 1596.
130. Park Y. et al. Static and dynamic light scattering of healthy and malaria-parasite invaded red blood cells // *J. Biomed. Opt.* 2010. Vol. 15, № 2. P. 020506.
131. Ding H. et al. Fourier transform light scattering of biological structure and dynamics // *IEEE J. Sel. Top. Quantum Electron.* 2010. Vol. 16, № 4. P. 909–918.
132. Kim K., Park Y. Fourier transform light scattering angular spectroscopy using digital inline holography // *Opt. Lett.* 2012. Vol. 37, № 19. P. 4161.
133. Jo Y. et al. Angle-resolved light scattering of individual rod-shaped bacteria based on Fourier transform light scattering // *Sci. Rep.* 2015. Vol. 4, № 1. P. 5090.
134. Jung J. et al. Measurements of polarization-dependent angle-resolved light scattering from individual microscopic samples using Fourier transform light scattering // *Opt. Express*. 2018. Vol. 26, № 6. P. 7701.
135. Thompson B.J. Holographic particle sizing techniques // *J. Phys. E: Sci. Instrum.* 1974. Vol. 7, № 10. P. 781–788.
136. Cheong F.C. et al. Flow visualization and flow cytometry with holographic video microscopy // *Opt. Express*. 2009. Vol. 17, № 15. P. 13071–13079.

137. Cheong F.C., Xiao K., Grier D.G. Technical note: Characterizing individual milk fat globules with holographic video microscopy // *J. Dairy Sci.* 2009. Vol. 92, № 1. P. 95–99.
138. Dimiduk T.G. et al. Random-subset fitting of digital holograms for fast three-dimensional particle tracking [Invited] // *Appl. Opt.* 2014. Vol. 53, № 27. P. G177–G183.
139. Dimiduk T.G., Manoharan V.N. Bayesian approach to analyzing holograms of colloidal particles // *Opt. Express.* 2016. Vol. 24, № 21. P. 24045–24060.
140. Wang A., Garmann R.F., Manoharan V.N. Tracking *E. coli* runs and tumbles with scattering solutions and digital holographic microscopy // *Opt. Express.* 2016. Vol. 24, № 21. P. 23719–23725.
141. Fung J. et al. Imaging multiple colloidal particles by fitting electromagnetic scattering solutions to digital holograms // *J. Quant. Spectrosc. Radiat. Transf.* 2012. Vol. 113, № 18. P. 2482–2489.
142. Saglimbeni F. et al. Optical characterization of an individual polymer-shelled microbubble structure via digital holography // *Soft Matter.* 2012. Vol. 8, № 34. P. 8822.
143. Wang C. et al. Holographic characterization of protein aggregates // *J. Pharm. Sci.* 2016. Vol. 105, № 3. P. 1074–1085.
144. Wang C. et al. Holographic characterization of colloidal fractal aggregates // *Soft Matter.* 2016. Vol. 12, № 42. P. 8774–8780.
145. Gao M. et al. Mueller matrix holographic method for small particle characterization: theory and numerical studies // *Appl. Opt.* 2013. Vol. 52, № 21. P. 5289–5296.
146. Berg M.J., Holler S. Simultaneous holographic imaging and light-scattering pattern measurement of individual microparticles // *Opt. Lett.* 2016. Vol. 41, № 14. P. 3363.
147. Berg M.J. et al. Solving the inverse problem for coarse-mode aerosol particle morphology with digital holography // *Sci. Rep.* 2017. Vol. 7, № 1. P. 9400.
148. Kim T. et al. Solving inverse scattering problems in biological samples by quantitative phase imaging // *Laser & Photon. Rev.* 2016. Vol. 10, № 1. P. 13–39.
149. Itzkan I. et al. Confocal light absorption and scattering spectroscopic microscopy monitors organelles in live cells with no exogenous labels // *Proc. Natl. Acad. Sci.* 2007. Vol. 104, № 44. P. 17255–17260.
150. Wilson B.K. et al. Detection of malarial byproduct hemozoin utilizing its unique scattering properties // *Opt. Express.* 2011. Vol. 19, № 13. P. 12190–12196.
151. Richter V. et al. Light scattering microscopy with angular resolution and its possible application to apoptosis // *J. Microsc.* 2015. Vol. 257, № 1. P. 1–7.
152. Wriedt T. Light scattering theories and computer codes // *J. Quant. Spectrosc. Radiat. Transfer.* 2009. Vol. 110, № 11. P. 833–843.
153. Gouesbet G., Gréhan G. *Generalized Lorenz-Mie Theories*. 2nd ed. New York, NY: Springer Berlin Heidelberg, 2016.
154. Asano S., Yamamoto G. Light scattering by a spheroidal particle // *Appl. Opt.* 1975. Vol. 14, № 1. P. 29–49.
155. Vinokurov A.A., Il'in V.B., Farafonov V.G. ScattPy: A new Python package for light scattering computations // *J. Quant. Spectrosc. Radiat. Transfer.* 2011. Vol. 112, № 11. P. 1733–1740.
156. Mackowski D.W. A general superposition solution for electromagnetic scattering by multiple spherical domains of optically active media // *J. Quant. Spectrosc. Radiat. Transfer.* 2014. Vol. 133. P. 264–270.
157. Hellmers J., Schmidt V., Wriedt T. Improving the numerical stability of T-matrix light scattering calculations for extreme particle shapes using the nullfield method with discrete sources // *J. Quant. Spectrosc. Radiat. Transfer.* 2011. Vol. 112, № 11. P. 1679–1686.
158. Gilev K.V. et al. Comparison of the discrete dipole approximation and the discrete source method for simulation of light scattering by red blood cells // *Opt. Express.* 2010. Vol. 18, № 6. P. 5681–5690.
159. Kolokolova L., Mackowski D. Polarization of light scattered by large aggregates // *J. Quant. Spectrosc. Radiat. Transfer.* 2012. Vol. 113, № 18. P. 2567–2572.

