



Università di Genova

DIFAR
Dipartimento di Farmacia

Corso di laurea in chimica e tecnologie farmaceutiche

**STUDIO DELLA PENETRAZIONE DELLA RADIAZIONE NIR
ATTRAVERSO MATERIALI POLIMERICI: UN APPROCCIO
ESPLORATIVO MEDIANTE ANALISI DELLE COMPONENTI PRINCIPALI**

Relatrice

Prof.ssa Cristina Malegori

Correlatori

Prof. Paolo Oliveri

Dott.ssa Sara Gariglio

Candidata

Bassoli Rebecca

Anno accademico 2025-2026

Riassunto

Questo lavoro di tesi affronta un limite della letteratura scientifica, che considera l'imaging iperspettrale nel vicino infrarosso (NIR-HSI) come una tecnica di analisi superficiale. Lo scopo è volto a dimostrarne l'efficacia nell'esplorazione degli strati profondi dei campioni, distinguendo la natura chimica dalla geometria dei materiali.

A tal fine sono stati realizzati mediante stampa 3D 54 campioni polimerici stratificati in acido polilattico (PLA) e polietilentereftalato glicole-modificato (PETG), variando sia lo spessore dei polimeri sia la trama di stampa. Le immagini iperspettrali, acquisite nel range 1000–2500 nm, sono state elaborate con un approccio multivariato applicando quattro combinazioni di pretrattamenti di riga e di colonna e utilizzando la PCA come metodo esplorativo.

I risultati dimostrano che la radiazione NIR riesce a caratterizzare i polimeri fino a circa 1 cm di profondità; infatti, è stata osservata una maggiore penetrazione nel PLA rispetto al PETG a causa della diversa natura dei legami molecolari. Parallelamente, la penetrazione è condizionata dalla struttura interna dei campioni: la stratificazione dei polimeri basata su una sovrapposizione precisa ha esteso l'intervallo di altezze indagabili rispetto a un riempimento a trama incrociata, rendendo accessibili strati profondi altrimenti invisibili.

Lo studio ha anche evidenziato l'importanza dei pretrattamenti dei dati: la combinazione della trasformata SNV e del centraggio sulla media ha ridotto con successo lo scattering luminoso e il rumore sistematico delle trame di stampa, concentrando l'informazione chimica su PC1.

In conclusione, la tecnologia NIR-HSI si è dimostrata una strategia analitica robusta per mappare in profondità campioni complessi; infatti, attraverso la corretta decodifica dei fattori chimici e strutturali, l'imaging iperspettrale si candida a riferimento per future indagini in ambiti quali la chimica forense, lo studio dei beni culturali e l'industria farmaceutica.

Abstract

This thesis addresses a limitation in the scientific literature, which predominantly considers near-infrared hyperspectral imaging (NIR-HSI) as a surface analysis technique. The objective is to demonstrate its effectiveness in exploring the deep layers of samples, distinguishing the chemical nature from the geometry of the materials. To this end, 54 stratified polymer samples composed of polylactic acid (PLA) and polyethylene terephthalate glycol-modified (PETG) were produced via 3D printing, varying both polymer thickness and printing texture. Hyperspectral images, acquired in the 1000–2500 nm range, were processed using a multivariate approach, applying four combinations of row and column pretreatments and employing PCA as an exploratory method.

The results demonstrate that NIR radiation can characterize polymers up to a depth of approximately 1 cm; indeed, a higher penetration was observed in PLA compared to PETG due to the different nature of the molecular bonds. Concurrently, penetration is influenced by the internal structure of the samples: polymer stratification based on precise overlapping extended the range of inspectable heights compared to cross-hatch infill, making deep layers accessible that would otherwise remain invisible. The study also highlighted the importance of data pretreatments: the combination of SNV transform and mean centering successfully reduced light scattering and systematic noise from the printing textures, concentrating the chemical information on PC1.

In conclusion, NIR-HSI technology proved to be a robust analytical strategy for deep mapping of complex samples; through the correct decoding of chemical and structural factors, hyperspectral imaging emerges as a reference for future investigations in fields such as forensic chemistry, cultural heritage studies, and the pharmaceutical industry.

INDICE

1. INTRODUZIONE.....	9
1.1. Stampa 3D	9
1.1.1. Produzione additiva.....	9
1.1.2. Modellazione a Deposizione Fusa.....	10
1.1.3. Materiali per la stampa FDM	11
1.1.4. Applicazioni	13
1.2. Imaging spettroscopico.....	13
1.2.1. Spettroscopia nel vicino infrarosso	14
1.2.2. Imaging iperspettrale.....	18
1.3. Chemiometria.....	24
1.3.1. Generalità	24
1.3.2. Organizzazione dei dati	25
1.3.3. Pretrattamenti	26
1.3.4. Analisi delle Componenti Principali	28
2. OBIETTIVO.....	32
3. MATERIALI E METODI.....	34
3.1. Sviluppo dei campioni	34
3.1.1. Specifiche dei campioni	34
3.1.2. Progettazione del modello openSCAD	35
3.2. Stampa 3D	37
3.2.1. La stampante 3D.....	37
3.2.2. Parametri di stampa.....	39
3.3. Acquisizione delle immagini	44
3.3.1. Strumentazione.....	44
3.3.2. Modalità operativa.....	45
3.4. Analisi dei dati.....	47
3.4.1. Dataset.....	47
3.4.2. Trattamento dei dati.....	48
3.4.3. Pretrattamenti	50
3.4.4. Spettri	51
3.4.5. PCA	52
4. RISULTATI E DISCUSSIONE	53
4.1. Analisi spettrale.....	54

4.1.1. Spettri grezzi	54
4.1.2. Spettri con trasformata SNV	58
4.2. PCA	62
4.2.1. Dati pretrattati con centraggio sulla media	62
4.2.2. Dati pretrattati con SNV e centraggio sulla media.....	70
4.2.3. Dati pretrattati con autoscalatura.....	77
4.2.4. Dati pretrattati con SNV e autoscalatura.....	85
5. CONCLUSIONI.....	91
BIBLIOGRAFIA.....	92

INDICE DELLE FIGURE

Figura 1.1 - Stampante 3D [2].	9
Figura 1.2 - Rappresentazione del funzionamento della tecnica FDM [5]......	10
Figura 1.3 - Rappresentazione di a. PLA, b. PETG, c. ABS.	13
Figura 1.4 - Onda sinusoidale.....	14
Figura 1.5 – Spettro elettromagnetico [23]......	15
Figura 1.6 - Rappresentazione schematica delle modalità di acquisizione nella spettroscopia NIR. In particolare: a. Trasmittanza, b. Riflettanza diffusa, c. Transflettanza [25]......	17
Figura 1.7 - Rappresentazione schematica dell'ipercubo iperspettrale costituito dalle dimensioni spaziali (x, y) e dalla dimensione spettrale (λ) [32]......	19
Figura 1.8 - Le tre configurazioni di un sistema HSI. In particolare: a. whiskbroom, b. snapshot, c. pushbroom [36]......	21
Figura 1.9 - Rappresentazione dei dati [50].	26
Figura 1.10 – Rappresentazione delle principali alterazioni negli spettri: a. spostamento della linea di base, b. pendenza della linea di base, c. effetto di intensità globale [50].	27
Figura 1.11 - Effetti dei pretrattamenti sui dati: a. Dati originali, b. Mean Centering, c. Autoscaling [57].	28
Figura 1.12 - Rappresentazione della matrice di dati e delle PC nello spazio [62]......	31
Figura 3.1 - Rappresentazione dei regoli da 3 cm e da 5 cm.....	34
Figura 3.2 - Progetto openSCAD di un regolo.	35
Figura 3.3 - Progetto openSCAD di un cilindro.	36

Figura 3.5 - Configurazione completa del sistema di stampa. A destra sono visibili le bobine dei polimeri caricate sui rispettivi supporti; i filamenti vengono guidati tramite tubi in PTFE verso l'unità MMU3 che ne gestisce lo scambio automatico prima dell'estrusione.....	38
Figura 3.6 - Dettaglio dell'unità MMU3 con evidenziati il selettore meccanico e il sensore FINDA.....	38
Figura 3.7 – Schema di riempimento rettilineo.....	42
Figura 3.8 - Rappresentazione delle 4 geometrie di stampa sfruttate per i cilindri:.....	42
a. concentrica, b. ottagramma a spirale, c. curva di Hilbert, d. corda di Archimede.....	42
Figura 3.9 - Esempio di immagine di prova.....	46
Figura 3.10 - Disposizione sul carrello dei regoli da 3 cm.....	47
Figura 3.11 - PC2 dei regoli da 3 cm con PETG sopra.....	49
Figura 3.12 - ROI di due cilindri.....	50
Figura 4.1 - Spettri dei polimeri puri PLA e PETG.....	54
Figura 4.2 – Spettri grezzi dei campioni acquisiti in configurazione PETG sopra da 3 cm (riga superiore) e da 5 cm (riga inferiore). I grafici si riferiscono rispettivamente ai training set (a-b), test set interno (c-d) e test set esterno (e-f).....	56
Figura 4.3 - Spettri grezzi dei campioni acquisiti in configurazione PLA sopra da 3 cm (riga superiore) e da 5 cm (riga inferiore). I grafici si riferiscono rispettivamente ai training set (a-b), test set interno (c-d) e test set esterno (e-f).....	58
Figura 4.4 - Spettri con SNV dei campioni acquisiti in configurazione PETG sopra da 3 cm (riga superiore) e da 5 cm (riga inferiore). I grafici si riferiscono rispettivamente ai training set (a-b), test set interno (c-d) e test set esterno (e-f).....	60
Figura 4.5 - Spettri con SNV dei campioni acquisiti in configurazione PLA sopra da 3 cm (riga superiore) e da 5 cm (riga inferiore). I grafici si riferiscono rispettivamente ai training set (a-b), test set interno (c-d) e test set esterno (e-f).....	61
Figura 4.6 - Risultati dell'analisi PCA per i campioni da 3 cm (PETG sopra) pretrattati con centraggio sulla media: (a) Grafico dei loading della PC2, (b) Grafico degli score del training set, (c) Grafico degli score del test set interno e (d) Score <i>image</i> del test set esterno.....	65
Figura 4.7 - Risultati dell'analisi PCA per i campioni da 5 cm (PETG sopra) pretrattati con centraggio sulla media: (a) Grafico dei loading della PC2, (b) Grafico degli score del training set, (c) Grafico degli score del test set interno e (d) Score <i>image</i> del test set esterno.....	66
Figura 4.8 - Risultati dell'analisi PCA per i campioni da 3 cm (PLA sopra) pretrattati con centraggio sulla media: (a) Grafico dei loading della PC2, (b) Grafico degli score del training set, (c) Grafico degli score del test set interno e (d) Score <i>image</i> del test set esterno.....	68

Figura 4.9 - Risultati dell'analisi PCA per i campioni da 5 cm (PLA sopra) pretrattati con centraggio sulla media: (a) Grafico dei loading della PC2, (b) Grafico degli score del training set, (c) Grafico degli score del test set interno e (d) Score <i>image</i> del test set esterno.....	69
Figura 4.10 - Risultati dell'analisi PCA per i campioni da 3 cm (PETG sopra) pretrattati con SNV e centraggio sulla media: (a) Grafico dei loading della PC1, (b) Grafico degli score del training set, (c) Grafico degli score del test set interno e (d) Score <i>image</i> del test set esterno.	72
Figura 4.11 - Risultati dell'analisi PCA per i campioni da 5 cm (PETG sopra) pretrattati con SNV e centraggio sulla media: (a) Grafico dei loading della PC1, (b) Grafico degli score del training set, (c) Grafico degli score del test set interno e (d) Score <i>image</i> del test set esterno.	73
Figura 4.12 - Risultati dell'analisi PCA per i campioni da 3 cm (PLA sopra) pretrattati con SNV e centraggio sulla media: (a) Grafico dei loading della PC1, (b) Grafico degli score del training set, (c) Grafico degli score del test set interno e (d) Score <i>image</i> del test set esterno.	75
Figura 4.13 - Risultati dell'analisi PCA per i campioni da 5 cm (PLA sopra) pretrattati con SNV e centraggio sulla media: (a) Grafico dei loading della PC1, (b) Grafico degli score del training set, (c) Grafico degli score del test set interno e (d) Score <i>image</i> del test set esterno.	76
Figura 4.14 - Risultati dell'analisi PCA per i campioni da 3 cm (PETG sopra) pretrattati con autoscalatura: (a) Grafico dei loading della PC1, (b) Grafico degli score del training set, (c) Grafico degli score del test set interno e (d) Score <i>image</i> del test set esterno.....	80
Figura 4.15 - Risultati dell'analisi PCA per i campioni da 5 cm (PETG sopra) pretrattati con autoscalatura: (a) Grafico dei loading della PC1, (b) Grafico degli score del training set, (c) Grafico degli score del test set interno e (d) Score <i>image</i> del test set esterno.....	81
Figura 4.16 - Risultati dell'analisi PCA per i campioni da 3 cm (PLA sopra) pretrattati con autoscalatura: (a) Grafico dei loading della PC1, (b) Grafico degli score del training set, (c) Grafico degli score del test set interno e (d) Score <i>image</i> del test set esterno.....	83
Figura 4.17 - Risultati dell'analisi PCA per i campioni da 5 cm (PLA sopra) pretrattati con autoscalatura: (a) Grafico dei loading della PC1, (b) Grafico degli score del training set, (c) Grafico degli score del test set interno e (d) Score <i>image</i> del test set esterno.....	84
Figura 4.18 - Risultati dell'analisi PCA per i campioni da 3 cm (PETG sopra) pretrattati con SNV e autoscalatura: (a) Grafico dei loading della PC1, (b) Grafico degli score del training set, (c) Grafico degli score del test set interno e (d) Score <i>image</i> del test set esterno.....	86
Figura 4.19 - Risultati dell'analisi PCA per i campioni da 5 cm (PETG sopra) pretrattati con SNV e autoscalatura: (a) Grafico dei loading della PC1, (b) Grafico degli score del training set, (c) Grafico degli score del test set interno e (d) Score <i>image</i> del test set esterno.....	87

Figura 4.20 - Risultati dell'analisi PCA per i campioni da 3 cm (PLA sopra) pretrattati con SNV e autoscalatura: (a) Grafico dei loading della PC1, (b) Grafico degli score del training set, (c) Grafico degli score del test set interno e (d) Score image del test set esterno.....	89
Figura 4.21 - Risultati dell'analisi PCA per i campioni da 5 cm (PLA sopra) pretrattati con SNV e autoscalatura: (a) Grafico dei loading della PC1, (b) Grafico degli score del training set, (c) Grafico degli score del test set interno e (d) Score image del test set esterno.....	90

INDICE DELLE TABELLE

Tabella 1.1 - Vantaggi spettroscopia NIR.	18
Tabella 1.2 - Vantaggi tecnica HSI	20
Tabella 3.1 - Dettagli sulla composizione polimerica e sulle impostazioni di stampa dei regoli con altezza pari a 3 cm.	40
Tabella 3.2 - Dettagli sulla composizione polimerica e sulle impostazioni di stampa dei regoli con altezza pari a 5 cm.	41
Tabella 3.3 - Dettagli sulla composizione polimerica e sulle impostazioni di stampa dei cilindri con altezza pari a 3 cm.	43
Tabella 3.4 - Dettagli sulla composizione polimerica e sulle impostazioni di stampa dei cilindri con altezza pari a 5 cm.	43
Tabella 3.5 - Dettaglio dell'altezza in mm dei regoli selezionati per il test set interno dei regoli da 3 cm e da 5 cm.	48

1. INTRODUZIONE

1.1. Stampa 3D

1.1.1. Produzione additiva

La stampa 3D, o produzione additiva, è una tecnica che consente la realizzazione di oggetti fisici a partire da rappresentazioni digitali tridimensionali. Tale tecnologia è stata commercializzata per la prima volta negli anni '80 da Charles Hull e, ad oggi, è molto sfruttata in ambito industriale grazie sia alla sua elevata versatilità, dovuta all'ampia gamma di materiali utilizzabili, sia alla possibilità di incrementare la velocità produttiva riducendo al contempo i costi [1]. La stampa 3D è inoltre ampiamente impiegata per la realizzazione di prodotti personalizzati e, data la relativa semplicità di utilizzo, può essere sfruttata anche da utenti privi di specifiche competenze tecniche.

Un esempio concreto di questa tecnologia è la stampante 3D riportata in Figura 1.1.



Figura 1.1 - Stampante 3D [2].

Esistono diverse tecniche di produzione additiva, ciascuna caratterizzata da specifici ambiti applicativi. Una classificazione ufficiale è fornita dallo standard ASTM F2792 [3], che individua sette categorie principali:

- *Vat Photopolymerization* (Fotopolimerizzazione in vasca).

- *Material Jetting* (a Getto di materiale).
- *Binder Jetting* (a Getto di legante).
- *Powder Bed Fusion* (Fusione a letto di polvere).
- *Direct Energy Deposition* (Deposizione diretta di energia).
- *Material Extrusion* (Estrusione di materiale).
- *Sheet Lamination* (Laminazione di fogli).

Ai fini della presente tesi, verrà approfondita esclusivamente la *Material Extrusion*, e in particolare la tecnica denominata Modellazione a Deposizione Fusa (FDM – *Fused Deposition Modeling*).

1.1.2. Modellazione a Deposizione Fusa

La modellazione a deposizione fusa è stata sviluppata all'inizio degli anni '90 ed è oggi una delle tecniche più diffuse grazie alla sua economicità, versatilità e semplicità di utilizzo [1], [4]. Questa tecnologia prevede la fusione di un materiale plastico all'interno di un estrusore dotato di ugello; il materiale fuso viene poi depositato, sotto pressione, su un piano di stampa dove solidifica progressivamente. Come mostrato in Figura 1.2, l'oggetto finale viene quindi realizzato mediante deposizione sequenziale di strati sovrapposti di materiale [4].

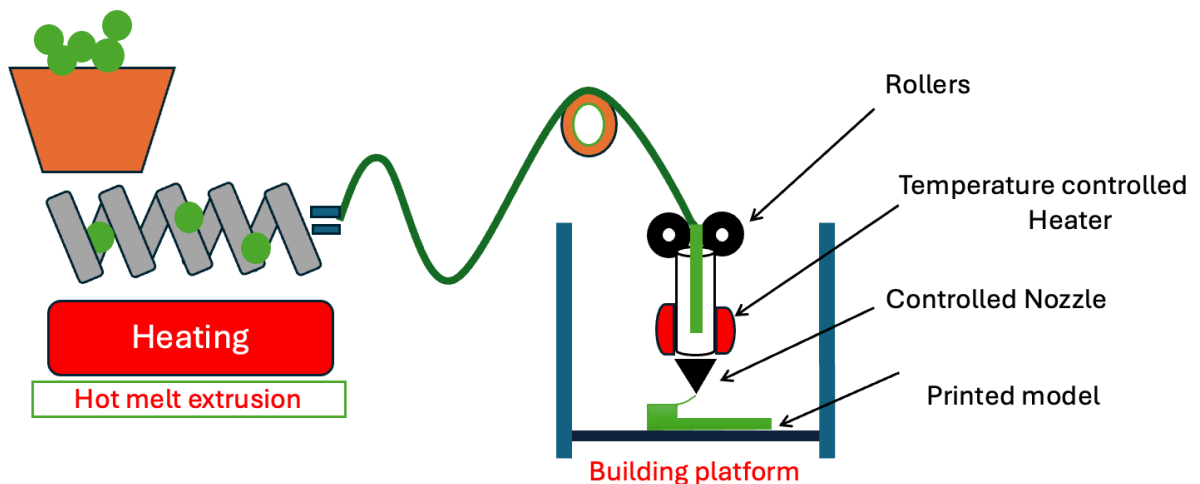


Figura 1.2 - Rappresentazione del funzionamento della tecnica FDM [5].