160. Draine B.T., Flatau P.J. Discrete-dipole approximation for scattering calculations // *J. Opt. Soc. Am. A*. 1994. Vol. 11, № 4. P. 1491–1499.
161. Yurkin M.A. et al. Systematic comparison of the discrete dipole approximation and the finite difference time domain method for large dielectric scatterers // *Opt. Express*. 2007. Vol. 15, № 26. P. 17902–17911.
162. Podowitz D.I. et al. Comparison of the pseudo-spectral time domain method and the discrete dipole approximation for light scattering by ice spheres // *J. Quant. Spectrosc. Radiat. Transfer*. 2014. Vol. 146. P. 402–409.
163. Mishchenko M.I. et al. First-principles modeling of electromagnetic scattering by discrete and discretely heterogeneous random media // *Phys. Rep.* 2016. Vol. 632. P. 1–75.
164. Lopatin V.N., Shepelevich N.V. Consequences of the integral wave equation in the Wentzel-Kramers-Brillouin approximation // *Opt. Spectrosc.* 1996. Vol. 81. P. 103–106.
165. Brock R.S. et al. Effect of detailed cell structure on light scattering distribution: FDTD study of a B-cell with 3D structure constructed from confocal images // *J. Quant. Spectrosc. Radiat. Transf.* 2006. Vol. 102, № 1. P. 25–36.
166. Moskalensky A.E. et al. Additivity of light-scattering patterns of aggregated biological particles // *J. Biomed. Opt.* 2014. Vol. 19. P. 085004.
167. Quist G.M., Wyatt P.J. Empirical solution to the inverse-scattering problem by the optical strip-map technique // *J. Opt. Soc. Am. A*. 1985. Vol. 2, № 11. P. 1979–1985.
168. Potenza M.A.C. et al. Single particle optical extinction and scattering allows real time quantitative characterization of drug payload and degradation of polymeric nanoparticles // *Sci. Rep.* 2015. Vol. 5. P. 18228.
169. Villa S. et al. Measuring shape and size of micrometric particles from the analysis of the forward scattered field // *J. Appl. Phys.* 2016. Vol. 119, № 22. P. 224901.
170. Potenza M. a. C. et al. Shape and size constraints on dust optical properties from the Dome C ice core, Antarctica // *Sci. Rep.* 2016. Vol. 6. P. 28162.
171. Potenza M.A.C. et al. Single-particle extinction and scattering method allows for detection and characterization of aggregates of aeolian dust grains in ice cores // *ACS Earth Space Chem.* 2017. Vol. 1, № 5. P. 261–269.
172. Berne B.J., Pecora R. *Dynamic Light Scattering: With Applications to Chemistry, Biology, and Physics*. Courier Corporation, 2000. 388 p.
173. Cremonesi L. et al. Multiparametric optical characterization of airborne dust with single particle extinction and scattering // *Aerosol Sci. Technol.* 2020. Vol. 54, № 4. P. 353–366.
174. Feng C. et al. Theoretical studies on bioaerosol particle size and shape measurement from spatial scattering profiles // *Chin. Opt. Lett.* 2011. Vol. 9, № 9. P. 092901–092904.
175. Liao R., Roberts P.L.D., Jaffe J.S. Sizing submicron particles from optical scattering data collected with oblique incidence illumination // *Appl. Opt.* 2016. Vol. 55, № 33. P. 9440.
176. Sachweh B. et al. Particle shape and structure analysis from the spatial intensity pattern of scattered light using different measuring devices // *J. Aeros. Sci.* 1999. Vol. 30, № 10. P. 1257–1270.
177. Filipe V., Hawe A., Jiskoot W. Critical Evaluation of Nanoparticle Tracking Analysis (NTA) by NanoSight for the Measurement of Nanoparticles and Protein Aggregates // *Pharm. Res.* 2010. Vol. 27, № 5. P. 796–810.
178. Hoshino T., Itoh M. Cross-sectional shape evaluation of a particle by scatterometry // *Opt. Commun.* 2016. Vol. 359. P. 240–244.
179. Ludlow I.K., Everitt J. Application of Gegenbauer analysis to light-scattering from spheres – theory // *Phys. Rev. E*. 1995. Vol. 51, № 3. P. 2516–2526.
180. Chernyshev A.V. et al. Measurement of scattering properties of individual particles with a scanning flow cytometer // *Appl. Opt.* 1995. Vol. 34. P. 6301–6305.
181. Maltsev V.P. et al. Absolute real-time measurement of particle size distribution with the flying light-scattering indicatrix method // *Appl. Opt.* 1996. Vol. 35, № 18. P. 3275–3280.