Durante il processo produttivo, la macchina viene guidata nella realizzazione del pezzo da un file di stampa, che deve essere preparato preliminarmente. In primo luogo, è richiesta la realizzazione di un modello tridimensionale digitale. Esso può essere progettato tramite

software di *Computer-Aided Design* (CAD), oppure è possibile scaricare modelli già pronti da piattaforme dedicate quali, ad esempio, Printables [6] o MakerWorld [7].

Successivamente, il file deve essere convertito in un formato compatibile con la stampante, tra cui quello più utilizzato è l'STL, acronimo di stereolitografia (.stl = *Standard Triangle Language* o *Standard Tessellation Language*). Un file STL descrive la geometria della superficie di un oggetto 3D attraverso una serie di triangoli collegati tra loro: maggiore è la complessità del design, maggiore sarà il numero di triangoli utilizzati per garantire una risoluzione elevata [8]. Una caratteristica distintiva di questo formato è la sua natura puramente geometrica, che non include informazioni relative, ad esempio, al colore o al materiale da usare per la stampa.

Infatti, tali specifiche vengono determinate nel passaggio successivo, ovvero lo *slicing*. In questa fase, un software dedicato converte l'informazione geometrica in coordinate di movimento attraverso la progettazione di un codice G-code, e permette di configurare i diversi parametri di stampa [9], [10].

Nel caso della tecnologia FDM, tali parametri includono:

- Il materiale utilizzato.
- La velocità di stampa.
- La temperatura dell'estrusore.
- La temperatura del piano di stampa.
- Gli ugelli usati per la stampa multimateriale.

1.1.3. Materiali per la stampa FDM

La tecnologia FDM si basa sull'impiego di materiali di natura polimerica [9], ovvero macromolecole caratterizzate da lunghe catene risultanti dalla ripetizione di unità elementari denominate monomeri [11].

La scelta di tali materiali è dettata dalla loro capacità di passare dallo stato solido a uno stato viscoso, ideale per la stampa. Tale passaggio avviene al raggiungimento della temperatura di transizione vetrosa, per i polimeri completamente amorfi, o della temperatura di fusione, per quelli semicristallini [9]. La suddetta trasformazione termica è fondamentale per permettere l'estrusione del filamento dall'ugello e consentire la deposizione dei diversi strati del materiale [9].

Ai fini della stampa 3D, è dunque necessario distinguere i polimeri in base al loro comportamento termico:

- Termoplastici: fondono se sottoposti a riscaldamento, diventano malleabili e, una volta raffreddati, solidificano nuovamente senza subire modifiche chimiche permanenti [12].
- Termoindurenti: dopo il primo processo di polimerizzazione e solidificazione, non possono essere nuovamente modellati; se sottoposti a ulteriore riscaldamento, tendono a degradarsi [12].

Nel caso della FDM, possono essere utilizzati esclusivamente polimeri termoplastici, poiché risultano facilmente modellabili mediante riscaldamento e consentono più cicli di fusione e solidificazione, rendendoli anche potenzialmente riciclabili.

Tra i materiali termoplastici più comuni si ricordano:

- Acido polilattico (PLA): è il filamento più diffuso, grazie alla facilità di stampa, alla buona stabilità dimensionale e alla versatilità applicativa [13]. La struttura molecolare è riportata in Figura 1.3a.
- Polietilene tereftalato glicol-modificato (PETG): presenta buona tenacità e una minore fragilità rispetto al PET tradizionale; la presenza del glicole, mostrata nella Figura 1.3b, ne aumenta la malleabilità e, nel contesto della presente tesi, influenza gli assorbimenti nella regione del vicino infrarosso (NIR) [14].
- Acrilonitrile Butadiene Stirene (ABS): caratterizzato da elevata resistenza meccanica e termica, è generalmente usato per creare parti meccaniche robuste e poco costose (Figura 1.3c) [15].

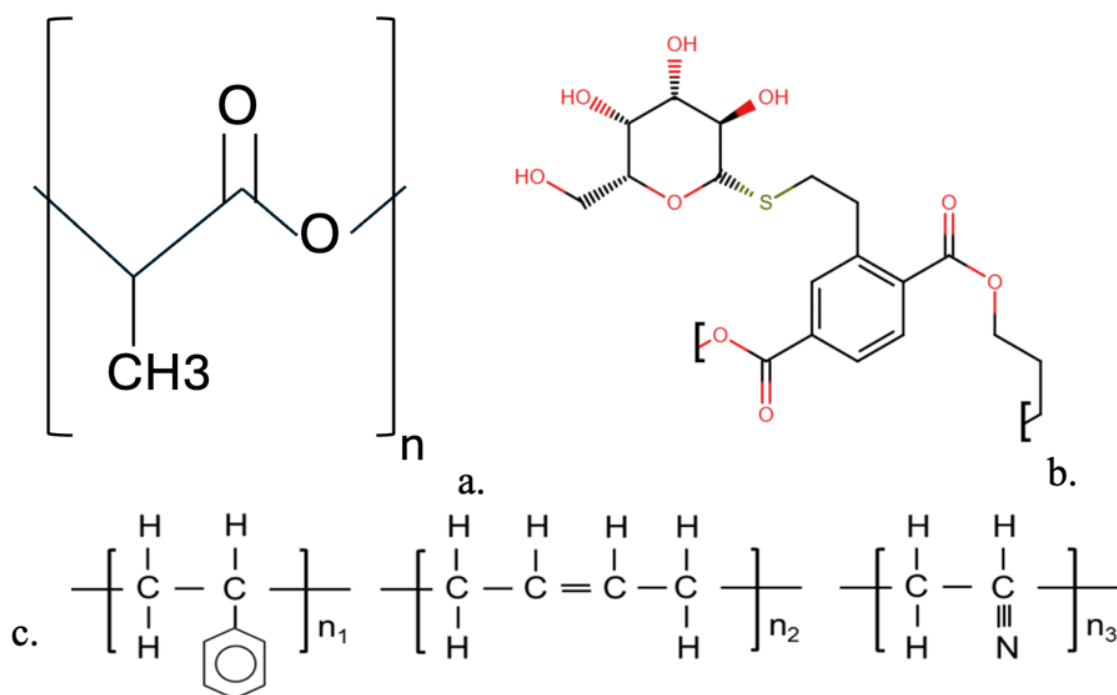


Figura 1.3 - Rappresentazione di a. PLA, b. PETG, c. ABS.

1.1.4. Applicazioni

La tecnologia di *Material Extrusion*, come precedentemente menzionato, si distingue per l'elevata versatilità applicativa. In ambito industriale essa è ampiamente utilizzata per la produzione di attrezzature, componenti tecnici e prototipi destinati al settore manifatturiero, e anche per la realizzazione di parti leggere o supporti impiegati in ambito aerospaziale e metalmeccanico [1].

Anche nel settore farmaceutico la stampa 3D ha assunto un ruolo di crescente interesse, in quanto consente la produzione di forme farmaceutiche solide con dosaggi, geometrie e dimensioni personalizzate. Tale approccio risulta particolarmente promettente nell'ottica della medicina personalizzata e dell'ottimizzazione dei profili di rilascio del principio attivo [16].

Per quel che riguarda la strumentazione analitica, la stampa 3D rappresenta una soluzione innovativa per la fabbricazione di componenti personalizzati a basso costo [1]. In particolare, essa consente la realizzazione di accessori integrabili con spettrometri commerciali [15] per misure di riflettanza nel NIR. Nello specifico, la stampa 3D ha permesso lo sviluppo di sfere integratrici per l'analisi in riflettanza diffusa di campioni torbidi; grazie all'applicazione di algoritmi specifici, ad esempio lo IAD (*Inverse Adding Doubling*), tali accessori permettono di calcolare proprietà ottiche cruciali quali, ad esempio, il coefficiente di *scattering* ridotto [17]. Inoltre, queste sfere, se rivestite interamente con solfato di bario (BaSO_4), garantiscono una riflettività interna elevata e uniforme, consentendo studi accurati di polveri e superfici irregolari [17]. In ambito analitico e spettroscopico, la stampa 3D ha anche permesso la realizzazione di adattatori universali per cuvette [17]. Infatti, grazie alla facilità di personalizzazione dei modelli CAD, è possibile modificare parametri critici, quali, ad esempio, cammino ottico o volume del campione, adattandoli alle specifiche esigenze analitiche di ogni esperimento [18].

In questo lavoro di tesi, la versatilità e la precisione della stampa 3D vengono sfruttate per la realizzazione di campioni *ad hoc*, espandendo le frontiere già tracciate da recenti studi che ne hanno validato l'uso in combinazione con la spettroscopia Raman [19]. Se in quest'ultimo contesto la stampa 3D si è dimostrata efficace per la caratterizzazione strutturale e la mappatura della distribuzione di farmaci in scaffold ossei stampati [19], questo progetto ne estende le potenzialità alla spettroscopia nel NIR, introducendo una nuova possibile applicazione in ambito chimico-analitico.

1.2. Imaging spettroscopico

1.2.1. Spettroscopia nel vicino infrarosso

La spettroscopia è una disciplina che prevede lo studio dell'interazione che si instaura tra la radiazione elettromagnetica e la materia, con lo scopo di estrarre informazioni sulle proprietà fisiche o chimiche dell'oggetto in analisi [20].

Le radiazioni elettromagnetiche nello spazio sono rappresentabili come due onde sinusoidali, una di natura elettrica e una di natura magnetica, tra loro in fase e ortogonali [21]. I parametri che caratterizzano le radiazioni sono numerosi, ma tra di essi due dei più importanti sono:

- Lunghezza d'onda (λ): espressa in metri (m) o in uno loro multiplo o sottomultiplo, essa descrive la distanza tra due massimi o due minimi adiacenti. In Figura 1.4 è possibile osservare graficamente un'onda sinusoidale con $\lambda = 2$.
- Frequenza (ν): espressa in s^{-1} o Hertz (Hz), essa descrive il numero di oscillazioni che si svolgono in un secondo.

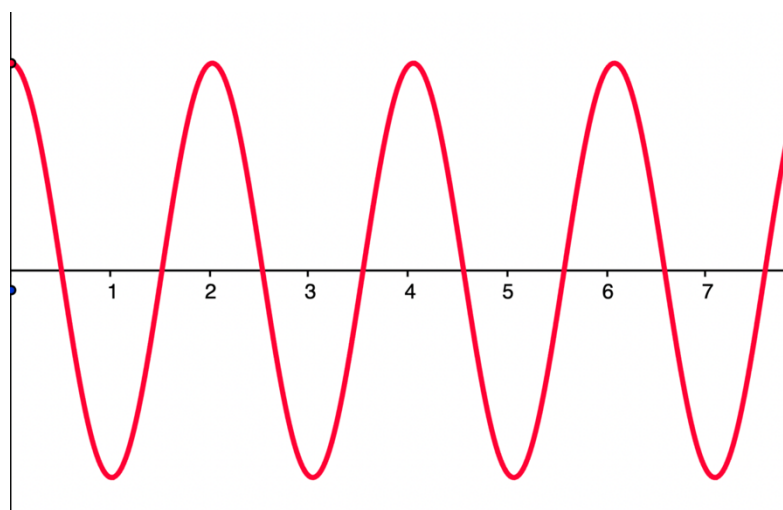


Figura 1.4 - Onda sinusoidale.

È inoltre importante notare che le radiazioni elettromagnetiche sono caratterizzate da una natura duplice, in quanto possono comportarsi sia come onde luminose sia come particelle [22], aspetto fondamentale che caratterizza l'interazione luce-materia. Infatti, nella sua natura corpuscolare, la radiazione elettromagnetica è in grado di spostare altri corpi, mentre l'energia ad essi trasferita durante l'interazione è dipendente dalla frequenza delle radiazioni. La relazione che definisce questo comportamento è:

$$E = h\nu$$

Equazione 1.1

oppure, analogamente,

$$E = h \cdot \frac{c}{\lambda} \quad \text{Equazione 1.2}$$

dove h è la costante di Planck, di valore $6,63 \cdot 10^{-34} J$, e c è la velocità della luce nel vuoto, pari a $3,00 \cdot 10^8 m/s$. L'energia di una radiazione elettromagnetica è quindi direttamente proporzionale alla frequenza e inversamente proporzionale alla lunghezza d'onda, e condiziona la natura dell'interazione tra una specifica radiazione e la materia [22].

Le radiazioni elettromagnetiche sono rappresentabili in funzione delle loro lunghezze d'onda o della frequenza, in un grafico definito spettro elettromagnetico, mostrato in Figura 1.5.

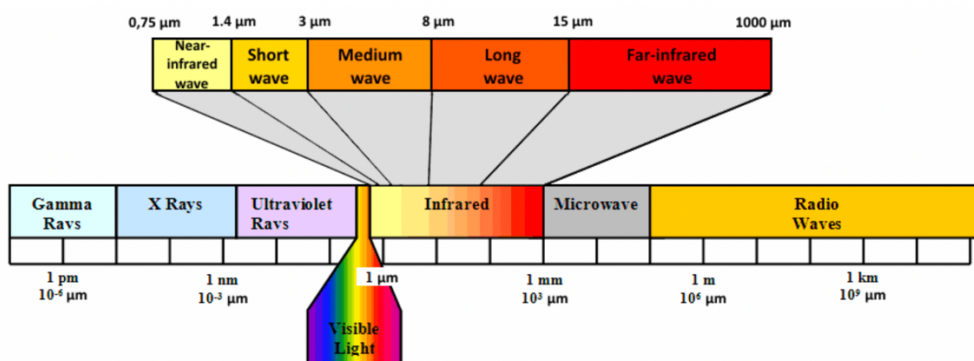


Figura 1.5 – Spettro elettromagnetico [23].

Nello spettro elettromagnetico, la radiazione NIR è compresa tra il visibile e il medio infrarosso (MIR) ed è caratterizzata da lunghezze d'onda comprese tra 0,75 e 2,5 μm (numero d'onda = $13\,300\text{ cm}^{-1} - 4000\text{ cm}^{-1}$) [24]. All'interno di questo intervallo, le onde nel NIR e le onde corte (*short wave*) sono spesso considerate insieme, prendendo il nome di SWIR.

Una delle principali caratteristiche associate alle radiazioni IR, e quindi anche al NIR, è il loro potere calorifero; infatti, interagendo con la materia possono indurre dei movimenti vibrazionali nei legami molecolari generando conseguentemente calore [24]. L'assorbimento della radiazione è possibile nei legami in cui il momento di dipolo non è nullo, e l'intensità dell'assorbimento è proporzionale all'entità del dipolo stesso. Questo spiega la possibilità di registrare chiari segnali NIR per legami C-H, N-H, S-H, e O-H, e determina l'elevata sensibilità dei sensori per questi ultimi.

Sfruttando queste interazioni, è stata sviluppata la spettroscopia NIR, appartenente alla famiglia delle spettroscopie vibrazionali, che si basa sull'eccitazione degli stati vibrazionali delle molecole provocata dalla radiazione NIR.

Come si può vedere in Figura 1.5, la regione del NIR è caratterizzata da frequenze maggiori e, conseguentemente, energie maggiori rispetto all'intervallo completo dell'IR. Questo influenza il modo in cui tale radiazione interagisce a livello degli stati vibrazionali fondamentali delle molecole, portando ad abbandonare il modello dell'oscillatore armonico solitamente impiegato per descrivere il comportamento dell'energia vibrazionale di una generica molecola [24].

Nel suddetto modello, una molecola nello stato fondamentale può raggiungere lo stato eccitato adiacente se sollecitata da una quantità discreta di energia [24]. Tuttavia, l'energia associata al NIR è superiore a quella strettamente necessaria per effettuare il singolo passaggio a uno stato energetico adiacente, pur restando insufficiente a scindere i legami tra gli atomi [24]. Di conseguenza, nella spettroscopia NIR le bande fondamentali tipiche delle transizioni vibrazionali adiacenti risultano assenti o trascurabili; predominano, invece, le bande di *overtone* e di combinazione. Nello specifico, le prime derivano da transizioni energetiche tra stati non adiacenti [24], mentre le seconde originano dall'interazione simultanea delle vibrazioni relative a più legami della medesima molecola [24].

A seguito di tutti i fenomeni precedentemente descritti, l'interpretazione degli spettri NIR risulta complessa poiché i segnali registrati derivano dall'interazione globale dei legami molecolari del campione [24]. Per poter quindi estrarre informazioni analitiche significative da tali dati, è indispensabile l'impiego di tecniche statistiche di analisi multivariata [24], di cui si parlerà più estesamente nel paragrafo 1.3. della presente tesi.

I segnali ottenuti dall'interazione tra la materia e la radiazione NIR sono riportati in forma di spettri, grafici bidimensionali che presentano in ordinata l'intensità del segnale rilevato e in ascissa il range di lunghezze d'onda di riferimento. L'unità di misura delle ordinate dipende dalle modalità con cui il segnale è registrato, che possono essere due: trasmissione e riflessione. Nel caso della trasmissione, la radiazione NIR attraversa campioni almeno in parte trasparenti in cuvette di quarzo o vetro con cammini ottici compresi tra 1 e 50 mm e poi, come illustrato nella Figura 1.6a, raggiunge direttamente il sensore. Il segnale può venire riportato in trasmittanza (T), quando si misura direttamente la quantità di radiazione che ha attraversato il campione raggiungendo il rilevatore, o in assorbanza (A), quando si calcola la radiazione che è stata assorbita dal campione per differenza tra la radiazione emessa dalla sorgente e quella rilevata dal rilevatore [25].

In riflessione, invece, la radiazione NIR colpisce la superficie di campioni opachi generalmente solidi e viene riflessa verso il sensore, che si trova dallo stesso lato della sorgente (Figura 1.6b). Il campione riflette alcune lunghezze d'onda e ne assorbe delle altre, e la radiazione residua che raggiunge il rilevatore viene espressa in riflettanza diffusa (R). Questo approccio ha il vantaggio di permettere l'analisi diretta di campioni solidi, rendendo superflua la fase di preparazione preliminare del campione [25].

Quando un apparato per riflessione viene usato su un campione almeno in parte trasparente, si può ricorrere a una misura in transflessione. In questo caso, come evidenziato in Figura 1.6c, il lato del campione non esposto verso sorgente e rilevatore viene protetto da un elemento riflettente, che fa sì che la radiazione incidente che attraversa il campione venga riflessa verso il rilevatore. In questo modo la radiazione attraversa due volte il campione, aumentando la sensibilità, e viene misurata in transflettanza [26].