182. Maltsev V.P., Lopatin V.N. Parametric solution of the inverse light-scattering problem for individual spherical particles // *Appl. Opt.* 1997. Vol. 36, № 24. P. 6102–6108.
183. Patitsas A.J. A simple method for determining the size of a sphere from the extrema of the scattering intensity. I. Dielectric sphere // *J. Colloid Interf. Sci.* 1973. Vol. 45, № 2. P. 359–371.
184. Shepelevich N.V. et al. Extrema in the light-scattering indicatrix of a homogeneous sphere // *J. Opt. A.* 1999. Vol. 1, № 4. P. 448–453.
185. Steiner B. et al. Fast in situ sizing technique for single levitated liquid aerosols // *Appl. Opt.* 1999. Vol. 38, № 9. P. 1523–1529.
186. Min S.L., Gomez A. High-resolution size measurement of single spherical particles with a fast Fourier transform of the angular scattering intensity // *Appl. Opt.* 1996. Vol. 35, № 24. P. 4919–4926.
187. Berge B. et al. In situ size determination of single levitated solid aerosols // *Phys. Chem. Chem. Phys.* 1999. Vol. 1, № 24. P. 5485–5489.
188. Godefroy C., Adjouadi M. Particle sizing in a flow environment using light scattering patterns // *Part. Part. Sys. Charact.* 2000. Vol. 17, № 2. P. 47–55.
189. Semyanov K.A. et al. Single-particle sizing from light scattering by spectral decomposition // *Appl. Opt.* 2004. Vol. 43, № 26. P. 5110–5115.
190. Chernyshev A.V. et al. Erythrocyte lysis in isotonic solution of ammonium chloride: Theoretical modeling and experimental verification // *J. Theor. Biol.* 2008. Vol. 251, № 1. P. 93–107.
191. Fiorani L. et al. Scanning flow cytometer modified to distinguish phytoplankton cells from their effective size, effective refractive index, depolarization, and fluorescence // *Appl. Opt. Optical Society of America*, 2008. Vol. 47, № 24. P. 4405–4412.
192. Fantoni R. et al. Light scattering measurement of nanoparticle aggregates by scanning flow cytometer // *J. Optoelectron. Adv. Mater.* 2008. Vol. 10, № 9. P. 2474–2481.
193. Orlova D.Yu. et al. Light scattering by neutrophils: model, simulation, and experiment // *J. Biomed. Opt.* 2008. Vol. 13, № 5. P. 054057.
194. Авроров П.А. et al. Определение размерных параметров одиночных микрочастиц по индикатрисе светорассеяния. // *Опт. атмосфер. и океана.* 2006. Vol. 19, № 02–03. P. 202–205.
195. Yastrebova E.S. et al. Spectral approach to recognize spherical particles among non-spherical ones by angle-resolved light scattering // *Opt. Laser Technol.* 2021. Vol. 135. P. 106700.
196. Zakovic S., Ulanowski Z., Bartholomew-Biggs M.C. Application of global optimization to particle identification using light scattering // *Inv. Probl.* 1998. Vol. 14, № 4. P. 1053–1068.
197. Jakubczyk D. et al. Combining weighting and scatterometry: Application to a levitated droplet of suspension // *J. Quant. Spectrosc. Radiat. Transf.* 2013. Vol. 126. P. 99–104.
198. Gilev K.V. et al. An optimization method for solving the inverse Mie problem based on adaptive algorithm for construction of interpolating database // *J. Quant. Spectrosc. Radiat. Transfer.* 2013. Vol. 131. P. 202–214.
199. Bartholomew-Biggs M., Ulanowski Z., Zakovic S. Using global optimization for a microparticle identification problem with noisy data // *J. Global Optim.* 2005. Vol. 32, № 3. P. 325–347.
200. Konokhova A.I. et al. Enhanced characterisation of milk fat globules by their size, shape and refractive index with scanning flow cytometry // *Int. Dairy J.* 2014. Vol. 39, № 2. P. 316–323.
201. Barnes M.D. et al. A CCD based approach to high-precision size and refractive index determination of levitated microdroplets using Fraunhofer diffraction // *Rev. Sci. Instrum.* 1997. Vol. 68, № 6. P. 2287–2291.
202. Dyatlov G.V. et al. An optimization method with precomputed starting points for solving the inverse Mie problem // *Inv. Probl.* 2012. Vol. 28. P. 045012.
203. Caramanica F. A method based on particle swarm optimization to retrieve the shape of red blood cells: a preliminary assessment // *Prog. Electromag. Res. M.* 2012. Vol. 27. P. 109–117.
204. Charnigo R. et al. Credible intervals for nanoparticle characteristics // *J. Quant. Spectrosc. Radiat. Transf.* 2012. Vol. 113, № 2. P. 182–193.
205. Blohm W. Modeling light scattering in the shadow region behind thin cylinders for diameter analysis // *J. Quant. Spectrosc. Radiat. Transf.* 2018. Vol. 208. P. 125–133.

206. Duda R.O., Hart P.E. Use of the Hough transformation to detect lines and curves in pictures // Commun. ACM. 1972. Vol. 15, № 1. P. 11–15.
207. Hannel M., Middleton C., Grier D.G. Holographic characterization of imperfect colloidal spheres // Appl. Phys. Lett. 2015. Vol. 107, № 14. P. 141905.
208. Kreis T.M. Frequency analysis of digital holography with reconstruction by convolution // Opt. Eng. 2002. Vol. 41, № 8. P. 1829.
209. Cheong F.C. et al. Holographic characterization of colloidal particles in turbid media // Appl. Phys. Lett. 2017. Vol. 111, № 15. P. 153702.
210. Jones D.R., Perttunen C.D., Stuckman B.E. Lipschitzian optimization without the Lipschitz constant // J. Optim. Theory Appl. 1993. Vol. 79, № 1. P. 157–181.
211. Box G.E.P. Some theorems on quadratic forms applied in the study of analysis of variance problems, I. Effect of inequality of variance in the one-way classification // Ann. Math. Statist. 1954. Vol. 25, № 2. P. 290–302.
212. Moschopoulos P.G., Canada W.B. The distribution function of a linear combination of chi-squares // Comput. Math. Appl. 1984. Vol. 10, № 4. P. 383–386.
213. Konokhova A.I. et al. Super-resolved calibration-free flow cytometric characterization of platelets and cell-derived microparticles in platelet-rich plasma // Cytometry A. 2016. Vol. 89. P. 159–168.
214. Chernova D.N. et al. Chylomicrons against light scattering: The battle for characterization // J. Biophoton. 2018. Vol. accepted. P. e201700381.
215. Romanov A.V. et al. Spectral solution of the inverse Mie problem // J. Quant. Spectrosc. Radiat. Transf. 2017. Vol. 200. P. 280–294.
216. Yurkin M.A. et al. Experimental and theoretical study of light scattering by individual mature red blood cells with scanning flow cytometry and discrete dipole approximation // Appl. Opt. 2005. Vol. 44, № 25. P. 5249–5256.
217. Kolesnikova I.V. et al. Determination of volume, shape and refractive index of individual blood platelets // J. Quant. Spectrosc. Radiat. Transf. 2006. Vol. 102, № 1. P. 37–45.
218. Litvinenko A.L. et al. Fluorescence-free flow cytometry for measurement of shape index distribution of resting, partially activated, and fully activated platelets // Cytom. A. 2016. Vol. 89, № 11. P. 1010–1016.
219. Gilev K.V. et al. Mature red blood cells: from optical model to inverse light-scattering problem // Biomed. Opt. Express. 2016. Vol. 7, № 4. P. 1305–1310.
220. Derkachov G. et al. Fast data preprocessing with Graphics Processing Units for inverse problem solving in light-scattering measurements // J. Quant. Spectrosc. Radiat. Transf. 2017. Vol. 195. P. 189–195.
221. Muliukov A.R., Yurkin M.A. Hierarchical clustering of the precomputed signals database to solve the parametric inverse light-scattering problem // Book of Abstracts of the 17th Conference on Electromagnetic & Light Scattering. College Station, TX, USA: Texas A&M University, 2018. P. 98.
222. Ulanowski Z. et al. Application of neural networks to the inverse light scattering problem for spheres // Appl. Opt. 1998. Vol. 37, № 18. P. 4027–4033.
223. Wang Z., Ulanowski Z., Kaye P.H. On solving the inverse scattering problem with RBF neural networks: noise-free case // Neural. Comput. Appl. 1999. Vol. 8, № 2. P. 177–186.
224. Berdnik V.V., Mukhamedyarov R.D., Loiĥko V.A. Application of the neural network method for determining the characteristics of homogeneous spherical particles // Opt. Spectrosc. 2004. Vol. 96, № 2. P. 285–291.
225. Berdnik V.V., Loiko V.A. Retrieval of size and refractive index of spherical particles by multiangle light scattering: neural network method application // Appl. Opt. 2009. Vol. 48, № 32. P. 6178.
226. Berdnik V.V., Loiko V.A. Neural networks for particle parameter retrieval by multi-angle light scattering // Light Scattering Reviews 10. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2016. P. 291–340.