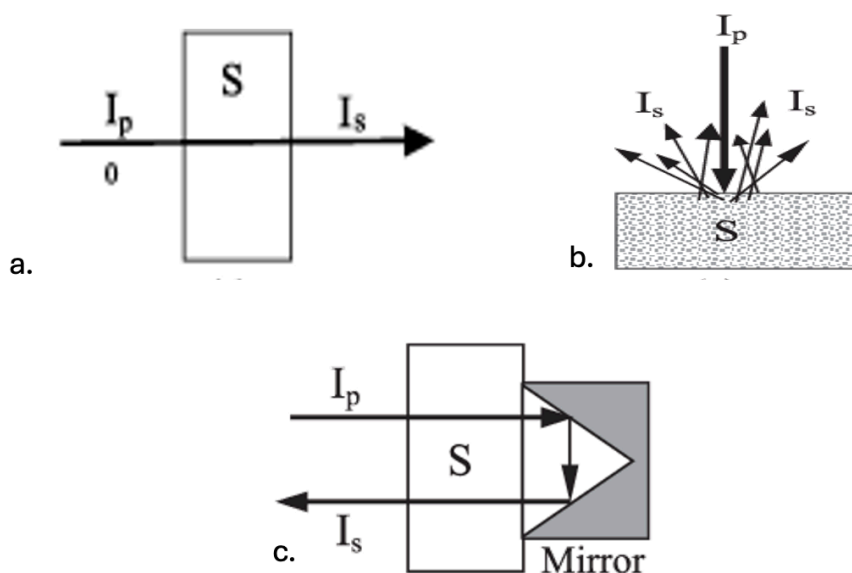


Figura 1.6 - Rappresentazione schematica delle modalità di acquisizione nella spettroscopia NIR. In particolare:
a. Trasmissione, b. Riflettanza diffusa, c. Transflettanza [25].

La spettroscopia NIR si configura come una tecnica analitica di primaria rilevanza grazie alla rapidità di acquisizione dei dati, alla natura non distruttiva dell'analisi e all'assenza di complessi pretrattamenti del campione. Gli aspetti principali che rendono la tecnica interessante sono riassunti nella Tabella 1.1. Tali caratteristiche ne hanno permesso una diffusione capillare sia in ambito industriale sia analitico.

Nell'industria farmaceutica, ad esempio, è stata ampiamente dimostrata l'efficacia dello sviluppo di sonde NIR *in-line* per il monitoraggio dei processi produttivi [27]. Un esempio

applicativo è rappresentato dall'impiego di queste sonde negli essiccatori di polveri a letto fluido per la determinazione in tempo reale dell'umidità residua [27]. Tale approccio ha offerto precisione e tempestività superiori rispetto ai metodi tradizionali nel definire il punto finale (*end-point*) del processo. Nel settore forense, la spettroscopia NIR si è rivelata uno strumento potente, ad esempio, per la datazione di tracce ematiche, fornendo un supporto cruciale nelle indagini investigative [28]. Questo approccio ha permesso di rafforzare l'affidabilità della stima dell'età dei campioni biologici, colmando il divario tra risultati di laboratorio e le sfide concrete poste dalla scena del crimine [28]. Infine, nell'industria alimentare, la spettroscopia NIR ha consentito di valutare rapidamente la qualità e l'autenticità di prodotti quali carne, latticini e cereali, facilitando l'identificazione di eventuali adulterazioni e la verifica della provenienza geografica [29].

	Vantaggi della spettroscopia NIR
Preparazione del campione	Assente o minima, grazie alle tecniche di riflettanza diffusa
Rapidità di analisi	I risultati si ottengono in pochi secondi
Tecnica non distruttiva	Il campione può essere recuperato dopo l'analisi
Analisi simultanea	Possibilità di determinare più componenti contemporaneamente e di effettuare un'analisi multiparametrica
Versatilità	Adatta a solidi, polveri, liquidi e materiali eterogenei
Automazione	Facilmente integrabile in sistemi di controllo di processo

Tabella 1.1 - Vantaggi spettroscopia NIR.

1.2.2. Imaging iperspettrale

L'Imaging Iperspettrale (HyperSpectral Imaging - HSI) è una tecnica di acquisizione che integra le potenzialità della spettroscopia con quelle dell'imaging digitale [30].

In quest'ultimo, ogni unità elementare dell'immagine, definita pixel, raccoglie informazioni spaziali relative all'intensità luminosa e alla morfologia del campione [31]. In particolare, in una classica immagine a colori RGB, ogni pixel è caratterizzato da due dimensioni spaziali (x, y) e dall'intensità di tre canali cromatici (rosso, verde, blu) [30]. In questo sistema, l'intensità di ciascun canale è espressa in una scala di valori numerici compresa tra 0 e 255; i valori prossimi allo 0 indicano una bassa intensità luminosa in quello specifico colore, risultando quindi in tonalità progressivamente più scure fino al nero assoluto [31], mentre i valori vicini a 255 indicano elevata intensità luminosa nel colore che rappresentano.

Di conseguenza, un'immagine RGB può essere visualizzata come un cubo composto da tre piani informativi, il rosso, il verde e il blu, che permettono di acquisire informazioni sul colore e dati superficiali e morfologici dell'oggetto.

Invece, nell'HSI il numero di canali che descrive ogni pixel può variare dalle centinaia alle migliaia. Questa densità informativa genera un cubo di dati, detto ipercubo: una struttura di dati tridimensionale, di cui quella riportata in Figura 1.7 è un esempio. Nell'ipercubo, le prime due dimensioni (x , y) forniscono l'informazione spaziale, mentre la terza dimensione (λ) rappresenta l'intero spettro elettromagnetico per ogni pixel [30].

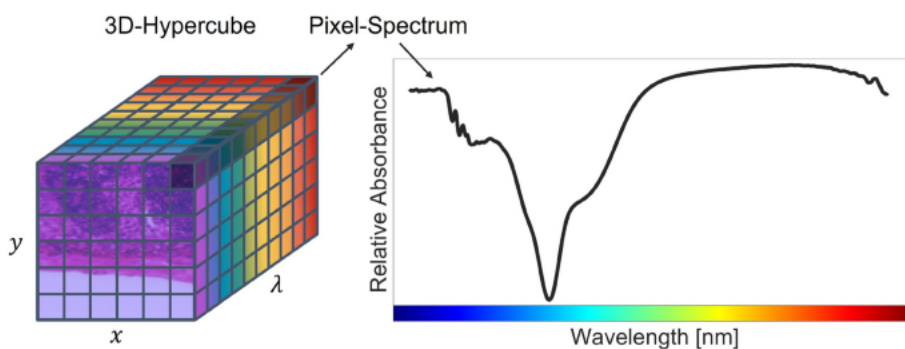


Figura 1.7 - Rappresentazione schematica dell'ipercubo iperspettrale costituito dalle dimensioni spaziali (x , y) e dalla dimensione spettrale (λ) [32].

L'elevato numero di canali consente di discriminare materiali chimicamente differenti anche se appaiono visivamente simili. L'HSI permette quindi l'identificazione qualitativa di analiti non visibili dai soli tre canali RGB, la localizzazione spaziale di composti distribuiti in modo eterogeneo e l'analisi quantitativa associata a tecniche statistiche avanzate.

Questa tecnologia presenta numerosi vantaggi rispetto alle tecniche di imaging tradizionali: gli aspetti principali che la rendono interessante in ambito analitico sono riassunti nella Tabella 1.2.

	Vantaggi del NIR-HSI
Elevato contenuto informativo	Ogni pixel dell'immagine contiene uno spettro completo, permettendo di ottenere simultaneamente informazioni spaziali e spettrali sul campione.
Analisi chimica e fisica simultanea	L'HSI consente di valutare sia caratteristiche fisiche (forma, dimensione, distribuzione spaziale, granulometria, etc...) sia proprietà chimiche dei materiali analizzati.
Identificazione dei materiali	Le firme spettrali caratteristiche permettono di distinguere e identificare diversi composti anche quando presentano un aspetto visivo simile.
Analisi non distruttiva	L'acquisizione dei dati avviene senza alterare o distruggere il campione, rendendo la tecnica particolarmente utile in ambito analitico e industriale.
Possibilità di analisi quantitativa	Grazie all'integrazione con metodi chemiometrici, è possibile sviluppare modelli predittivi per la quantificazione di specifici componenti.
Elevata velocità di acquisizione (con <i>pushbroom</i>)	Alcune modalità di acquisizione consentono di acquisire rapidamente grandi quantità di dati, rendendo la tecnica adatta anche ad applicazioni industriali.
Analisi della distribuzione spaziale degli analiti	L'HSI permette di visualizzare la distribuzione degli analiti all'interno del campione, individuando eventuali eterogeneità o variazioni locali di composizione.

Tabella 1.2 - Vantaggi tecnica HSI.

Tuttavia, l'impiego della tecnologia HSI comporta l'acquisizione di una quantità ingente di dati pesanti. Poiché a ogni pixel è associato uno spettro caratteristico composto dalle lunghezze d'onda del sistema di analisi, l'elevata dimensionalità rende difficile maneggiare e interpretare i dati. Risulta pertanto necessario l'utilizzo di tecniche chemiometriche per l'estrazione di informazioni chimiche rilevanti, tematiche che verranno approfondite nel paragrafo 1.3.

Nell'HSI l'acquisizione dell'immagine è strettamente legata alla modalità di costruzione dell'ipercubo. Una prima configurazione, riportata in Figura 1.8a, è quella definita *whiskbroom* (scansione puntuale), in cui l'acquisizione avviene un punto alla volta. In questo caso, per ogni pixel del campione il sistema registra lo spettro completo, spostandosi sequenzialmente lungo le due dimensioni x e y fino alla copertura dell'intera superficie. L'ipercubo è quindi costruito

pixel per pixel, garantendo un'elevata risoluzione spaziale, a fronte di tempi di acquisizione molto lunghi dovuti al movimento bidimensionale del sistema [33].

Al contrario, come mostrato in Figura 1.8b, la modalità *snapshot* (scansione planare) permette di acquisire l'intero ipercubo con un'unica esposizione, in quanto le dimensioni (x, y, λ) sono registrate contemporaneamente. Il sistema di analisi è progettato per operare senza movimenti meccanici, cosa che determina un'elevata velocità operativa; tuttavia, la maggiore complessità ottica necessaria comporta un generale peggioramento della risoluzione [34].

Una modalità intermedia è rappresentata, in Figura 1.8c, dalla configurazione *pushbroom* (scansione lineare), in cui il sistema acquisisce simultaneamente tutte le lunghezze d'onda per una linea di pixel del campione alla volta. Quindi, il movimento tra il rilevatore e il campione è monodimensionale. Sebbene questa modalità offra una risoluzione inferiore rispetto al *whiskbroom*, poiché la scansione è limitata in una singola dimensione, essa risulta superiore a quella di scansione planare, e presenta una velocità intermedia tra le due tecniche.

In virtù di tali caratteristiche, la scansione lineare rappresenta un compromesso ideale tra risoluzione e velocità operativa, affermandosi come la configurazione d'elezione per le applicazioni NIR-HSI. In ambito analitico, questa configurazione risulta particolarmente efficace poiché permette di sfruttare il movimento del campione su un carrello o nastro trasportatore per la formazione dell'ipercubo [35].

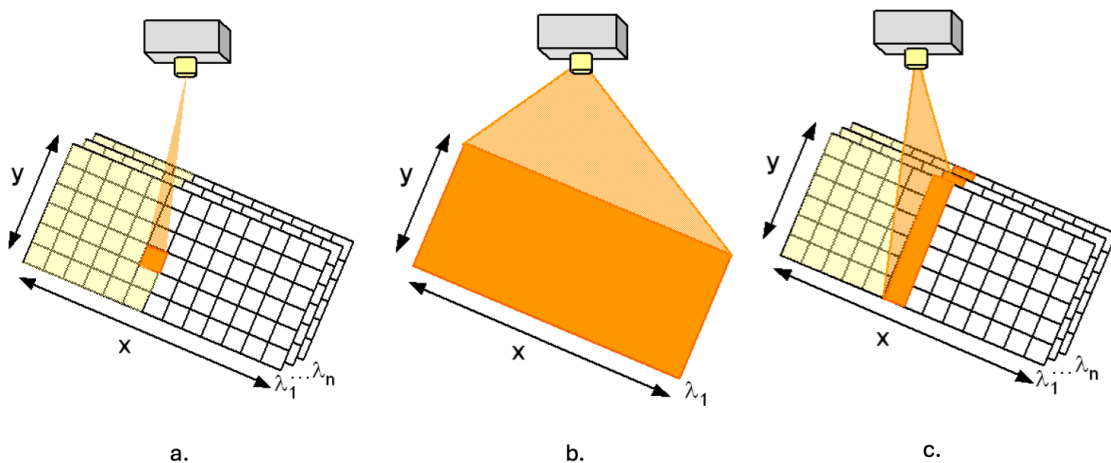


Figura 1.8 - Le tre configurazioni di un sistema HSI. In particolare: a. whiskbroom, b. snapshot, c. pushbroom [36].

La qualità di un'immagine HSI dipende da un insieme di parametri tecnici e ottici, che ne influenzano la risoluzione spaziale e la risoluzione spettrale.

La risoluzione spaziale rappresenta la capacità del sistema di discriminare due punti adiacenti nel campo visivo: essa definisce, quindi, il limite minimo oltre il quale due oggetti non sono più percepiti come entità separate, ma uniti in un unico elemento nell'immagine [37]. Tale parametro è intrinsecamente legato alla dimensione dei pixel, ovvero l'area fisica che corrisponde a un singolo elemento del sensore, generalmente espressa in micrometri (μm) [38]. Tra questi due fattori esiste un rapporto di proporzionalità inversa: l'impiego di pixel di dimensioni ridotte consente un campionamento spaziale più fitto, permettendo di catturare dettagli morfologici più fini e porzioni spaziali più minute. Tuttavia, l'ottimizzazione del dettaglio spaziale attraverso la miniaturizzazione dei pixel introduce un compromesso critico con la sensibilità del sensore. Una dimensione del pixel ridotta è infatti connessa con una minore quantità di radiazione, determinando una degradazione del rapporto segnale/rumore (SNR). Quest'ultimo parametro definisce il rapporto tra l'intensità del segnale desiderato e l'intensità del rumore, ovvero le fluttuazioni casuali e indesiderate che si hanno nella linea di base di uno spettro. Una diminuzione del valore del SNR peggiora la qualità dell'immagine, poiché il rumore diventa predominante sul segnale, mascherando i dettagli e riducendo la precisione del dato acquisito.

La scelta della dimensione del pixel è quindi fondamentale, e rappresenta un compromesso tra risoluzione spaziale e sensibilità del sensore. Specificamente, essa dipende anche dalle caratteristiche costruttive del tipo di sensore utilizzato, dal sistema ottico che viene sfruttato e in particolare dall'ingrandimento della lente utilizzata [39]. L'ingrandimento ottico di una lente determina infatti la porzione di campione proiettata sul sensore e, conseguentemente, la quantità di informazione spaziale raccolta da ciascun pixel.

Un altro parametro ottico che influenza la risoluzione spaziale è la lunghezza focale (*focal length*, FL) della lente, definita come la distanza tra il centro ottico della lente e il piano focale. Essa determina il campo visivo (*Field of View*, FOV) e quindi il livello di ingrandimento dell'immagine [40].

È quindi opportuno distinguere la presenza di lenti a FL fissa, caratterizzate da un valore nominale non modificabile, e lenti zoom, che offrono la flessibilità di variare la FL operativa in base alle specifiche esigenze del campione.

Un altro parametro ottico rilevante è la profondità di campo (*Depth of Field*), che rappresenta l'intervallo di distanze tra la camera e il campione entro il quale esso appare a fuoco; se il campione si trova al di fuori di questo intervallo, l'immagine non sarà nitida, determinando complessivamente una minor risoluzione [41].

La qualità di un'immagine è anche significativamente influenzata da una serie di parametri tecnici, tra cui la frequenza di acquisizione e il tempo di esposizione.

Il primo parametro definisce il numero di acquisizioni effettuate nell'unità di tempo e, nei sistemi a scansione a linea, assume particolare rilevanza poiché anch'esso influisce sulla risoluzione spaziale. Parallelamente, il tempo di esposizione determina la durata dell'intervallo di raccolta della radiazione sul sensore [42]. Un incremento di tale parametro favorisce l'integrazione di un maggior numero di fotoni incidenti, determinando un aumento del SNR. Tuttavia, l'estensione eccessiva del tempo di integrazione può determinare il fenomeno di saturazione del sensore, che comporta la perdita di linearità del segnale e conseguentemente la degradazione dell'informazione.

La seconda tipologia di risoluzione, ovvero la risoluzione spettrale, è invece associata alla capacità del sistema di distinguere lunghezze d'onda adiacenti all'interno di uno spettro elettromagnetico. Questo parametro, misurato come l'intervallo minimo ($\Delta\lambda$) tra due bande distinte dal sensore, determina l'accuratezza con cui è possibile rilevare variazioni spettrali, le quali riflettono le differenze nella composizione chimica dei materiali presenti nel campione [43]. Nell'HSI, la risoluzione spettrale è condizionata principalmente dalle proprietà dell'architettura ottica, in particolare dagli elementi dispersivi quali prismi e reticoli di diffrazione, e dalla larghezza delle bande spettrali registrate dal sensore.

In conclusione, l'ottimizzazione della risoluzione spettrale, spaziale e della sensibilità del sensore sono cruciali nelle applicazioni NIR-HSI. In particolare, poiché lo spettro NIR è caratterizzato da segnali larghi e sovrapposti, la capacità di discriminare le diverse componenti chimiche dipende non solo dalla risoluzione spettrale, ma anche dal SNR, ovvero dalla pulizia del segnale acquisito.

Per ottimizzare i segnali registrati durante l'acquisizione, oltre alla valutazione dei parametri ottici e tecnici, è necessario effettuare una normalizzazione dei dati. Questa procedura è fondamentale per rendere i dati delle diverse misurazioni confrontabili e per ridurre gli effetti dovuti a variazioni delle condizioni ambientali, del sensore e dell'illuminazione. Infatti, il segnale registrato dalla camera non dipende solo dalle proprietà del campione, ma anche da fattori strumentali quali la distribuzione della luce incidente e il rumore elettronico del sensore. Per queste motivazioni è necessario applicare una normalizzazione mediante l'acquisizione di due immagini di riferimento:

- *Black reference* (nero): acquisita in assenza di luce incidente, in genere coprendo l'obiettivo o spegnendo la sorgente luminosa, questa misura consente di stimare il rumore elettrico associato al sensore [44].

- *White reference* (bianco): ottenuta acquisendo lo spettro di una superficie altamente riflettente, rappresenta il massimo segnale registrabile dal sistema nelle specifiche condizioni operative [45].

Dopo aver ottenuto l'ipercubo, l'informazione contenuta nell'immagine può essere gestita tramite diversi approcci, a seconda dello scopo dell'analisi e della natura del campione. In ambito di HSI, tre sono le principali modalità:

- *Pixel based* (riferita al pixel): ogni pixel dell'immagine viene analizzato individualmente in base al proprio spettro. Sebbene questo approccio sia utile per valutare variazioni puntuali all'interno di uno stesso campione, presenta il limite di considerare ogni pixel come un'oggetto isolato, ignorando l'influenza del contesto spaziale circostante. Ai fini di un'analisi chimica, ciò potrebbe portare a risultati disomogenei per pixel della medesima natura; quindi, per ovviare a questa limitazione, si può ricorrere a trasformate che integrano le informazioni di pixel adiacenti [46].
- *Object based* (riferita all'oggetto): il campione dell'analisi è una regione o oggetto selezionato all'interno dell'immagine stessa. In genere, si effettua prima una segmentazione dell'immagine in modo tale da poter aggregare i pixel dell'oggetto di interesse e concentrarvi esclusivamente. L'oggetto verrà quindi rappresentato da un solo segnale che riassume l'informazione contenuta negli spettri dei singoli pixel attraverso la media o la mediana. Questo approccio è utile se i campioni sono costituiti da unità ben definite [47].
- *Image based* (riferita all'immagine): l'intera immagine iperspettrale viene trattata nel suo insieme e rappresentata solitamente dal suo spettro medio o mediano. Se da un lato l'ampio campionamento statistico migliora la qualità del dato spettrale, riducendo il rumore, dall'altro determina una perdita della risoluzione spaziale, poiché si riduce l'intero sistema a un unico profilo spettrale globale [35].