227. Berdnik V.V., Loiko V.A. Neural networks for aerosol particles characterization // *J. Quant. Spectrosc. Radiat. Transf.* 2016. Vol. 184. P. 135–145.
228. Berdnik V.V., Mukhamedjarov R.D., Loiko V.A. Characterization of optically soft spheroidal particles by multiangle light-scattering data by use of the neural-networks method // *Opt. Lett.* 2004. Vol. 29, № 9. P. 1019.
229. Berdnik V.V., Mukhamedyarov R.D., Loiko V.A. Sizing of soft spheroidal particles by multiangle scattered light intensity data: application of neural networks // *J. Quant. Spectrosc. Radiat. Transf.* 2004. Vol. 89, № 1–4. P. 279–289.
230. Klibanov M.V. et al. A numerical method to solve a phaseless coefficient inverse problem from a single measurement of experimental data // *SIAM J. Imaging Sci. Society for Industrial and Applied Mathematics*, 2018. Vol. 11, № 4. P. 2339–2367.
231. Berg M.J., Videen G. Digital holographic imaging of aerosol particles in flight // *J. Quant. Spectrosc. Radiat. Transf.* 2011. Vol. 112, № 11. P. 1776–1783.
232. Berg M.J., Subedi N.R. Holographic interferometry for aerosol particle characterization // *J. Quant. Spectrosc. Radiat. Transf.* 2015. Vol. 150. P. 36–41.
233. Carpio A., Dimiduk T.G., Vidal P. Optimization methods for in-line holography // *SIAM J. Imaging Sci.* 2018. Vol. 11, № 2. P. 923–956.
234. Carpio A. et al. When topological derivatives met regularized Gauss-Newton iterations in holographic 3D imaging // *J. Comput. Phys.* 2019. Vol. 388. P. 224–251.
235. David G. et al. Digital holography of optically-trapped aerosol particles // *Commun. Chem.* 2018. Vol. 1, № 1. P. 46.
236. Fienup J.R. Phase retrieval algorithms: a comparison // *Appl. Opt.* 1982. Vol. 21, № 15. P. 2758–2769.
237. Ekeberg T. et al. Three-dimensional reconstruction of the giant mimivirus particle with an X-ray free-electron laser // *Phys. Rev. Lett.* 2015. Vol. 114, № 9. P. 098102.
238. Chaumet P.C., Sentenac A., Rahmani A. Coupled dipole method for scatterers with large permittivity // *Phys. Rev. E.* 2004. Vol. 70. P. 036606.
239. Belkebir K., Chaumet P.C., Sentenac A. Superresolution in total internal reflection tomography // *J. Opt. Soc. Am. A.* 2005. Vol. 22, № 9. P. 1889–1897.
240. Chaumet P.C., Belkebir K., Lencrèrot R. Three-dimensional optical imaging in layered media // *Opt. Express.* 2006. Vol. 14, № 8. P. 3415–3426.
241. Mudry E. et al. Electromagnetic wave imaging of three-dimensional targets using a hybrid iterative inversion method // *Inv. Probl.* 2012. Vol. 28, № 6. P. 065007.
242. Bevacqua M.T., Palmeri R. Qualitative Methods for the Inverse Obstacle Problem: A Comparison on Experimental Data // *J. Imaging.* 2019. Vol. 5, № 4. P. 47.
243. Scapaticci R. et al. Exploiting Microwave Imaging Methods for Real-Time Monitoring of Thermal Ablation // *Int. J. Antennas Propag.* 2017. Vol. 2017. P. 1–13.
244. Zakaria A., Gilmore C., LoVetri J. Finite-element contrast source inversion method for microwave imaging // *Inv. Probl. IOP Publishing*, 2010. Vol. 26, № 11. P. 115010.
245. Rubæk T., Meaney P.M., Paulsen K.D. A contrast source inversion algorithm formulated using the log-phase formulation // *Int. J. Antennas Propag.* 2011. Vol. 2011. P. 1–10.
246. Coşgun S., Bilgin E., Çayören M. Microwave imaging of breast cancer with factorization method: SPIONs as contrast agent // *Med. Phys.* 2020. Vol. 47, № 7. P. 3113–3122.
247. Park W.-K. Experimental validation of the factorization method to microwave imaging // *Results Phys.* 2020. Vol. 17. P. 103071.
248. Kim K. et al. Real-time visualization of 3-D dynamic microscopic objects using optical diffraction tomography // *Opt. Express.* 2013. Vol. 21, № 26. P. 32269.
249. Kim Y. et al. Profiling individual human red blood cells using common-path diffraction optical tomography // *Sci. Rep.* 2015. Vol. 4, № 1.
250. Bevan A. et al. The application of neural networks to particle shape classification // *J. Aeros. Sci.* 1992. Vol. 23. P. 329–332.