1.3. Chemiometria

1.3.1. Generalità

La chemiometria è una branca della chimica che sfrutta metodi e tecniche matematico-statistiche per definire il numero ottimale di esperimenti e di variabili atte a comprendere un dominio sperimentale d'interesse, oppure per ottenere la massima informazione utile da dati di natura chimica [48].

Ai fini della presente tesi si considera esclusivamente quest'ultimo approccio, definito con termine di *pattern recognition*, con il quale è possibile effettuare un'analisi multivariata di dati valutando ed evidenziando le eventuali correlazioni tra le diverse variabili a livello della struttura globale del dataset.

L'analisi multivariata prevede due categorie di metodi:

- Metodi *unsupervised* (non supervisionati): sono definiti esplorativi e sono necessari per comprendere e ottenere la massima informazione dai dati valutando la variabilità presente sia nei campioni sia nelle variabili associate [49].
- Metodi *supervised* (supervisionati): permettono di sviluppare modelli predittivi su un sistema d'interesse. In caso di analisi quantitativa si utilizzano modelli di regressione; nel caso di analisi qualitativa finalizzata alla determinazione dell'appartenenza a una classe si impiegano modelli di classificazione [49]. Ai fini del presente lavoro di tesi, tali metodi non vengono approfonditi [51].

1.3.2. Organizzazione dei dati

I metodi *unsupervised*, per poter elaborare l'informazione, necessitano di una specifica organizzazione dei dati. Ogni sistema di analisi è caratterizzato da:

- Campioni: sono una porzione rappresentativa della popolazione o sistema globale di interesse. È fondamentale che essi siano rappresentativi, in modo da dare una descrizione adeguata e globale del sistema.
- Variabili: sono i parametri con cui si caratterizzano i campioni. In questo ambito, esse sono anche definite descrittori e rappresentano le variabili misurate sperimentalmente, come ad esempio assorbanza o riflettanza in spettroscopia, oppure pH, densità, volume, etc...

In ambito univariato, i dati possono essere rappresentati come un vettore colonna che descrive un insieme di campioni per mezzo di un solo descrittore. Nell'analisi multivariata, invece, i dati sono rappresentati da una matrice in cui il numero di righe è pari a quello dei campioni e il numero di colonne è pari a quello dei descrittori. La presenza di ulteriori dimensioni, come la variabile tempo, porta alla definizione di matrici *n-way* (o *multiway*), cioè di sistemi caratterizzati da tre o più dimensioni. La gerarchia dei dati, dai vettori colonna fino alle matrici *n-way*, è illustrata graficamente nella Figura 1.9.

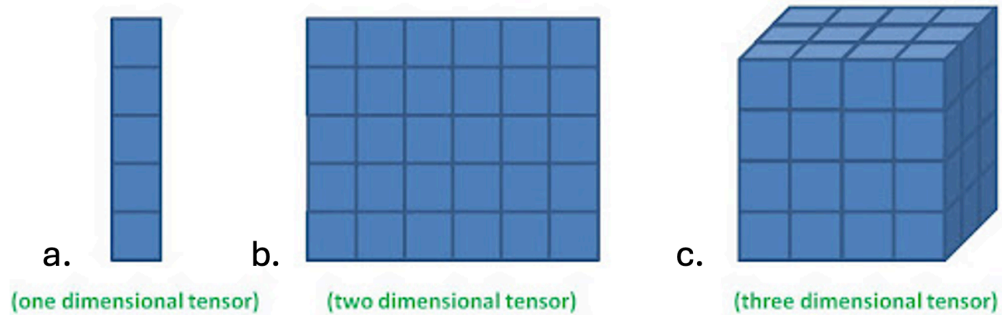


Figura 1.9 - Rappresentazione dei dati [50].

Anche i dati analitici strumentali, come gli spettri, possono essere rappresentati in forma matriciale: le righe riportano i profili spettrali registrati per ogni campione, mentre le colonne sono definite dalle intensità spettrali misurate a specifiche lunghezze d'onda.

Nel caso di immagini iperspettrali, per poter raccogliere l'informazione utile in una matrice bidimensionale è necessario effettuare due procedure fondamentali:

- *Unfolding* (distensione): un processo volto a trasformare un'immagine iperspettrale, definita da una matrice *multiway* di dimensioni (x, y, λ) , in una matrice bidimensionale $(x*y, \lambda)$ in cui le righe rappresentano i pixel e le colonne riportano le variabili spettrali [51].
- *Masking* (mascheramento): è una tecnica necessaria per estrapolare dall'immagine acquisita esclusivamente i pixel appartenenti ai campioni di interesse, eliminando quelli relativi allo sfondo o ad aree analiticamente non rilevanti [52].

1.3.3. Pretrattamenti

Per estrarre l'informazione utile è necessario sottoporre il dataset a dei pretrattamenti, distinguibili in pretrattamenti di riga e di colonna.

Nei dati spettrali, i pretrattamenti di riga operano sui campioni e sono finalizzati alla riduzione del rumore casuale e alla correzione di alterazioni spettrali sistematiche dovute a effetti fisici o strumentali quali, ad esempio, modalità di acquisizione, temperatura, umidità, scattering della luce, ect [53].

Le principali alterazioni sistematiche nei dati spettrali, rappresentate in Figura 1.10, sono:

- *Baseline shift* (spostamento della linea di base): si riferisce a uno spostamento verticale della linea di base [53], ed è rappresentato in figura 1.10a.
- *Baseline drift* (deriva della linea di base): si riferisce a una pendenza della linea di base lungo l'asse delle lunghezze d'onda [53], ed è rappresentato in figura 1.10b.

- *Global Intensity Effect* (effetto di intensità globale): si riferisce a un'amplificazione globale del segnale, tipico dello scattering luminoso [53], ed è rappresentato in figura 1.10c.

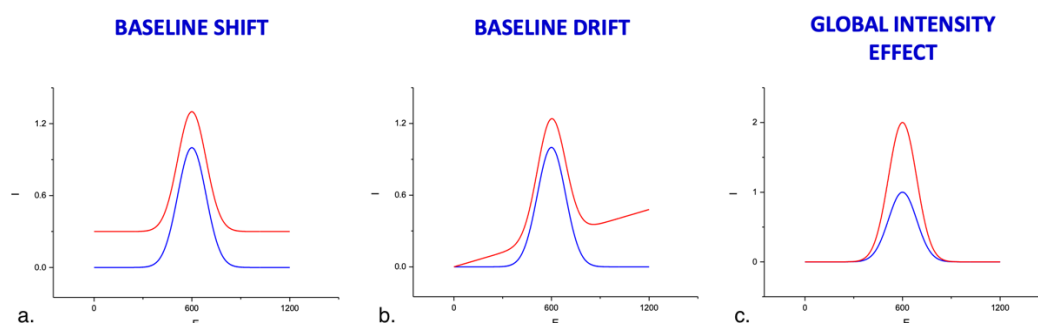


Figura 1.10 – Rappresentazione delle principali alterazioni negli spettri: a. spostamento della linea di base, b. pendenza della linea di base, c. effetto di intensità globale [50].

Per risolvere questi effetti è possibile quindi applicare correzioni matematiche quali:

- *SNV (Standard Normal Variate)*: effettua una normalizzazione che porta ciascuno spettro ad avere media pari a zero e deviazione standard pari a uno. È efficace nella correzione dell'effetto di intensità globale e dello *shift* della linea di base [53].
- *Derivata prima*: determina esclusivamente una correzione dello *shift* della linea di base [53].
- *Derivata seconda*: è applicata riga per riga e consente di correggere sia lo *shift* sia il *drift* della linea di base [53].
- *Smoothing* (levigamento): viene utilizzato per ridurre il rumore presente nel segnale, migliorando il SNR senza alterare le caratteristiche chimiche dello spettro. L'algoritmo di Savitzsky-Golay è il più utilizzato per questo pretrattamento[54].
- *Normalizzazione*: prevede una scalatura dei dati dividendoli per un valore quale, ad esempio, un segnale di riferimento. Questa tecnica permette di eliminare il fenomeno di intensità globale [55].

I pretrattamenti di colonna sono fondamentali per rendere confrontabili le variabili. Poiché spesso l'informazione è espressa in termini di varianza, dipendente dall'unità di misura, è necessario uniformare la scala delle variabili, evitando che quelle caratterizzate da maggior varianza predominino.

I pretrattamenti più usati a questo scopo nella spettroscopia NIR sono:

- *Mean centering* (MC – centraggio sulla media): effettua un centraggio delle variabili sulle colonne rispetto alla loro media, con una correzione di posizione ma non di dispersione [56].
- *Autoscaling* (autoscalatura): le variabili vengono centrate e poi scalate, dividendo ognuna per la propria deviazione standard [56].

L'effetto visivo di pretrattamenti è chiaramente illustrato nella Figura 1.11, in cui si osserva il passaggio dai dati grezzi alla centratura fino alla standardizzazione finale.

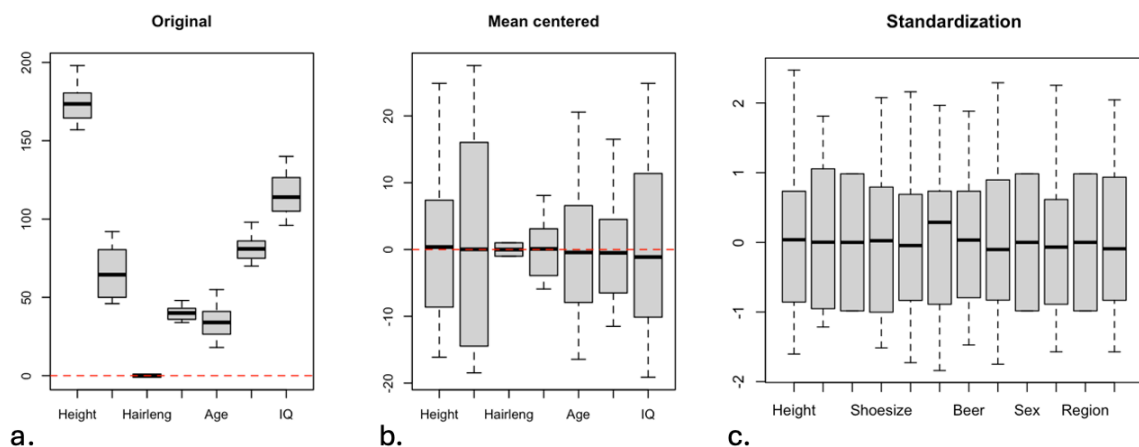


Figura 1.11 - Effetti dei pretrattamenti sui dati: a. Dati originali, b. Mean Centering, c. Autoscaling [57].

Pertanto, una scelta inadeguata dei pretrattamenti può compromettere le analisi successive, eliminando l'informazione utile, oppure accentuando il rumore ed effetti indesiderati quali lo scattering della luce. È quindi fondamentale operare sempre un'accurata selezione del pretrattamento migliore per ogni caso.

1.3.4. Analisi delle Componenti Principali

Il metodo esplorativo per eccellenza in ambito chemiometrico è l'analisi delle componenti principali (*Principal Component Analysis* – PCA).

Questa tecnica permette di analizzare grandi matrici di dati sintetizzando l'informazione originale attraverso un numero ridotto di nuove variabili latenti, dette componenti principali (PCs) [58]. Queste ultime sono combinazioni lineari delle variabili di partenza e hanno il compito di descrivere la struttura dei dati sia dal punto di vista dei campioni che delle variabili. In analisi multivariata, l'applicazione della PCA ha quindi un ruolo fondamentale, in quanto consente l'esplorazione, la compressione e la comprensione globale di dataset complessi

caratterizzati da un numero elevato di variabili intercorrelate con informazioni ridondanti o parzialmente sovrapposte [58].

La PCA identifica l'informazione utile attraverso lo studio della varianza. Poiché tale parametro misura la dispersione dei dati e ne esprime la variabilità, la PCA, che rappresenta l'informazione attraverso la varianza, assume che la struttura informativa rilevante del sistema coincida con le direzioni di maggiore variabilità [58].

Nella statistica univariata, la varianza misura quanto i dati si discostano dalla media. Matematicamente è quindi definita attraverso l'Equazione 1.3:

$$s^2 = \frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n-1} \quad \text{Equazione 1.3}$$

Essa è data dal quadrato della sommatoria degli scarti di ciascun valore misurato x_i rispetto al valore medio dei dati $\bar{x}$ diviso per il numero di gradi di libertà. I gradi di libertà rappresentano il numero di informazioni indipendenti utilizzate nel calcolo; quindi, essi saranno pari alla numerosità dei dati utilizzati n a cui andiamo a sottrarre il numero dei parametri già stimati [59]. In questa situazione, l'unico parametro che viene a essere calcolato è la media; quindi, i gradi di libertà sono “ $n - 1$ ”.

La covarianza, descritta dall'Equazione 1.4, è invece un parametro che misura la variabilità congiunta di due variabili e quindi ne valuta la correlazione. La covarianza può essere positiva o negativa se le variabili aumentano o diminuiscono rispettivamente simultaneamente o in modo opposto [60].

$$s_{xy} = \frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})}{n-1} \quad \text{Equazione 1.4}$$

In PCA, la variabilità nei dati è definita da una matrice di varianza e covarianza in cui:

- Sulla diagonale sono presenti le varianze delle singole variabili.
- Fuori dalla diagonale sono presenti le covarianze delle diverse coppie di variabili.

Le PCs ottenute da tale matrice sono nuove variabili sviluppate per massimizzare la varianza spiegata ed estrarre così la massima informazione utile. La loro costruzione, che si basa sulla struttura delle covarianze delle variabili, ne determina la proiezione su assi mutualmente ortogonali, garantendo l'eliminazione della correlazione tra le variabili e ridondanza informativa. Tale proprietà conferisce alle componenti anche l'indipendenza necessaria a una corretta interpretazione dei dati.

Inoltre, essendo ordinate in funzione della percentuale decrescente di varianza spiegata, le prime componenti concentrano la maggior parte di variabilità del sistema; per questa ragione, l'analisi si focalizza solitamente sulle prime PCs estratte [61].

Il massimo numero di variabili latenti possibili, definito dall'Equazione 1.5, è legato al rango della matrice dei dati, che è definita dal numero massimo di righe (campioni) o colonne (variabili) linearmente indipendenti.

$$k = \min(n^{\circ} \text{ di righe} - 1, n^{\circ} \text{ di colonne}) \quad \text{Equazione 1.5}$$

In tale Equazione, al numero di righe è sottratto uno: infatti, prima di fare una PCA avviene sempre un centraggio. Dunque, come già osservato nell'Equazione 1.3, il numero di informazioni linearmente indipendenti, ovvero i gradi di libertà, diminuisce di un'unità.

La PCA prevede lo sviluppo di due principali rappresentazioni grafiche per l'estrazione e l'interpretazione delle informazioni:

- Grafico degli score: riporta l'informazione dei campioni nelle nuove coordinate definite dalle PCs.
- Grafico dei loading: descrive la relazione tra le PCs e le variabili originali.

Con un approccio geometrico, queste rappresentazioni possono essere comprese attraverso lo spazio della matrice di dati originali, nel quale le PCs sono individuate come assi ortogonali caratterizzanti le direzioni di massima varianza.

Il grafico degli score si ottiene proiettando i campioni nel nuovo sistema di riferimento definito dalle componenti principali: gli assi cartesiani, infatti, non sono più le variabili originali, bensì le PCs, e ogni campione viene descritto attraverso le sue nuove coordinate (score).

Questa trasformazione, rappresentata in Figura 1.12, è pari a una rotazione del sistema di riferimento nello spazio multivariato, finalizzata a massimizzare la varianza lungo il primo asse e successivamente lungo quelli ortogonali.

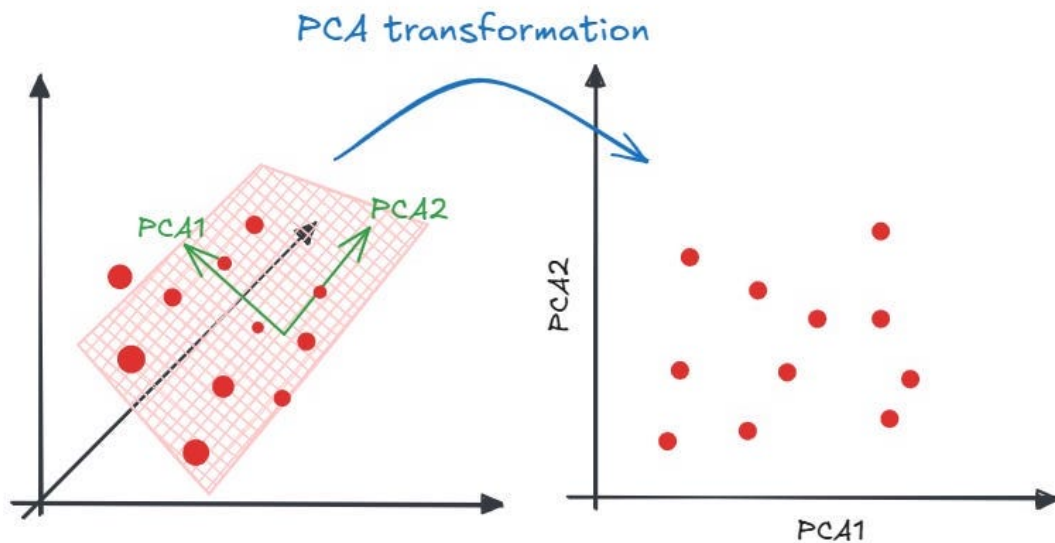


Figura 1.12 - Rappresentazione della matrice di dati e delle PC nello spazio [62].

Inoltre, il contributo di ciascuna variabile originale a una determinata componente principale è espresso da specifici coefficienti, che geometricamente sono interpretabili come il coseno dell'angolo tra l'asse della variabile originale e la componente originale. Poiché il coseno può avere valori compresi nell'intervallo -1 e 1, l'importanza di una variabile all'interno di una PC è definita dal suo valore assoluto: più questo è elevato, maggiore è il contributo della variabile alla PC. Il segno determina invece una correlazione diretta o inversa.

I grafici dei loading rappresentano graficamente i suddetti coefficienti e mostrano quindi quali variabili originali influiscono maggiormente sui campioni riportati nel grafico degli score. Per variabili discrete in genere i grafici dei loading sono grafici a dispersione (*scatter plot*) in cui entrambi gli assi riportano le variabili latenti. Per variabili continue, come le lunghezze d'onda in ambito spettroscopico, si sfruttano i grafici a linea dei loading (*line loading plot*), in cui si riportano sull'asse delle ascisse le variabili originali e sull'asse delle ordinate i coefficienti di loading delle PCs considerate.

Oltre alla visualizzazione tramite grafici a dispersione o a linee, l'applicazione della PCA può essere estesa all'elaborazione di dati complessi come quelli spaziali. Ad esempio, effettuando un'analisi esplorativa su immagini iperspettrali in modalità *pixel based*, è possibile ricostruire l'immagine in funzione di una data componente principale. L'immagine ottenuta sarà quindi definita da tutti i pixel originari, il cui colore sarà rappresentativo del valore della componente principale valutata. L'immagine ottenuta viene definita *score image* e permette di visualizzare nello spazio come si distribuisce la varianza del campione, evidenziando eventuali eterogeneità chimiche o fisiche nel sistema analizzato.

2. OBIETTIVO

Lo scopo di questa tesi è stato quello di esplorare la penetrazione della radiazione vicino infrarossa (NIR) all'interno della materia. In particolare, il fenomeno è stato studiato in provini polimerici stratificati appositamente progettati, composti di acido polilattico (PLA) e polietilentereftalato glicole-modificato (PETG). Il metodo proposto ha coniugato le potenzialità diagnostiche dell'imaging iperspettrale nel NIR (NIR-HSI) con l'efficacia interpretativa dell'Analisi delle Componenti Principali (PCA), allo scopo di distinguere efficacemente i fenomeni di natura chimica e di natura fisica che contribuiscono all'entità di penetrazione della radiazione.

Tale approccio ha risposto alla necessità di accertare l'effettiva capacità penetrativa della radiazione nei campioni analizzati, nell'ottica di superare le attuali limitazioni analitiche legate alla sovrapposizione dei segnali spettrali in strutture multicomponente, dove l'interferenza tra natura chimica e l'architettura fisica rende spesso ambigua l'interpretazione dei dati.

Sebbene la capacità di penetrazione della radiazione NIR sia un fenomeno almeno in parte documentato nella spettroscopia puntuale [63], nell'ambito del NIR-HSI non sono stati riscontrati ad oggi studi sistematici che abbiano studiato l'entità di questo fenomeno oltre la superficie dei campioni in analisi. Attualmente, infatti, la letteratura scientifica ha relegato questa tecnologia quasi esclusivamente ad analisi di tipo superficiale [64].

Quindi, il presente studio è stato sviluppato per verificare se, e in che misura, il NIR-HSI sia in grado di penetrare nella materia; infatti, dimostrare che tale tecnica può essere impiegata per analizzare gli strati interni, e non solo la superficie dei campioni, permetterebbe di ampliare l'orizzonte applicativo in diversi settori quali, ad esempio, il forense, l'analisi dei beni culturali e l'industria farmaceutica, dove la comprensione della struttura profonda dei campioni è fondamentale, ponendo così le basi per la sua estensione in ambiti del tutto inediti.

Questo lavoro di tesi ha previsto, a tal fine, la progettazione e la produzione mediante stampa 3D di 54 campioni, strutturati per presentare variazioni controllate nella stratificazione dei polimeri e nelle geometrie di stampa adottate. Gli spettri dei campioni sono quindi stati misuranti mediante uno strumento per NIR-HSI, e i dati sono stati sottoposti ad analisi chemiometrica. L'approccio multivariato ha previsto l'applicazione di diverse combinazioni di pretrattamenti di riga e di colonna, finalizzati a isolare ed evidenziare le informazioni spettrali più rilevanti dei campioni. Infine, è stata applicata la PCA, metodo esplorativo per eccellenza, per consentire un'interpretazione della variabilità dei dati e verificare l'efficacia della strategia proposta.

L'impiego di diverse tipologie di pretrattamento, associato alla ricostruzione delle immagini dei campioni a partire dai risultati della PCA, ha permesso di isolare alternativamente i contributi chimici e fisici che condizionano la firma spettrale. Questo approccio ha consentito di ampliare sensibilmente la comprensione del fenomeno della penetrazione della radiazione NIR associata ad HSI, verificando l'efficacia della strategia proposta anche per l'analisi degli strati profondi.

3. MATERIALI E METODI

3.1. Sviluppo dei campioni

3.1.1. Specifiche dei campioni

Il primo passaggio per lo svolgimento della sperimentazione è stata la progettazione e la realizzazione mediante stampa 3D di 54 campioni a diversa stratificazione di due polimeri, per ora indicati come A e B.

I campioni sono stati sviluppati in due forme differenti, in particolare 42 di forma parallelepipedica, e i restanti 12 di forma cilindrica. I primi, chiamati “regoli” nel testo, presentano una base quadrata di 1 cm^2 . Di questi, 16 hanno un'altezza pari a 3 cm, mentre i rimanenti 26 sono alti 5 cm. Sia nei regoli da 3 cm che in quelli da 5 cm il primo campione è costituito interamente del polimero A. Nei campioni successivi, l'altezza di B aumenta di 2 mm alla volta e lo spessore di A si riduce del medesimo valore. La riduzione in mm di A, o analogamente l'aumento in mm di B, per lo sviluppo di campioni successivi è detta “passo”. Infine, l'ultimo campione è costituito esclusivamente dal polimero B.

Tale modalità di costruzione dei campioni è rappresentata in Figura 3.1, mentre nelle Tabelle 3.1 e 3.2 sono riportate le quantità dei polimeri di ogni regolo.

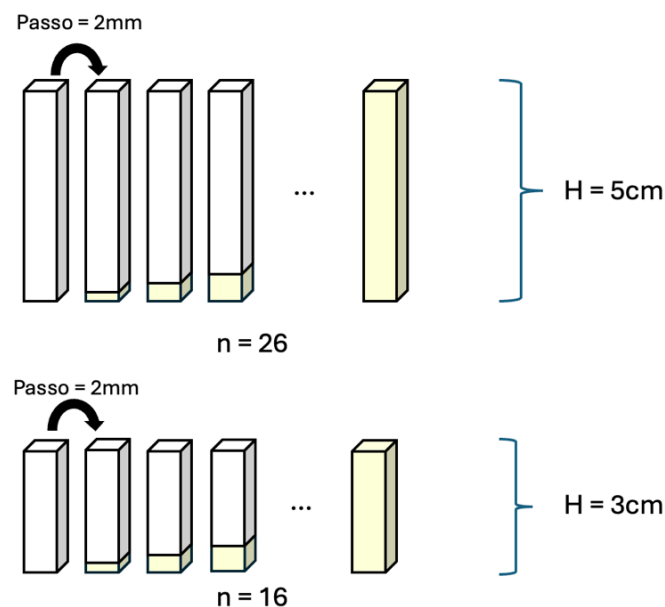


Figura 3.1 - Rappresentazione dei regoli da 3 cm e da 5 cm.

I 12 cilindri sono stati progettati con base di raggio 1,5 cm. Di questi, 4 hanno altezza pari a 3 cm, mentre i restanti 8 sono alti 5 cm.

Per questi campioni il passo è variabile e strutturato in modo tale che nella prima metà dei campioni venga progressivamente variato il rapporto tra il polimero A e B, mentre nella seconda metà vengono riproposte le medesime configurazioni ma con inversione dei materiali. In questo modo si ottiene una composizione simmetrica per i due materiali, avendo che ciascun campione della prima metà della serie corrisponde a un campione nella seconda metà con strati della stessa altezza ma A e B scambiati in quantità.

Le quantità dei due polimeri nei cilindri sono riportate nelle Tabelle 3.3 e 3.4, rispettivamente per i cilindri alti 3 cm e per quelli alti 5 cm.

3.1.2. Progettazione del modello openSCAD

Le informazioni associate alle dimensioni (base, altezza) dei campioni, sia dei cilindri che dei regoli, sono state progettate come modelli tridimensionali digitali con OpenSCAD 2021.01.

Per i regoli in totale sono stati progettati 25 file openSCAD, caratterizzati da base di stesse dimensioni (1 cm^2) e di altezza variabile, compresa tra 2 mm e 50 mm con un passo di 2 mm.

Nell'Equazione 3.1 è raffigurata l'operazione necessaria per la produzione dei regoli con base (x, y) e altezza z.

$$\text{cube}([x, y, z]); \quad \text{Equazione 3.1}$$

Tutte le misure riportate sono espresse di *default* in millimetri. Come esempio, nella Figura 3.2 si riporta la rappresentazione del regolo di dimensioni ($10 \times 10 \times 40$ mm), che quindi è stato generato con il comando: `cube([10, 10, 40])`

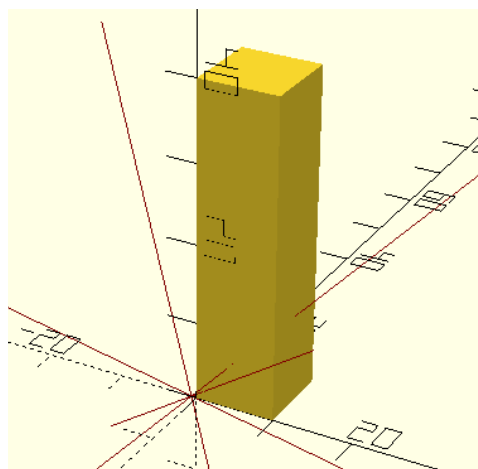


Figura 3.2 - Progetto openSCAD di un regolo.

Per i cilindri, invece, sono stati progettati 12 file openSCAD, tutti caratterizzati da base di raggio 1,5 cm e di altezza pari a quelle riportate nelle Tabelle 3.3 e 3.4.

Le seguenti funzioni consentono di creare un file openSCAD per i cilindri:

linear_extrude(z)

Equazione 3.2

circle(r = 1.5, \$fn = 100);

Equazione 3.3

L'Equazione 3.2 serve per determinare un cilindro di altezza z . L'Equazione 3.3 definisce la dimensione del raggio (r) e il numero di segmenti che costruiscono la circonferenza del cilindro (fn). Tale valore determina l'accuratezza della struttura circolare del cilindro: maggiore è il numero di segmenti, migliore sarà l'approssimazione alla forma circolare, a fronte però di un aumento dei tempi di *rendering*. Infatti, poichè OpenSCAD lavora per mesh triangolari, non prevede il concetto geometrico di cerchio; pertanto, lo approssima costruendo un poligono regolare di fn lati. In questo lavoro di tesi, quest'ultimo parametro è stato posto pari a 100, in modo da trovare un buon compromesso tra la resa di stampa e i tempi di produzione del progetto. La Figura 3.3, che rappresenta un cilindro con $h = 5$ mm, $r = 1,5$ cm, 0 permette di confermare visivamente che la scelta di $fn = 100$ produce una base macroscopicamente circolare.

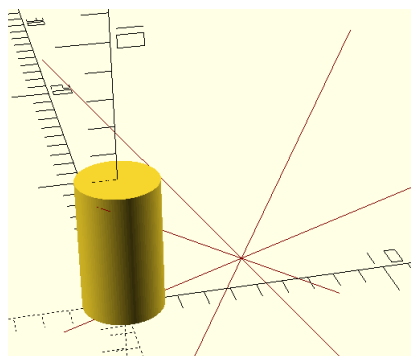


Figura 3.3 - Progetto openSCAD di un cilindro.

I file descritti sono quindi stati salvati sia in formato SCAD, per eventuali future modifiche del codice, sia in formato STL. Per la produzione di quest'ultimo file è stata applicata l'operazione di *rendering*, un processo che traduce le informazioni matematiche del codice in una mesh geometrica definita, cioè in una rete di triangoli che descrive l'intera superficie del solido.

Poiché il formato STL memorizza esclusivamente dati basati su mesh, il rendering è fondamentale per ottenere un file compatibile per effettuare il successivo processo di *slicing*.

3.2. Stampa 3D

I materiali usati per la stampa (Prusament da Prusa Research a.s., Praga, Repubblica Ceca) sono stati acquistati come bobine con filamenti di diametro di 1.75 ± 0.02 mm. In particolare, i due polimeri sfruttati sono stati l'acido polilattico (PLA Transparent, bobina da 1 kg) [65], precedentemente indicato genericamente come A, e il polietilene tereftalato glicole modificato (PETG Clear, bobina da 1.038 kg) [66], precedentemente indicato come B. Questi materiali sono stati scelti specificamente per la loro facilità di stampa e per la presenza di assorbimenti specifici nell'intervallo spettrale del NIR.

3.2.1. La stampante 3D

I campioni sono stati prodotti con una stampante FDM 3D Original Prusa i3 MK3S+ equipaggiata con un sistema MMU3 (Prusa Research a.s., Praga, Repubblica Ceca) (Figura 3.5). Quest'ultima unità svolge il ruolo di autocampionatore (*multi-material unit*), permettendo alla stampante di gestire e scambiare automaticamente fino a cinque diversi filamenti durante lo stesso processo di stampa. I filamenti vengono trasferiti dalle bobine all'unità di gestione MMU3 mediante appositi tubi in PTFE (politetrafluoroetilene), che garantiscono un percorso guidato per ogni materiale, abbattendo il rischio di formare grovigli o percorsi tortuosi che potrebbero portare alla rottura del filamento o al blocco dello strumento.

Come mostrato in dettaglio in Figura 3.6, il sistema è completato da un selettore mobile che scorre trasversalmente per allinearsi con uno dei cinque ingressi del filamento. Il corretto caricamento e scaricamento dei materiali all'interno del selettore è monitorato dal sensore FINDA (*Filament Intermittent Detector Assembly*), un sensore induttivo ad alta precisione che rileva fisicamente la presenza del filamento promuovendone il caricamento. Infine, il materiale viene estruso attraverso ugelli in ottone con diametro standard di 0,4 mm, riscaldati alla temperatura specifica richiesta dal polimero utilizzato per garantire una deposizione fluida e accurata degli strati sul piano riscaldato posto alla base della struttura.

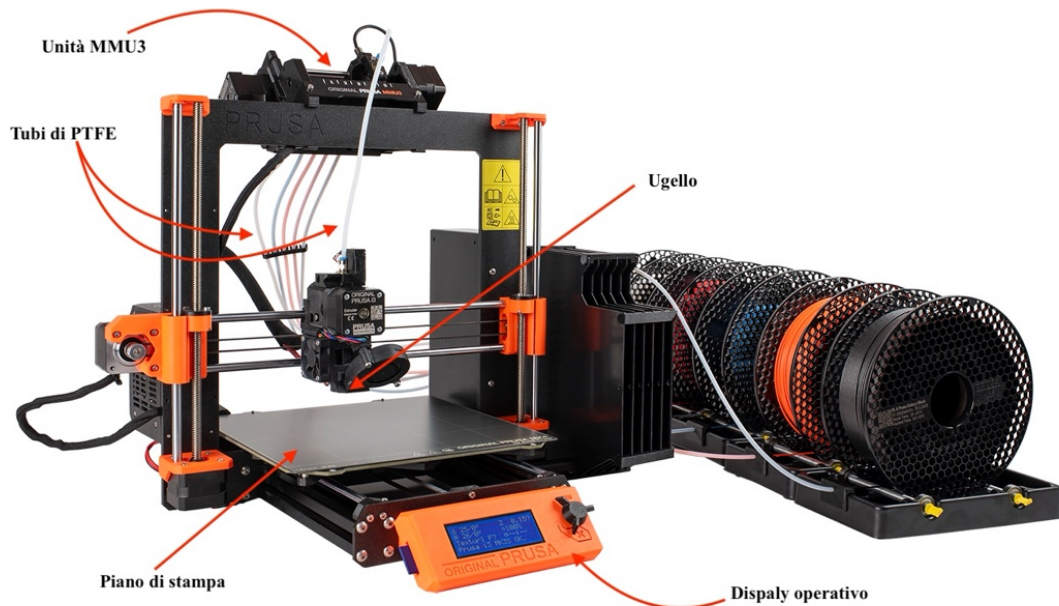


Figura 3.5 - Configurazione completa del sistema di stampa. A destra sono visibili le bobine dei polimeri caricate sui rispettivi supporti; i filamenti vengono guidati tramite tubi in PTFE verso l'unità MMU3 che ne gestisce lo scambio automatico prima dell'estrusione.

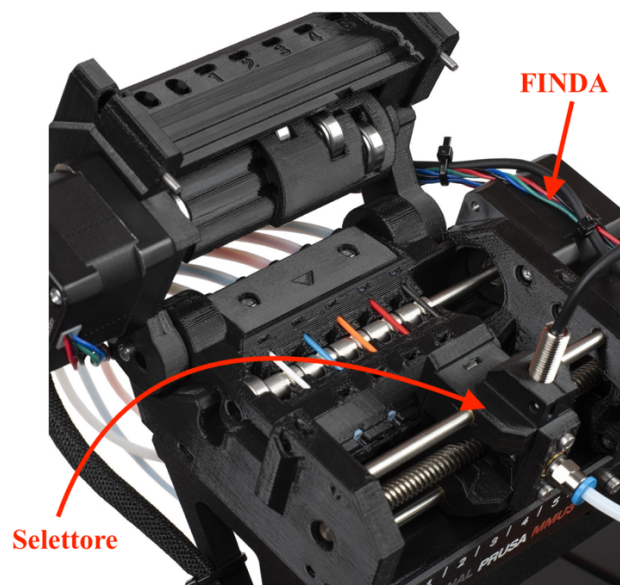


Figura 3.6 - Dettaglio dell'unità MMU3 con evidenziati il selettore meccanico e il sensore FINDA.

Il processo di stampa prevede l'accensione della stampante e la preparazione dei due filamenti. La procedura di caricamento viene avviata tramite l'interfaccia operativa, selezionando dal display il percorso *Menù → Preload to MMU → load filament x*. Dopo aver selezionato uno dei cinque canali (x) si procede all'inserimento manuale di ogni filamento nel rispettivo tubo di PTFE fino al raggiungimento di MMU3. Successivamente, l'autocampionatore innesta automaticamente i filamenti attraverso il selettore, verificando il loro corretto posizionamento

tramite il sensore FINDA. Dopo aver completato il caricamento dei due materiali, si procede alla selezione dei progetti da stampare tramite l'interfaccia operativa della stampante.

Inizialmente, è prevista una fase di condizionamento termico, durante la quale il piano di stampa e l'estrusore sono portati alle temperature di esercizio prefissate. Tale processo è seguito dalla fase operativa di deposizione, in cui l'ugello ha deposto diversi strati sottili sovrapposti di polimero fuso per ricostruire la geometria del campione.

Tuttavia, la gestione della stampa multimateriale è caratterizzata da un aspetto particolarmente sfidante, ovvero il cambio di filamento. Infatti, in primo luogo deve essere prevista una sincronizzazione tra l'estrusore e l'unità MMU3 per evitare blocchi durante i cicli di carico e scarico dei filamenti. Inoltre, per garantire la purezza delle due sezioni dei campioni, il sistema si serve di una torre di spurgo dove l'ugello deposita i residui del filamento precedente prima di iniziare ad estrarre il nuovo materiale. Complessivamente, la fase operativa ha avuto una durata stimata di circa 60 minuti per i campioni da 3 cm e di circa 90 minuti per quelli da 5 cm. Al termine della stampa, dopo una fase di raffreddamento controllato dell'estrusore e del piano, è stato possibile separare i campioni dal letto di stampa e quindi sottoporli alle successive analisi dopo completo raffreddamento e solidificazione. Tra due stampe successive, il letto di stampa è stato lavato con isopropanolo per garantire l'assenza di interferenze e difetti di deposizione nel primo strato.

3.2.2. Parametri di stampa

Per consentire al sistema di impostare i parametri di stampa quali, ad esempio, la temperatura dell'estrusore, quella del piano di stampa e le specifiche del materiale selezionato, i modelli in formato STL devono essere importati e preparati sul software di *slicing* PrusaSlicer-2.9.2. Questo passaggio è necessario per la produzione dei *G-code*, il file che contiene tutte le istruzioni necessarie all'esecuzione del processo di stampa, e che viene utilizzato dalla stampante nella fase di selezione del progetto precedentemente descritta.