251. Boddy L. et al. Identification of 72 phytoplankton species by radial basis function neural network analysis of flow cytometric data // *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 2000. Vol. 195. P. 47–59.
252. Morris C.W., Autret A., Boddy L. Support vector machines for identifying organisms — a comparison with strongly partitioned radial basis function networks // *Ecol. Model.* 2001. Vol. 146, № 1. P. 57–67.
253. Zhang J. et al. Comparison of contourlet transform and gray level co-occurrence matrix for analyzing cell-scattered patterns // *J. Biomed. Opt.* 2016. Vol. 21, № 8. P. 086013–086013.
254. Grant-Jacob J.A. et al. Real-time particle pollution sensing using machine learning // *Opt. Express.* 2018. Vol. 26, № 21. P. 27237.
255. Su X. et al. Two-dimensional light scattering anisotropy cytometry for label-free classification of ovarian cancer cells via machine learning // *Cytom. A.* 2020. Vol. 97, № 1. P. 24–30.
256. Ding C. Convolutional neural networks for particle shape classification using light-scattering patterns // *J. Quant. Spectrosc. Radiat. Transf.* 2020. Vol. 245. P. 106901.
257. Yu S. et al. A novel method of diffraction imaging flow cytometry for sizing microspheres // *Opt. Express.* 2012. Vol. 20, № 20. P. 22245–22251.
258. Romanov A.V. et al. Sensitive detection and estimation of particle non-sphericity from the complex Fourier spectrum of its light-scattering profile // *J. Quant. Spectrosc. Radiat. Transf.* 2019. Vol. 235. P. 317–331.
259. Maltsev V.P., Chernyshev A.V., Strokotov D.I. Light-scattering flow cytometry: Advanced characterization of individual particle morphology // *Flow Cytometry: Principles, Methodology and Applications* / ed. Papandreou S. New York: Nova Science Publishers, 2013. P. 79–104.
260. Mishchenko M.I. Scale invariance rule in electromagnetic scattering // *J. Quant. Spectrosc. Radiat. Transfer.* 2006. Vol. 101, № 3. P. 411–415.
261. Maltsev V.P. Scanning flow cytometry for individual particle analysis // *Rev. Sci. Instrum.* 2000. Vol. 71, № 1. P. 243–255.
262. Yurkin M.A. Discrete dipole simulations of light scattering by blood cells: PhD thesis. Amsterdam: University of Amsterdam, 2007. 215 p.
263. Klett J.D., Sutherland R.A. Approximate methods for modeling the scattering properties of nonspherical particles: evaluation of the Wentzel-Kramers-Brillouin method // *Appl. Opt.* 1992. Vol. 31, № 3. P. 373–386.
264. Inzhevatin K.G., Yurkin M.A. Uniform-over-size approximation of the internal fields for scatterers with low refractive-index contrast // *J. Quant. Spectrosc. Radiat. Transfer.* 2022. Vol. 277. P. 107965.
265. Malinka A.V. Analytical expressions for characteristics of light scattering by arbitrarily shaped particles in the WKB approximation // *J. Opt. Soc. Am. A.* 2015. Vol. 32, № 7. P. 1344–1351.
266. Yurkin M.A., Mishchenko M.I. Volume integral equation for electromagnetic scattering: Rigorous derivation and analysis for a set of multilayered particles with piecewise-smooth boundaries in a passive host medium // *Phys. Rev. A.* 2018. Vol. 97, № 4. P. 043824.
267. Moskalensky A.E., Yurkin M.A. Energy budget and optical theorem for scattering of source-induced fields // *Phys. Rev. A.* 2019. Vol. 99. P. 053824.
268. Maltsev V.P., Semyanov K.A. *Characterisation of Bio-Particles from Light Scattering.* Utrecht: VSP, 2004. 132 p.
269. Tarasov P.A. et al. Optics of erythrocytes // *Optics of Biological Particles* / ed. Hoekstra A.G., Maltsev V.P., Videen G. Dordrecht: Springer, 2007. P. 243–259.
270. Chernyshova E.S. et al. Influence of magnesium sulfate on HCO₃/Cl transmembrane exchange rate in human erythrocytes // *J. Theor. Biol.* 2016. Vol. 393. P. 194–202.
271. Yastrebova E.S. et al. Dual-wavelength angle-resolved light scattering used in the analysis of particles by scanning flow cytometry // *J. Opt.* IOP Publishing, 2021. Vol. 23, № 10. P. 105606.
272. Hu Y.-X. et al. Discriminating between spherical and non-spherical scatterers with lidar using circular polarization: a theoretical study // *J. Quant. Spectrosc. Radiat. Transf.* 2003. Vol. 79–80. P. 757–764.

273. Sierra A.Q., Mora A.V.D. Size–shape determination of nonspherical particles in suspension by means of full and depolarized static light scattering // *Appl. Opt.* 1995. Vol. 34, № 27. P. 6256–6262.
274. Sachweh B.A., Dick W.D., McMurry P.H. Distinguishing Between Spherical and Nonspherical Particles by Measuring the Variability in Azimuthal Light Scattering // *Aerosol Sci. Technol.* 1995. Vol. 23, № 3. P. 373–391.
275. Hirst E., Kaye P.H. Experimental and theoretical light scattering profiles from spherical and nonspherical particles // *J. Geophys. Res.* 1996. Vol. 101, № D14. P. 19231–19235.
276. Gronarz T. et al. Comparison of scattering behaviour for spherical and non-spherical particles in pulverized coal combustion // *Int. J. Therm. Sci.* 2017. Vol. 111. P. 116–128.
277. Yurkin M.A., Hoekstra A.G. The discrete-dipole-approximation code ADDA: Capabilities and known limitations // *J. Quant. Spectrosc. Radiat. Transf.* 2011. Vol. 112, № 13. P. 2234–2247.
278. Gilev K.V. et al. An optimization method for solving the inverse Mie problem based on adaptive algorithm for construction of interpolating database // *J. Quant. Spectrosc. Radiat. Transf.* 2013. Vol. 131. P. 202–214.
279. Gilev K.V. et al. Mature red blood cells: from optical model to inverse light-scattering problem // *Biomed. Opt. Express.* 2016. Vol. 7, № 4. P. 1305–1310.

Приложение

Список сокращений и символов.

Таблица 1. Список сокращений в алфавитном порядке.^a

Сокращение	Описание	Раздел
DDA	Метод дискретных диполей (Discrete-dipole approximation)	1.3
DH	Цифровая голография (Digital holography)	1.2
EBCM	Метод расширенных граничных условий (Extended boundary condition method)	1.3
FDTD	Метод конечных разностей во временной области (Finite-difference time-domain)	1.3
FTLS	Рассеяние света с преобразованием Фурье (Fourier-transform light scattering)	1.2
GLCM	Метод матриц яркостной зависимости (Gray level co-occurrence matrix)	1.3.5
GPU	Графический процессор	1.3.2
MCMC	Марковские цепи Монте-Карло	1.3.2
MSE	Среднеквадратичная разница сигналов	3.5.1
MSTM	Расширение метода Т-матриц для агрегатов шаров (Multi-sphere T-matrix)	1.3
NTA	Метод отслеживания наночастиц (Nanoparticle tracking analysis)	1.3.1
PCA	Метод главных компонент (Principal component analysis)	1.3.5
SALS	Метод малоуглового рассеяния (Small-angle light scattering)	1.2

^a Некоторые сокращения используются на английском. Для тех русских сокращений, что не встречаются широко в русской литературе, приведены также английские аналоги. Указан раздел, где сокращение расшифровывается или просто первый раз используется.