Per quanto riguarda i campioni monomateriali, ovvero il primo e l'ultimo regolo di entrambe le serie, è stato utilizzato un singolo file STL, mentre per i campioni multimateriale (PLA e PETG), sono stati caricati e sovrapposti all'interno del software i modelli tridimensionali corrispondenti alle rispettive frazioni dei due polimeri. In particolare, lo strato di altezza minore, indipendentemente dal polimero, è stato messo a diretto contatto con il piano di stampa, mentre l'altro vi è stato sovrapposto. Tale accorgimento tecnico è stato adottato per anticipare la sostituzione del filamento, fase precedentemente definita critica del processo, riducendo così i rischi di insuccesso nelle fasi avanzate della stampa.

Successivamente, a ogni strato è stato associato il relativo polimero e posizione nell'autocampionatore. In particolare, il canale 1 dell'unità MMU3 è sempre stato usato per il PLA e il canale 4 per il PETG. Questo accorgimento è stato adottato per evitare che frammenti del filamento dispersi per sfregamento nell'unità MMU3 potessero andare a causare contaminazioni tra i due polimeri.

Sia per i regoli che per i cilindri è stata impostata una densità di riempimento pari al 100%. Tale scelta è stata guidata dalla necessità di valutare la penetrazione del NIR nella materia; infatti, la presenza di eventuali vuoti interni avrebbe determinato una maggior penetrazione del raggio, alterando i dati sull'effettiva capacità di assorbimento del materiale. In particolare, la scelta di mantenere la densità costante, sia per i regoli sia per i cilindri, deriva dalla necessità di attribuire eventuali differenze nella penetrazione del NIR esclusivamente alle diverse geometrie di riempimento. Infatti, variando contemporaneamente sia la densità che il pattern, non sarebbe stato possibile capire con certezza a quale dei due fattori fossero dovuti i risultati ottenuti.

Per garantire l'effettiva formazione di una massa solida e priva di vuoti, per i regoli sia da 3 cm che da 5 cm, come riportato nelle tabelle 3.1 e 3.2, è stato usato lo schema di riempimento definito "rettilineo".

Regoli 3 cm	PETG (mm)	PLA (mm)	Pattern
PETG_PLA_0-30	0	30	Rettilineo
PETG_PLA_2-28	2	28	Rettilineo
PETG_PLA_4-26	4	26	Rettilineo
PETG_PLA_6-24	6	24	Rettilineo
PETG_PLA_8-22	8	22	Rettilineo
PETG_PLA_10-20	10	20	Rettilineo
PETG_PLA_12-18	12	18	Rettilineo
PETG_PLA_14-16	14	16	Rettilineo
PETG_PLA_16-14	16	14	Rettilineo
PETG_PLA_18-12	18	12	Rettilineo
PETG_PLA_20-10	20	10	Rettilineo
PETG_PLA_22-8	22	8	Rettilineo
PETG_PLA_24-6	24	6	Rettilineo
PETG_PLA_26-4	26	4	Rettilineo
PETG_PLA_28-2	28	2	Rettilineo
PETG_PLA_30-0	30	0	Rettilineo

Tabella 3.1 - Dettagli sulla composizione polimerica e sulle impostazioni di stampa dei regoli con altezza pari a 3 cm.

Regoli 5 cm	PETG (mm)	PLA (mm)	Pattern
PETG_PLA_0-50	0	50	Rettilineo
PETG_PLA_2-48	2	48	Rettilineo
PETG_PLA_4-46	4	46	Rettilineo
PETG_PLA_6-44	6	44	Rettilineo
PETG_PLA_8-42	8	42	Rettilineo
PETG_PLA_10-40	10	40	Rettilineo
PETG_PLA_12-38	12	38	Rettilineo
PETG_PLA_14-36	14	36	Rettilineo
PETG_PLA_16-34	16	34	Rettilineo
PETG_PLA_18-32	18	32	Rettilineo
PETG_PLA_20-30	20	30	Rettilineo
PETG_PLA_22-28	22	28	Rettilineo
PETG_PLA_24-26	24	26	Rettilineo
PETG_PLA_26-24	26	24	Rettilineo
PETG_PLA_28-22	28	22	Rettilineo
PETG_PLA_30-20	30	20	Rettilineo
PETG_PLA_32-18	32	18	Rettilineo
PETG_PLA_34-16	34	16	Rettilineo
PETG_PLA_36-14	36	14	Rettilineo
PETG_PLA_38-12	38	12	Rettilineo
PETG_PLA_40-10	40	10	Rettilineo
PETG_PLA_42-8	42	8	Rettilineo
PETG_PLA_44-6	44	6	Rettilineo
PETG_PLA_46-4	46	4	Rettilineo
PETG_PLA_48-2	48	2	Rettilineo
PETG_PLA_50-0	50	0	Rettilineo

Tabella 3.2 - Dettagli sulla composizione polimerica e sulle impostazioni di stampa dei regoli con altezza pari a 5 cm.

Con tale modalità, la stampante opera deponendo in ogni singolo strato una serie di linee parallele; per massimizzare la solidità dell'oggetto, la direzione di queste linee cambia di 90° ad ogni strato, alterando linee oblique con pendenza -45°, come nell'esempio in Figura 3.7, e linee oblique con pendenza +45°. Questo specifico schema di riempimento è scelto in quanto

rappresenta la soluzione d'elezione per una densità al 100%: la sua struttura regolare evita sovrapposizioni locali di materiale e garantisce una precisione ottimale, assicurando la produzione di un campione omogeneo per le analisi spettroscopiche. Inoltre, la sezione di ogni campione è stata delimitata da due perimetri, ovvero due quadrati concentrici, in modo da garantire la stabilità e la regolarità dei bordi e delle facce piane dei campioni.

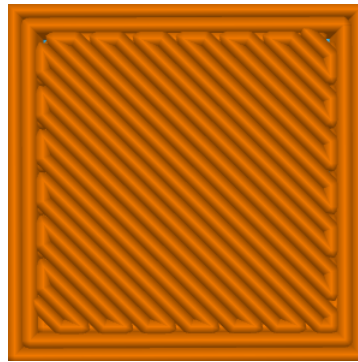


Figura 3.7 – Schema di riempimento rettilineo.

Nei cilindri, invece, sono state selezionate quattro differenti geometrie di stampa, riportate in Figura 3.8: concentrico (3.8a), che prevede la deposizione di cerchi concentrici di materiale [67], spirale a ottagramma (3.8b), che produce un motivo a forma di stella a otto punte disposto a spirale [67], curva di Hilbert (3.8c), che riempie lo spazio seguendo l'equazione della curva di Hilbert [67], e corda di Archimede (3.8d), in cui il materiale è deposto seguendo una geometria a spirale regolare dal centro ai bordi [67]. Addizionalmente, ogni campione, indifferentemente dal motivo di riempimento, è stato completato da due perimetri, in questo caso realizzati con due cerchi concentrici, per le stesse ragioni già illustrate per i regoli.

A differenza del motivo di riempimento rettilineo, questi danno una sovrapposizione precisa degli strati: l'ugello ripercorre per ogni livello la medesima traiettoria del precedente, creando una struttura interna coerente e priva di incroci.

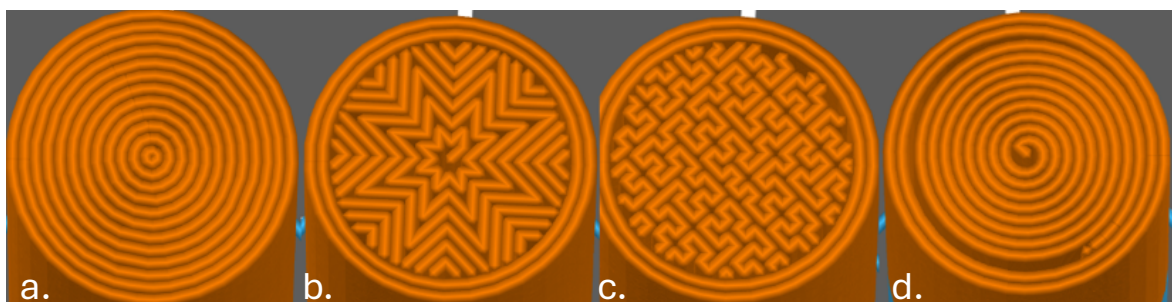


Figura 3.8 - Rappresentazione delle 4 geometrie di stampa sfruttate per i cilindri:

a. concentrica, b. ottagramma a spirale, c. curva di Hilbert, d. corda di Archimede.

Nei cilindri da 3 cm, solo due di queste geometrie sono state adottate, in modo da garantire la specularità dei campioni con rapporto inverso come precedentemente spiegato, mentre per quelli da 5 cm sono state sfruttate tutte. Inoltre, ogni trama è stata associata ad una coppia di cilindri caratterizzata da stessi rapporti di PLA e PETG, come visibile nelle Tabelle 3.3 e 3.4.

Cilindri 3 cm	PETG (mm)	PLA (mm)	Pattern
PETG_PLA_7-23	7	23	Spirale a Ottagramma
PETG_PLA_13-17	13	17	Corde di Archimede
PETG_PLA_17-13	17	13	Corde di Archimede
PETG_PLA_23-7	23	7	Spirale a Ottagramma

Tabella 3.3 - Dettagli sulla composizione polimerica e sulle impostazioni di stampa dei cilindri con altezza pari a 3 cm.

Cilindri 5 cm	PETG (mm)	PLA (mm)	Pattern
PETG_PLA_5-45	5	45	Curva di Hilbert
PETG_PLA_11-39	11	39	Concentrico
PETG_PLA_17-33	17	33	Spirale a Ottagramma
PETG_PLA_23-27	23	27	Corde di Archimede
PETG_PLA_27-23	27	23	Corde di Archimede
PETG_PLA_33-17	33	17	Spirale a Ottagramma
PETG_PLA_39-11	39	11	Concentrico
PETG_PLA_45-5	45	5	Curva di Hilbert

Tabella 3.4 - Dettagli sulla composizione polimerica e sulle impostazioni di stampa dei cilindri con altezza pari a 5 cm.

L'introduzione di tali differenze morfologiche risulta determinante per la validazione del modello; infatti, diversificare la struttura interna dei campioni permette di comprendere se la penetrazione del raggio sia condizionata anche da minime differenze nella struttura interna dei campioni, il pattern di riempimento, anche quando le loro caratteristiche macroscopiche, ovvero la percentuale di riempimento, restano immutate.

Dopo l'assemblaggio delle parti e la selezione delle geometrie di riempimento, il processo di *slicing* prevede la definizione delle temperature che l'estrusore deve tenere durante la deposizione dei due polimeri. Per il PLA, questo parametro è stato impostato a un valore di

215°C, che è risultato ottimale per garantire una fluidità costante senza incorrere in fenomeni di degradazione termica o colature eccessive. Invece, poiché il PETG è più viscoso e ha una maggior resistenza termica, è stato necessario lavorare a 230°C per ottenere una fluidità ottimale del polimero e garantire l'adesione dei diversi strati sia tra loro che sul piano di stampa. Inoltre, in questa fase sono state impostate anche le temperature del letto; tali valori devono essere superiori rispetto alla temperatura ambiente, ma inferiori a quella di estrusione. Questo accorgimento è atto a prevenire uno shock termico e una contrazione brusca del materiale quando esce dall'estrusore, assicurando contemporaneamente che il primo strato aderisca saldamente al piano e offra una base stabile per i successivi, evitando distacchi o deformazioni ai bordi.

Quindi, in base all'ordine di deposizione dei due polimeri, sono state sfruttate due diverse configurazioni. Quando viene deposto prima il PLA, sono state mantenute le temperature del letto standard per i filamenti Prusament, ovvero 60°C durante la deposizione di PLA e 80°C durante la successiva deposizione di PETG.

Invece, quando è deposto prima il PETG, la temperatura del letto durante l'estrusione di quest'ultimo è stata impostata 80°C, come indicato dai valori standard, mentre durante la deposizione del PLA la temperatura del letto è stata tenuta a 75°C, ovvero di 15°C più alta rispetto a quella consigliata. Tale operazione è stata adottata per evitare che il PETG, già a contatto con il piano, si raffreddi eccessivamente durante le fasi di stampa del PLA, per prevenire fenomeni di distacco o instabilità alla base della struttura che erano stati osservati usando la temperatura suggerita.

Infine, l'ultimo parametro che è stato modulato durante lo *slicing* è la velocità di stampa, che è stata impostata 0,15 mm QUALITY. Tale modalità definisce l'altezza di ogni strato (0,15 mm) e, con la selezione del profilo QUALITY, comunicato al software di dare priorità alla precisione strutturale piuttosto che alla rapidità di esecuzione, caratteristica, quest'ultima invece della modalità SPEED. Questa scelta ha garantito una migliore finitura superficiale e una maggiore fedeltà geometrica al progetto del campione.

Dopo aver definito tutti i parametri i file sono stati salvati come *G-Code* e trasferiti alla stampante 3D per effettuare la stampa.

3.3. Acquisizione delle immagini

3.3.1. Strumentazione

Per l'acquisizione delle immagini su tutti i campioni in esame, è stato impiegato un sistema di imaging iperspettrale (HSI) operante in modalità *pushbroom* [35]. Lo strumento è costituito da

una camera iperspettrale Specim SWIR3 (Specim Ltd., Finlandia), equipaggiata con un sensore MCT (Mercurio-Cadmio-Tellurio) ad alte prestazioni. Tale sensore, caratterizzato da 384 pixel spaziali e 288 canali spettrali, opera a una temperatura controllata di 150 K per minimizzare il rumore termico e garantire un'elevata sensibilità nel range spettrale compreso tra 1000 e 2500 nm, con una risoluzione di 5,5 nm ed una dimensione del pixel di circa 0,4 mm. L'apparato ottico si avvale di una lente OLES15 (Middleton Spectral Vision, USA), mentre la movimentazione dei campioni è affidata a un carrello mobile di dimensioni 40 × 20 cm (Specim Ltd., Finlandia), che permette una scansione progressiva e uniforme sotto l'obiettivo della camera.

La distribuzione dell'illuminazione è stata configurata per garantire una copertura spettrale ampia (400-2500 nm). A tal fine, sono state utilizzate sei lampade alogene al tungsteno (12V, 35 W, 430 Lm, 2900K), posizionate a una distanza di circa 22.8 cm dal piano dei campioni. Per ottimizzare la riflessione diffusa e minimizzare i riflessi speculari, le lampade sono state disposte con un'angolazione di 45°, distribuendole equamente, tre sul fronte e tre sul retro, rispetto all'area di acquisizione. Il sistema è stato gestito tramite il software di controllo Lumo Scanner v. 2.5 (Specim Ltd., Finlandia).

3.3.2. Modalità operativa

La procedura operativa ha previsto, in fase preliminare, l'accensione del sistema HSI Specim, seguita da un intervallo di stabilizzazione termica di circa un'ora. Tale attesa è risultata necessaria per consentire il completo raffreddamento del sensore SWIR, condizione indispensabile per minimizzare il rumore di fondo e garantire la massima accuratezza nelle acquisizioni.

Sono stati poi così definiti i parametri di acquisizione per ottimizzare l'intensità del segnale:

- Frequenza di campionamento: 70 Hz.
- Tempo di esposizione: 6.00 ms.
- Velocità del carrello: 28.19 mm s⁻¹.
- Fuoco della lente: impostato manualmente prima delle acquisizioni in modo tale da avere mettere a fuoco il piano corrispondente al fondo del carrello. L'operazione è stata eseguita ruotando la ghiera di messa a fuoco dell'obiettivo fino ad ottenere la massima definizione di un apposito pattern Figura 3.9.



Figura 3.9 - Esempio di immagine di prova.

Prima di ogni acquisizione, il sistema ha registrato automaticamente i riferimenti necessari per la successiva calibrazione: il profilo di nero (*dark reference*), ottenuto mediante la chiusura dell'otturatore della camera, e il profilo di bianco (*white reference*), registrato inquadrando uno standard di riferimento in Spectralon® con riflettanza certificata al 99%. La fase di normalizzazione dei dati rispetto al bianco e al nero è stata eseguita in fase di post-processing durante l'importazione dei dati su MATLAB®. La procedura è stata operata attraverso una funzione dedicata prodotta in-house. Questo passaggio ha permesso di calibrare ogni pixel, trasformando i valori registrati dal rilevatore in riflettanza.

Nell'equazione 3.4 è illustrata l'operazione compiuta su ogni pixel per ogni lunghezza d'onda [44]:

$$R(\lambda) = \frac{I_s(\lambda) - I_d(\lambda)}{I_w(\lambda) - I_d(\lambda)} \quad \text{Equazione 3.4}$$

dove $R(\lambda)$ è la riflettanza relativa del campione registrata per ogni lunghezza d'onda, $I_s(\lambda)$ è l'intensità della radiazione riflessa dal campione per ogni lunghezza d'onda, $I_d(\lambda)$ è l'intensità associata al nero per ogni lunghezza d'onda e $I_w(\lambda)$ è l'intensità riferita al bianco per ogni lunghezza d'onda.

Durante l'acquisizione, i campioni sono stati prima posizionati sul carrello mobile con lo strato di PLA rivolto verso la lente, in una configurazione definita nel testo come PLA sopra. Successivamente, i medesimi campioni sono stati capovolti per esporre direttamente il PETG alla radiazione incidente e all'obiettivo della camera, configurazione che viene definita nel testo come PETG sopra.

Inoltre, al fine di massimizzare la qualità di ogni immagine, il numero di campioni acquisiti simultaneamente è stato limitato a massimo 3 per quelli da 3 cm e 2 per quelli da 5 cm. Questa scelta è stata dettata dalla necessità di evitare la formazione di zone d'ombra; una disposizione troppo ravvicinata dei campioni, infatti, avrebbe generato la sovrapposizione di ombre sui provini stessi, alterando la radiazione riflessa catturata dal sensore. Inoltre, i campioni sono stati

disposti in prossimità dell'asse centrale della lente; infatti, una posizione troppo decentrata, pur riducendo le ombre, avrebbe causato un'inquadratura dei bordi laterali oltre che della superficie superiore, alterando l'informazione spettrale.

In Figura 3.10 è rappresentata una tipica distribuzione dei campioni sul carrello durante la fase di analisi.

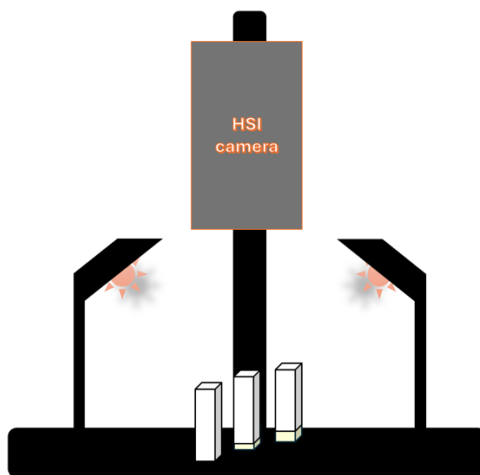


Figura 3.10 - Disposizione sul carrello dei regoli da 3 cm.

Inizialmente sono stati acquisiti i regoli da 3 cm e da 5 cm, poi i cilindri delle medesime dimensioni. Infine, è stata effettuata una campionatura randomica e la riacquisizione di 8 regoli da 3 cm e 10 regoli da 5 cm, selezionati e disposti sul carrello casualmente dal set iniziale. I dati derivanti da questo sottoinsieme verranno descritti nel dettaglio nel paragrafo 3.4.

3.4. Analisi dei dati

3.4.1. Dataset

I dati iperspettrali acquisiti sono stati ripartiti in tre sottoinsiemi distinti: training set, test set interno e test set esterno.