Сокращение	Описание	Раздел
SD	Стандартное отклонение	1.3.2
SPES	Метод измерения экстинкции и рассеяния одиночных частиц (Single particle optical extinction and scattering)	1.2
SVM	Метод опорных векторов (Support vector machine)	1.3.5
TAOS	Подход двумерного углового рассеяния (Two-dimensional angular optical scattering)	1.2
БПФ	Быстрое преобразование Фурье	1.3.1
ВКБ	Вентцеля–Крамерса–Бриллюэна	1.3
ИАФ	Интегральная автокорреляционная функция	2.1
ЛМ	Лоренца-Ми	Глава 1
НС	Нейронные сети	1.3
ОЗС	Обратная задача светорассеяния	Введение
ПЗС	Прибор с зарядовой связью	1.2
ПП	Показатель преломления	Введение
РБФ	Радиально-базисные функции	1.3.3
РГД	Рэляя–Ганса–Дебая	1.3
СМХШ	Спектральный метод характеристики шара	Введение
СПЦ	Сканирующий проточный цитометр	Введение
ТМ	(метод) Т-матриц	1.3
ФЭУ	Фотоэлектронный умножитель	1.2
ШМЖ	Шарики молочного жира	4.4

Таблица 2. Использованные символы, латинские и греческие буквы в алфавитном порядке.

Символ	Описание	Раздел или ур.
*	<i>Верхний индекс</i> : комплексное сопряжение	Ур. (17)
\sim_w	<i>Над и нижний индекс</i> : Оконное преобразование Фурье	Ур. (21)
$\hat{}$	<i>Над</i> : единичный вектор направления	2.1
$\tilde{}$	<i>Над</i> : операция преобразования Фурье	Ур. (15)
' " ...		
(<i>n</i>)	<i>Над</i> : Первая, вторая и <i>n</i> -я производная	2.2
об	<i>Нижний индекс</i> : характеристика оболочки	2.4
яд	<i>Нижний индекс</i> : характеристика ядра	2.4
<i>x y z</i>	<i>Нижний индекс</i> : <i>x, y, z</i> -компоненты вектора	2.4
A_0	Амплитуда нулевой частоты	3.1.1
A_{\min}	Значение минимума амплитуды слева от основного пика	3.1.1
A_p	Амплитуда основного пика	3.1.1

Символ	Описание	Раздел или ур.
a	Малая полуось сфероида	4.3.1
$a(x, y)$	Коэффициент поглощения	Ур. (10)
B_0	Линеаризованная амплитуда нулевой частоты	Ур. (53)
B_p	Линеаризованная амплитуда основного пика	Ур. (54)
b	Большая полуось сфероида	4.3.1
C_{abs}	Сечение поглощения	1.1
C_{ext}	Сечение экстинкции	Ур. (4)
C_{sca}	Сечение рассеяния	Ур. (3)
C	Контраст Вебера	Ур. (51)
c	Скорость света	Ур. (6)
c	Минимальная толщина эритроцита (в центре клетки)	4.5
c_0	Добавочный член в Ур. (39)	2.3
$\mathcal{D}_{x \pm p}$	Дифференциальный оператор полученный из $P_s(x \pm p)$	2.2.1
D	Диаметр эритроцита	4.5
d_{sp}	Размер, определенный с помощью СМХШ	4.4
d_v	Эквивалентный по объему диаметр	3.2
d	Размер частицы	1.1
\mathbf{E}_0	Падающее электрическое поле	2.1
$E_{\parallel \text{inc}}$	Параллельная плоскости рассеяния компонента падающего электрического поля	Ур. (5)
$E_{\parallel \text{sca}}$	Параллельная плоскости рассеяния компонента рассеянного электрического поля	Ур. (5)
$E_{\perp \text{inc}}$	Перпендикулярная плоскости рассеяния компонента падающего электрического поля	Ур. (5)
$E_{\perp \text{sca}}$	Перпендикулярная плоскости рассеяния компонента рассеянного электрического поля	Ур. (5)
\mathbf{e}_z	Базисный вектор вдоль оси z	2.1
F	ИАФ в приближении РГД	Ур. (18)
$F_s(p)$	ИАФ шара в приближении РГД	Ур. (20)
F_{WKB}	ИАФ шара в приближении ВКБ	2.3
F_p	Обобщенная ИАФ	Ур. (46)
\mathcal{F}	Оконный спектр Фурье индикатрисы, нормированный на угловой диапазон	Ур. (56)
$\mathbf{F}(\hat{\mathbf{r}})$	Вектор амплитуды рассеяния	2.4
$f_s(p)$	Автокорреляционная функция шара в приближении РГД	Ур. (19)
$f_{\text{WKB}}(\mathbf{p})$	Автокорреляционная функция в приближении ВКБ	Ур. (34)