Tale ripartizione è stata applicata dividendo i campioni in funzione dell'altezza (3 cm o 5 cm) e del tipo di polimero che si trova sopra, PLA o PETG. Di conseguenza, si sono ottenuti 4 training set con i corrispettivi 4 test set interni e 4 test set esterni. I training set comprendono le immagini relative ai regoli acquisiti in ordine crescente di materiale esposto alla lente e costituiscono la base per la costruzione e l'ottimizzazione del modello analitico.

I test set interni sono composti regoli selezionati e distribuiti casualmente sul carrello (come descritto nel paragrafo 3.3.2). La funzione di questi sottoinsiemi è quella di fornire una valutazione preliminare sull'adeguatezza e sulla robustezza del metodo sviluppato, facendo

riferimento a campioni con caratteristiche analoghe a quelli contenuti nel set utilizzato per lo sviluppo del modello stesso.

Nella Tabella 3.5 sono riportati i campioni selezionati per i test set interni.

Infine, i test set esterni sono costituiti esclusivamente dai dati relativi ai campioni cilindrici. Quest'ultimo insieme di dati è fondamentale per la validazione finale, in quanto permette di testare le performance del modello su campioni con una geometria e una forma differenti rispetto a quelli utilizzati in calibrazione, con l'obiettivo specifico di discernere l'influenza delle proprietà chimiche dei materiali da quella delle loro caratteristiche fisiche.

Regoli 3 cm	PETG (mm)	PLA (mm)
PETG PLA 2-28	2	28
PETG PLA 4-26	4	26
PETG PLA 8-22	8	22
PETG PLA 10-20	10	20
PETG PLA 12-18	12	18
PETG PLA 22-8	22	8
PETG PLA 26-4	26	4
PETG PLA 28-2	28	2
Regoli 5 cm	PETG (mm)	PLA (mm)
PETG PLA 6-44	6	44
PETG PLA 8-42	8	42
PETG PLA 12-38	12	38
PETG PLA 18-32	18	32
PETG PLA 26-24	26	24
PETG PLA 30-20	30	20
PETG PLA 34-16	34	16
PETG PLA 38-12	38	12
PETG PLA 42-8	42	8
PETG PLA 48-2	48	2

Tabella 3.5 - Dettaglio dell'altezza in mm dei regoli selezionati per il test set interno dei regoli da 3 cm e da 5 cm.

3.4.2. Trattamento dei dati

L'analisi dei dati è stata svolta sfruttando il linguaggio di programmazione MATLAB® (MathWorks, Natick, Massachusetts, USA) e il software di analisi chemiometrica PLSToolbox 9.5 (Eigenvector Research Inc., Manson, WA, USA) sviluppato in ambiente MATLAB®. Tutte le seguenti procedure sono state applicate in parallelo per entrambe le configurazioni sperimentali PLA sopra e PETG sopra.

I dati registrati dal sistema HSI sono stati inizialmente sottoposti a una fase di normalizzazione, basata sul bianco e sul nero precedentemente acquisiti, come descritto nel paragrafo 3.3.2. Una

volta normalizzati, i file sono stati importati in ambiente MATLAB® sotto forma di matrici tridimensionali, in cui le coordinate x e y rappresentano le dimensioni spaziali e l'asse z la dimensione spettrale. Per l'analisi chemiometrica, queste matrici originali, caricate nel *workspace* in formato *double*, sono state sottoposte a un'operazione di *unfolding*, procedura trattata nel paragrafo 1.3.2, e successivamente convertite in *dataset*, una specifica tipologia di dato in ambiente MATLAB® compatibile con l'interfaccia del PLSToolbox.

Al fine di isolare esclusivamente l'informazione spettrale relativa ai campioni, è stata quindi applicata una procedura di mascheramento basata su PCA [61]. Questo approccio sfrutta il fatto che lo sfondo, essendo chimicamente diverso dai campioni, presenta una firma spettrale distinta che la PCA è in grado di isolare efficacemente. In particolare, i dati sono stato pretrattati per mezzo di centraggio di colonna sulla media, un pretrattamento che verrà approfondito nel paragrafo 3.4.4. Successivamente è stata selezionata la PC2, in quanto è risultata la più efficace nel discriminare i campioni dal fondo del carrello. Su tale componente è stato quindi impostato un valore soglia (*threshold*) che ha permesso di generare una maschera per isolare i soli pixel di interesse. Un esempio di questa procedura è riportato in Figura 3.11.

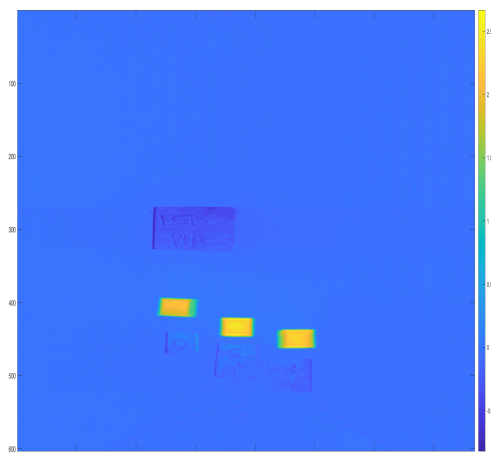


Figura 3.11 - PC2 dei regoli da 3 cm con PETG sopra.

Per mitigare gli effetti dello *scattering* luminoso, particolarmente evidente lungo le estremità dei campioni, si è quindi proceduto alla selezione di specifiche Regioni di Interesse (ROI) all'interno delle maschere precedentemente generate. La posizione di ogni ROI è stata definita individuando il centro geometrico della maschera e costruendo attorno un'area di forma quadrata (*bounding box*) [68].

Dato che la base dei regoli e le ROI hanno la stessa forma geometrica, su questi campioni è stato possibile estrarre delle aree di analisi più estese rispetto ai cilindri; infatti, essendo questi

ultimi caratterizzati da sezione circolare, è stato necessario ricorrere a delle ROI di dimensioni ridotte per garantire che l'intera area di campionamento rimanesse confinata entro i limiti del cerchio, eliminando il contributo dei bordi e quindi di eventuali interferenze luminose.

In Figura 3.12 sono raffigurate delle ROI di due cilindri di altezza 3 cm, a titolo di esempio.

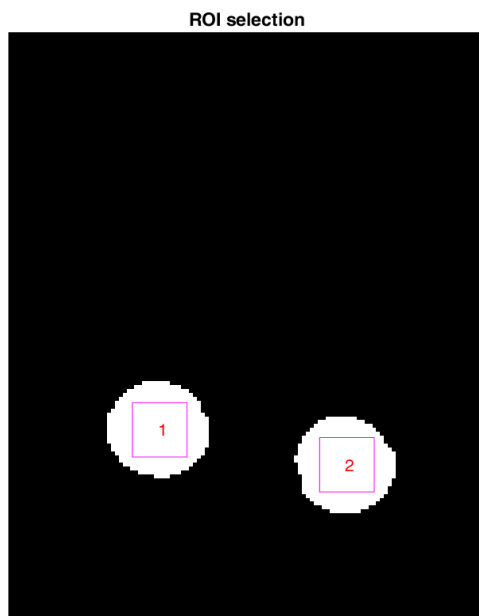


Figura 3.12 - ROI di due cilindri.

Infine, le ROI appartenenti a un medesimo set sono state concatenate verticalmente per generare un'unica immagine complessiva per set. Questo processo ha permesso di ottenere, per ogni raggruppamento sperimentale, un'unica matrice finale avente dimensioni (pixel x λ), pronta per le successive fasi di analisi chemiometrica.

3.4.3. Pretrattamenti

Innanzitutto, i dati sono stati sottoposti a pretrattamenti di riga o di colonna. L'obiettivo principale è stato rimuovere i fenomeni indesiderati, quali, ad esempio, lo *scattering* luminoso, o pesare correttamente le variabili originali prima del trattamento chemiometrico [53].

Un approccio utilizzato è stato il centraggio di colonna, in particolare il centraggio sulla media (*Mean Centering*) [56], che è stato ottenuto mediante la seguente equazione:

$$x_{MC} = x_{ij} - \bar{x}_j \quad \text{Equazione 3.5}$$

In particolare, per ogni elemento x_{ij} della colonna j , si applica l'Equazione 3.5, dove $\bar{x}_j$ rappresenta la media aritmetica della colonna j . Questa operazione permette di evidenziare la varianza di ogni variabile rispetto alla sua media, in modo da dare maggior risalto alle variabili che portano l'informazione più estrema. Un altro pretrattamento di colonna sfruttato è l'autoscalatura (*autoscaling*) [56], che prevede l'integrazione di un centraggio e una scalatura.

$$x_{Scalato} = \frac{x_{ij} - \bar{x}_j}{s_j} \quad \text{Equazione 3.6}$$

In particolare, per ogni elemento x_{ij} della colonna j (intensità spettrale misurata per la lunghezza d'onda j e per il pixel i), si applica l'Equazione 3.6, dove $\bar{x}_j$ rappresenta la media aritmetica della colonna j e s_j la deviazione standard della colonna j . Sono poi stati applicati anche dei pretrattamenti di riga, per gestire i fenomeni di intensità globale, spostamento e deriva della linea di base, come illustrato nel paragrafo 1.3.3. In particolare, è stata sfruttata la trasformata SNV [53], con lo scopo di eliminare lo *scattering* luminoso. L'algoritmo SNV opera sui singoli spettri secondo la seguente equazione:

$$x_{SNV} = \frac{x_{ij} - \bar{x}_i}{s_i} \quad \text{Equazione 3.7}$$

In particolare, per ogni elemento x_{ij} della riga i , si applica l'Equazione 3.7, dove $\bar{x}_i$ rappresenta la media dello spettro su quella riga, e s_i rappresenta la deviazione standard della riga corrispondente.

3.4.4. Spettri

Per ciascun set di dati acquisito, è stata effettuata un'analisi visiva preliminare degli spettri. Per far ciò, gli spettri in riflettanza sono stati plottati in forma grezza e le loro caratteristiche distintive sono state osservate e commentate.

Data l'elevata densità di informazioni e l'ingente numero di pixel campionati per ogni matrice, è stato necessario procedere a una semplificazione del *dataset* per agevolare l'interpretazione visiva e la rappresentazione grafica. A tal fine, è stato generato un sottoinsieme casuale corrispondente al 5% del totale dei pixel di ogni matrice originale, di cui sono poi stati plottati gli spettri. Questo approccio ha consentito allo stesso tempo di mantenere l'integrità informativa

necessaria per una prima analisi esplorativa e di garantire la leggibilità dei grafici, che altrimenti sarebbero risultati sovraffollati.

Dopo l'analisi degli spettri grezzi, per correggere le variazioni di intensità globale e gli effetti di *scattering* spettrale è stata applicata su tutti i sottoinsiemi randomici al 5% la trasformata SNV.

3.4.5. PCA

Sui dati pretrattati è stata quindi condotta la PCA. In particolare, sono stati costruiti quattro diversi modelli, in funzione del pretrattamento applicato ai dati:

1. Centraggio sulla media.
2. Trasformata SNV seguita da centraggio sulla media.
3. Autoscalatura.
4. Trasformata SNV seguita da autoscalatura.

Inizialmente, i modelli sono stati sviluppati sui dati dei training set, descritti nel paragrafo 3.4.1. Sono quindi state individuate le componenti principali (PCs) più significative, ovvero quelle che descrivono la quota maggiore di varianza del sistema, le quali sono state usate per produrre i grafici degli score e dei loading.

Nello specifico, i grafici degli score riportano sulle ordinate lo score della PC d'interesse, mentre sull'asse delle ascisse è definita la sequenza temporale di acquisizione dei pixel, ordinati quindi, dal primo all'ultimo spettro catturato dal sensore durante la scansione. Inoltre, ogni pixel è stato caratterizzato da un colore specifico, identificativo della quantità espressa in mm di polimero che si trova "sopra".

Invece, i loading, determinando il peso di ogni lunghezza d'onda sul calcolo della PC, sono stati sfruttati per individuare le regioni specifiche dello spettro NIR su cui il modello si è basato per descrivere i campioni. Questi grafici hanno permesso di collegare le variazioni negli score alle bande di assorbimento specifiche dei polimeri analizzati, eventualmente confermando che l'informazione descritta dalla PCA è dipendente dalla natura chimica.

Successivamente, i campioni appartenenti ai rispettivi test set interni sono stati proiettati nello spazio definito dalle PCs del training set per ricavarne i relativi score.

Tale operazione è svolta mediante la seguente Equazione:

$$T_{test} = X_{test,processed} \cdot P_{train} \quad \text{Equazione 3.8}$$

Nell' Equazione 3.8, la matrice degli score del test set interno T_{test} è ottenuta mediante il prodotto tra $X_{\text{test,processed}}$, ovvero la matrice del test set interno opportunamente pretrattata, e P_{train} , cioè la matrice dei loading del training set.

In particolare, per tutti e quattro i modelli sviluppati, la matrice $X_{\text{test,processed}}$ è stata ottenuta applicando sul test set lo stesso pretrattamento utilizzato per il corrispondente training set al fine di garantire la coerenza della proiezione.

L'analisi degli score del test interno set ha lo scopo di valutare la robustezza del metodo analitico sviluppato e, quindi, di osservare l'effettiva capacità di descrivere i diversi campioni in funzione della quantità di PLA e PETG, confrontando il comportamento su questo set e quello di training.

La medesima procedura di proiezione è stata infine applicata ai corrispettivi test set esterni. In questo caso, gli score ottenuti sono stati usati per la generazione delle immagini degli score [69]. In tali rappresentazioni si recupera l'informazione spaziale derivante dall'immagine originaria, effettuando un *refolding* (ripiegamento) della matrice dei pixel. Nell'immagine risultante, ogni pixel è colorato con una scala cromatica dal blu al rosso proporzionale al valore dello score assunto da quel pixel nella PC considerata. Questa visualizzazione risulta fondamentale per determinare se la variabilità dei dati sia riconducibile a informazioni di natura chimica, quale l'altezza del polimero, oppure a caratteristiche morfologiche, quali le geometrie di stampa, che possono essere visivamente ricercate nell'immagine ricostruita.

4. RISULTATI E DISCUSSIONE

L'analisi dei dati consiste nel confronto degli spettri grezzi e pretrattati con trasformata SNV e dall'indagine esplorativa PCA per tutti i set descritti nel paragrafo 3.3. Al fine di garantire la massima linearità di lettura, il capitolo è organizzato secondo una struttura coerente: per ogni fase di analisi verranno descritti prima i risultati relativi ai campioni da 3 cm e da 5 cm nella configurazione PETG sopra, successivamente quelli in configurazione PLA sopra. Questa scelta permette di mantenere un filo conduttore coerente, facilitando il confronto diretto tra i polimeri e le altezze dei campioni.

4.1. Analisi spettrale

4.1.1. Spettri grezzi

Per facilitare l'interpretazione, data l'elevata densità dei dati, l'attribuzione di banda è stata effettuata inizialmente sui profili medi dei polimeri puri (Figura 4.1), al fine di identificare le aree di maggiore interesse diagnostico per la differenziazione dei due polimeri studiati.

Da tale analisi sono emersi assorbimenti caratteristici tra 1100 nm e 1250 nm per entrambi i materiali: mentre il PLA (in blu) ha mostrato una singola banda di *overtone* del legame C-H, legata allo *stretching* asimmetrico dei gruppi metilici (CH₃), nel PETG (in rosso) sono stati evidenziati due assorbimenti distinti, associati allo *stretching* asimmetrico dei gruppi metilenici (CH₂) e ai legami aromatici C-H [70].

Un'ulteriore banda è stata registrata intorno ai 1400 nm, legata al legame O-H; nel PETG essa è dovuta alla presenza del gruppo glicolico, mentre nel PLA il segnale risulta particolarmente marcato probabilmente a causa dell'umidità assorbita, fenomeno attribuibile alla natura igroscopica di questo polimero [71]. Inoltre, per entrambi i materiali l'intervallo tra 1600 nm e 2250 nm rappresenta un'area di *fingerprint* (impronta digitale), caratterizzata da una complessa sovrapposizione di bande relative a legami C-H alifatici e aromatici, C=O e O-H [72]. Al contrario, la zona oltre i 2250 nm è risultata poco diagnostica ai fini dell'analisi, in quanto non ha presentato nessuna banda significativa e caratteristica per i due polimeri.

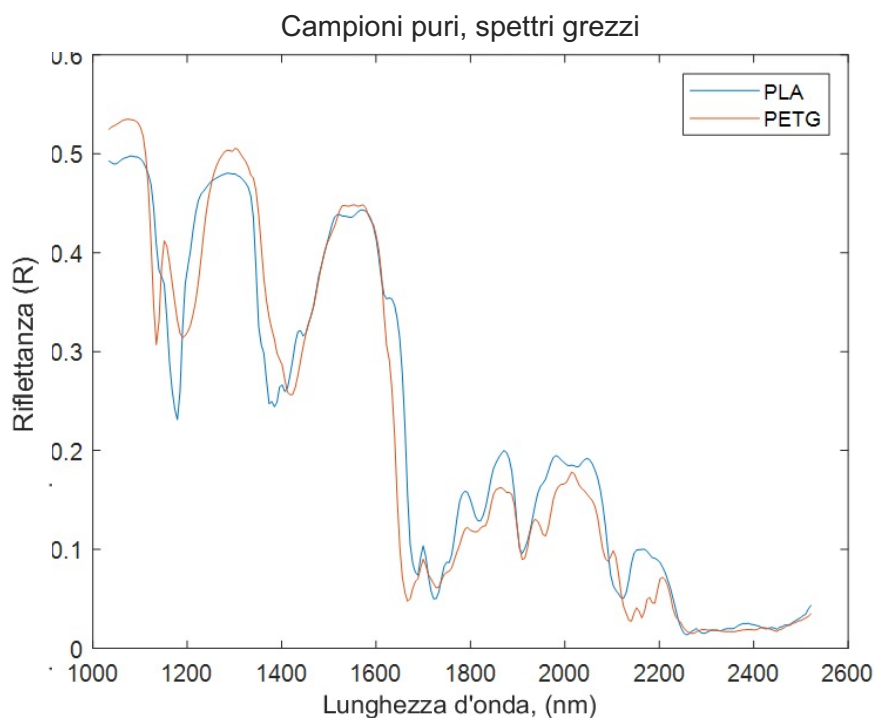


Figura 4.1 - Spettri dei polimeri puri PLA e PETG.

Successivamente, sono state analizzate le firme spettrali in modalità *pixel-based* dei dati grezzi per il training set e i test set interno ed esterno, con l'obiettivo di valutare visivamente se, e in che misura, gli assorbimenti variassero in funzione del cambiamento progressivo dell'altezza dei polimeri nei campioni. A questo scopo, i profili di ogni spettro sono stati colorati tramite la mappa di colori HSV su MATLAB®, una scala cromatica dal rosso al magenta, dove ogni gradazione corrisponde a una maggiore quantità del polimero sopra.

L'analisi focalizzata sugli spettri grezzi dei regoli da 3 cm e 5 cm con il PETG sopra, riportata in Figura 4.2, ha confermato la presenza delle bande caratteristiche descritte nella Figura 4.1. In particolare, nella Figura 4.2a, riferita al training set da 3 cm, è stata osservata una differenza tra il profilo del regolo puro PLA (rosso) e quelli corrispondenti a spessori crescenti di PETG. Mentre il profilo rosso ha mantenuto un andamento distinto corrispondente a quello del PLA puro riportato in figura 4.1, quelli degli altri campioni sono risultati sovrapposti e visivamente indistinguibili negli intervalli a 1100-1250 nm, 1400 nm e 1600-2250 nm, presentando tutti un profilo molto simile a quello del PETG puro.