Символ	Описание	Раздел или ур.
$f_{\mathbf{p}}$	Обобщенная автокорреляционная функция	Ур. (45)
$f(\mathbf{p})$	Автокорреляционная функция в приближении РГД	Ур. (17)
G	Отображение ОЗС	3.1
$H(p)$	Функция Хэвисайда	2.2
h	Максимальная толщина эритроцита	4.5
$h(x, y)$	Толщина объекта вдоль оси z	Ур. (11)
I_{inc}	Интенсивность, освещающей плоской волны	1.1
$I_{\text{meas}}(\mathbf{r})$	Измеряемая интенсивность	Ур. (8)
I	Измеряемая интенсивность рассеяния	2.2
I, Q, U, V	Параметры Стокса	Ур. (6)
J_i	Последовательность вещественных интегралов	Ур. (86)
$J(\eta)$	Интеграл формы пика	Ур. (31)
K	Осциллирующая часть интенсивности в РГД	Ур. (77)
\mathbf{k}_s	Модифицированный вектор рассеяния	2.1
\mathbf{k}'_s	Модифицированный вектор рассеяния $\hat{\mathbf{r}} - m\mathbf{e}_z$	2.3
\mathbf{k}	Волновой вектор	2.1
k	Амплитуда волнового вектора	1.1
L	Положение основного пика	2.3.2
MSE	Среднеквадратичная разница сигналов	Ур. (57)
m	Относительный показатель преломления	Ур. (2)
n_c	Количество измеряемых скалярных сигналов	1.2
$n_c^{\text{эфф}}$	Эффективное количество измеряемых скалярных сигналов	1.3.2
n	Показатель преломления частицы	1.1
n_0	Показатель преломления среды	1.1
P_{abs}	Мощность поглощения	1.1
P_{ext}	Мощность экстинкции	Ур. (4)
$P_s(p)$	Полином, описывающий форму $F_s(p)$ внутри носителя	Ур. (20)
P_{sca}	Полная мощность рассеяния	Ур. (3)
$\mathbf{P}(\mathbf{r})$	Вектор поляризации	2.4
P	Спектральный параметр несферичности	Ур. (92)
\mathcal{P}	Фурье спектр мощности	3.1.1
p_m	Количество восстанавливаемых характеристик модели	1.3
\mathbf{p}	Вектор в пространстве	2.1

Символ	Описание	Раздел или ур.
p	Модуль вектора \mathbf{p}	2.1
$R_{\text{WKB}}(\mathbf{k}_s)$	Форм-фактор в приближении ВКБ	Ур. (32)
$R(\mathbf{k}_s)$	Форм-фактор в приближении РГД	Ур. (14)
\mathbf{r}'_1	Точка входа в частицу	2.3
\mathbf{r}	Вектор координаты точки в пространстве	1.1
r	Модуль вектора координаты точки в пространстве	Ур. (5)
S_e	Функционал S_p для сфероида	Ур. (97)
S_p	Функционал для определения характеристики несферичности	Ур. (95)
S_{ij}	Элемент матрицы Мюллера	Ур. (7)
S_{1-4}	Компоненты амплитудной матрицы рассеяния	Ур. (5)
t	Время	1.1
$t(x, y)$	Функция пропускания	Ур. (9)
$U(\mathbf{r})$	Индикаторная функция объема частицы	Ур. (15)
$u(\xi_m)$	Гладкая медленно меняющаяся функция	2.3
V_s	Объем шара	4.5
ν	Частотная координата из БПФ	Ур. (21)
W_p	Весовая функция при вычислении P	Ур. (92)
W	Весовая функция	Ур. (58)
w	Оконная функция Ханна	Ур. (22)
x	Дифракционный параметр	(1)
x, y, z	x, y, z -компоненты вектора \mathbf{r} .	1.1
Y	Неосциллирующая часть интенсивности в РГД	Ур. (76)
$z_e(r)$	Граница сфероида в плоскости оси вращения (z)	Ур. (98)
$z_{\text{RBC}}(r)$	Граница эритроцита в плоскости оси вращения (z)	4.5
$z_s(r)$	Граница шара по оси (z)	Ур. (98)
z_x	z -координата точки входа луча, проходящего через точку \mathbf{x}	2.3
$Z(\nu)$	Нормированный комплексный спектр индикатрисы	4.4
α	Угол ориентации сфероида	4.2
γ	Квадрат эксцентриситета сфероида	Ур. (69)
δ	Дельта-функция Дирака	2.2
ε_{es}	Линейная оценка отношения полуосей	Ур. (94)
ε	Отношение полуосей	3.2

Символ	Описание	Раздел или ур.
ε_0	Диэлектрическая проницаемость вакуума	Ур. (6)
η	Обобщенная характеристика несферичности	Ур. (96)
θ'	Угол между биссектрисой угла, образованного направлениями падения и рассеяния, и осью вращения сфероида	4.3.1
θ	Полярный угол	1.1
λ	Длина волны	1.1
$[\xi_1, \xi_2]$	Измеряемый угловой диапазон в координатах ξ	2.2
ξ_m	Координата рассеяния в ВКБ $\sqrt{m\xi^2 + (m-1)^2}$	2.3
ξ	Координата рассеяния $2 \sin(\theta/2)$	2.1
$\Pi_{a,b}(p)$	Функция единичного импульса	2.2
ρ	Параметр набега фазы	Ур. (2)
τ	$(\xi_2 - \xi_1)/2$	2.2
φ	Значение фазы спектра в максимуме основного пика	2.3.2
ϕ	Азимутальный угол	1.1
$\phi(x, y)$	Коэффициент сдвига фазы	Ур. (10)
χ^2	Распределение случайной величины	1.3.2
ω	Частота излучения	1.1