Nella Figura 4.2b, relativa al training set dei 5 cm, è stata invece evidenziata una variazione continua e progressiva dei profili dal provino con PLA puro (rosso) fino a quello con 4 mm di PETG (arancione). Oltre tale spessore le bande sono risultate sovrapposte, rendendo i profili indistinguibili.

Per quel che riguarda il test set interno da 3 cm, nella Figura 4.2c viene di nuovo riscontrata una differenza spettrale tra il profilo rosso e gli altri, sebbene la differenza risulti meno marcata poiché, in questo caso, il riferimento è costituito dal regolo da 2 mm PETG, anziché dal campione puro. Per il test set interno da 5 cm tale differenza non è emersa (Figura 4.2d) e tutti i profili sono risultati sovrapposti. Infatti, in questa figura lo spettro in rosso si riferisce a un regolo con uno spessore di PETG pari a 6 mm, un valore superiore alla soglia di 4 mm entro la quale nel training set era possibile evidenziare differenze spettrali tra i campioni.

Infine, negli spettri dei cilindri da 3 cm e 5 cm con configurazione PETG sopra non è stata osservata alcuna distinzione o ordine logico tra i diversi profili spettrali. Tale assenza di correlazione è stata in parte ricondotta al fatto che lo spessore minimo di PETG in questo set è superiore ai valori di PETG che mostravano differenze spettrali nelle Figure 4.2a e b. Infatti, per i cilindri da 3 cm l'altezza minima di PETG è stata pari a 7 mm, a fronte dei 0 mm e 2 mm mostrati rispettivamente per il training e per il test set interno; mentre per quelli da 5 cm lo spessore minimo è stato di 5 mm, superando i 4 mm individuati nel training set. Tuttavia, tale

comportamento è attribuito anche all'influenza fisica derivante dalla diversa geometria dei campioni.

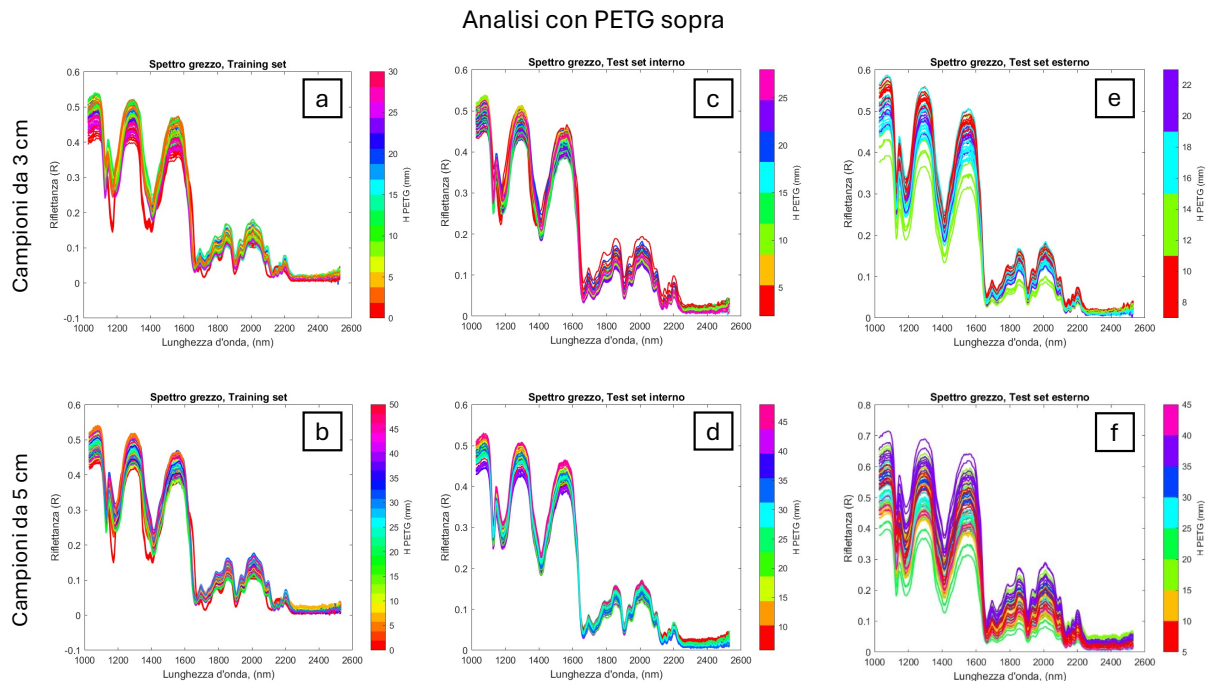


Figura 4.2 – Spettri grezzi dei campioni acquisiti in configurazione PETG sopra da 3 cm (riga superiore) e da 5 cm (riga inferiore). I grafici si riferiscono rispettivamente ai training set (a-b), test set interno (c-d) e test set esterno (e-f).

Successivamente, l'analisi è stata ripetuta per i campioni da 3 cm e 5 cm in configurazione PLA sopra e i risultati sono riportati in Figura 4.3. Le considerazioni per questo set sono state in parte analoghe a quanto precedentemente commentato.

In particolare, nelle Figure 4.3a-b relative ai training set da 3 e 5 cm, è emersa chiaramente la distinzione del campione di PETG puro. Nello specifico, nella Figura 4.3a, relativa al training set da 3 cm, si evidenzia una variazione continua e progressiva dei profili dal provino con PETG puro (in rosso) fino a quello con 15 mm di PLA (verde); oltre tale spessore le bande sono sovrapposte, rendendo i profili indistinguibili. Per il training set da 5 cm (Figura 4.3b) è stato invece possibile individuare caratteristiche spettrali distintive esclusivamente per il polimero puro, mentre tutti gli spettri successivi sono risultati sovrapposti. Questo comportamento differisce sia da quanto affermato sui regoli da 3 cm con PLA sopra, sia da quanto osservato nei campioni con PETG sopra poiché, in quest'ultimo caso sono risultati riconoscibili anche i profili corrispondenti agli spessori di 2 mm e 4 mm.

In sintesi, il confronto tra i training set da 3 cm e da 5 cm ha evidenziato due comportamenti distinti e apparentemente discordanti: nei provini da 3 cm sono emerse differenze dell'intensità spettrale tra i profili fino a strati più alti di polimero nella configurazione con PLA sopra, suggerendo maggiore penetrazione in questo materiale, mentre nei campioni da 5 cm si è avuta un'osservazione opposta, con il set con PETG sopra che ha presentato differenze spettrali fino a spessori maggiori. Per dirimere questa incongruenza, si è passati quindi alla considerazione dei test set.

Dall'analisi degli spettri grezzi dei test set interni da 3 cm e da 5 cm (Figure 4.3c-d) con PLA sopra è stata rilevata una variazione progressiva e decrescente dei profili fino a 15 mm di spessore (spettro verde) per entrambi i set. Tale comportamento è coerente con i risultati ottenuti per il training set da 3 cm con il PLA sopra (Figura 4.3a). Questo suggerisce che il training set da 5 cm (Figura 4.3b) presenti un comportamento anomalo, forse derivante dall'eccessivo affollamento grafico e all'influenza dello *scattering* luminoso, che nei dati grezzi potrebbe essere diverso anche per pixel riferiti allo stesso regolo. Questi effetti potrebbero mascherare la variabilità legata allo spessore del campione, rendendo i profili visivamente indistinguibili e impedendo una corretta interpretazione dei dati grezzi.

Infine, nelle Figure 4.3e-f relative ai cilindri da 3 cm e 5 cm con il PLA sopra, tutti i profili sono risultati sovrapposti, impedendo di apprezzare alcun comportamento correlato all'altezza dello strato superiore di polimero. Questo comportamento era già emerso anche per i cilindri con il PETG sopra; tuttavia, in questo caso, la disposizione randomica degli spettri è risultata più evidente: considerando che nel training set e nei test set interni era stata osservata una distinzione fino a 15 mm di PLA, i primi profili, indicanti 5 mm e 11 mm, si sarebbero dovuti distinguere.

Tale fenomeno è stato ricondotto all'impiego dei diversi *pattern* di stampa, come già commentato nel paragrafo 3.2, che hanno oscurato il contributo chimico dei polimeri. Tale effetto ha influenzato anche la distribuzione dei profili: quelli verde e azzurro, dei cilindri con geometria a “Corde di Archimede”, presentano valori di riflettanza molto dispersi (Figure 4.2e-f e 4.3e-f), suggerendo che queste geometrie di riempimento possano portare a un maggiore *scattering*.

In effetti, in tutti gli spettri presentati in questo paragrafo, e soprattutto in quello dei test set esterni, è stato riscontrato un effetto di intensità globale, riconducibile allo *scattering* luminoso. Poiché tale fenomeno ha introdotto una variabilità indesiderata che compromette l'accuratezza dell'analisi, nel paragrafo 4.1.2. verranno approfonditi gli spettri ottenuti mediante il pretrattamento dei dati con la tecnica SNV.

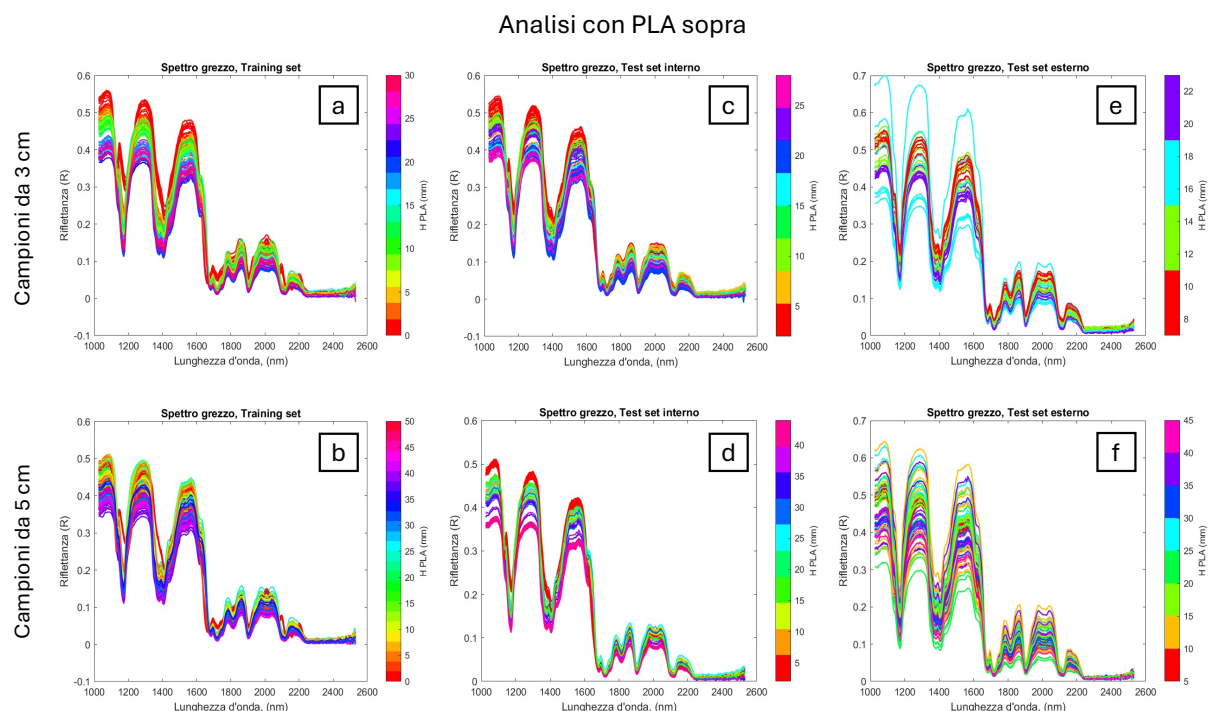


Figura 4.3 - Spettri grezzi dei campioni acquisiti in configurazione PLA sopra da 3 cm (riga superiore) e da 5 cm (riga inferiore). I grafici si riferiscono rispettivamente ai training set (a-b), test set interno (c-d) e test set esterno (e-f).

4.1.2. Spettri con trasformata SNV

Dopo aver applicato la trasformata SNV, gli spettri di entrambi i set sono stati nuovamente plottati seguendo gli stessi criteri precedentemente descritti, e i risultati sono mostrati in Figura 4.4 e 4.5 rispettivamente per i campioni con PETG sopra e con PLA sopra. A valle del pretrattamento, sono state individuate delle tendenze significative associate all'altezza del polimero che si trova sopra sia per i campioni da 3 cm sia da 5 cm.

In particolare, la Figura 4.4a, relativa al training set da 3 cm con PETG sopra ha evidenziato variazioni spettrali progressive per i profili dal rosso all'arancione, corrispondenti ai regoli con 0 mm, 2 mm e 4 mm di PETG, a differenza di quanto precedentemente osservato nella Figura 4.3a, dove solo il provino puro era riconoscibile. Allo stesso modo, nella Figura 4.4b è stata riscontrata una variazione continua dei profili dal rosso (regolo puro PLA) all'arancione (regolo con 6 mm di PETG). Tali variazioni nella Figura 4.4b sono risultate nettamente più distinte e caratterizzanti rispetto a quelle degli spettri grezzi in Figura 4.2b; infatti, l'applicazione del pretrattamento ha evidenziato differenze spettrali significative non solo in termini di intensità totale e nell'intervallo 1100-1250 nm e i 1400 nm, ma anche nell'intervallo 1600-2250 nm.

Quest'ultima area, che nella Figura 4.3b risentiva dello *scattering* luminoso, è diventata ora interpretabile grazie alla rimozione degli effetti di intensità globale.

Nelle Figure 4.4c-d, relative agli spettri del test set interno dei campioni da 3 cm e 5 cm con PETG sopra, si possono formulare le stesse considerazioni già espresse per le Figure 4.3c-d. Anche dopo il pretrattamento, è possibile riconoscere il profilo rosso del regolo da 2 mm per i provini da 3 cm (Figura 4.4c) mentre non sono visibili differenze tra i profili per i campioni da 5 cm (Figura 4.4d). Tuttavia, l'applicazione della trasformata SNV ha reso l'interpretazione e la lettura di tali evidenze più immediate, eliminando la dispersione degli spettri lungo l'asse y della riflettanza.

Per quanto riguarda invece le Figure 4.4e-f, relative ai test set esterni da 3 cm e da 5 cm, l'applicazione della trasformata SNV ha permesso di correggere le differenze sistematiche tra i diversi riempimenti, riducendo l'effetto dello *scattering*; tuttavia, non ha contribuito a una migliore caratterizzazione dei profili. È infatti emersa nuovamente una marcata sovrapposizione, a testimonianza dell'assenza di una tendenza legata allo spessore dei polimeri; ciò è probabilmente dovuto al fatto che l'informazione fisica ha prevalso su quella chimica. L'unica eccezione è lo spettro in rosso nella Figura 4.4f, riferito al cilindro con 5 mm di PETG, che ha mostrato uno spostamento a lunghezze d'onda più basse del picco a 1200 nm, dimostrando un maggiore contributo dello spettro del PLA degli strati inferiori su questo campione.

Analisi con PETG sopra

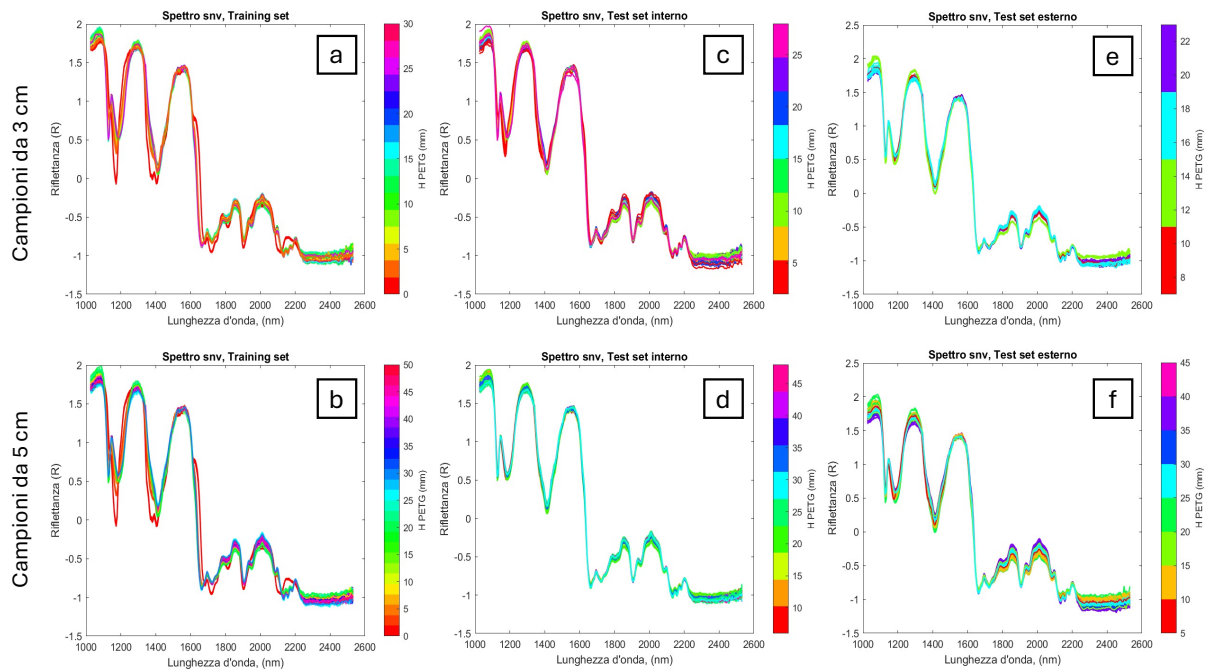


Figura 4.4 - Spettri con SNV dei campioni acquisiti in configurazione PETG sopra da 3 cm (riga superiore) e da 5 cm (riga inferiore). I grafici si riferiscono rispettivamente ai training set (a-b), test set interno (c-d) e test set esterno (e-f).

Successivamente, è stata condotta in modo analogo l'analisi dei campioni da 3 cm e da 5 cm con il PLA sopra, che è rappresentata in figura 4.5. Nelle Figure 4.5a-b, relative ai training set di riferimento, sono state osservate delle tendenze legate all'altezza dei polimeri. In particolare, coerentemente con quanto osservato negli spettri grezzi, per i regoli da 3 cm (Figure 4.3a), è stata riscontrata una variazione progressiva e continua fino a 15 mm nella configurazione PLA sopra. Tuttavia, il risultato più significativo riguarda i regoli da 5 cm (Figura 4.5b): a differenza di quanto emerso in Figura 4.3b nel corrispondente spettro grezzo, l'applicazione di SNV ha permesso di mostrare una distinzione dei profili fino al profilo verde, corrispondente a 15 mm di PLA. Questo risultato conferma l'ipotesi riguardante l'anomalia osservata in Figura 4.3b: il comportamento nello spettro grezzo del training set dei 5 cm con PLA sopra non era dovuto ad un limite fisico della penetrazione, bensì a un effetto di *scattering* e affollamento grafico, che il pretrattamento è riuscito a eliminare efficacemente.

Per quanto riguarda i test set interni, nei campioni da 3 cm (Figura 4.5c) si ritrova la stessa tendenza già osservata in precedenza (Figura 4.3c), con una distinzione spettrale tra campioni apprezzabile fino a 15 mm di spessore. Per il test set interno da 5 cm (Figura 4.5d) si osservano chiare differenze nel profilo rosso, ovvero quello con 5 mm di PLA, e solo parzialmente per il profilo arancione (11 mm di PLA) a 1220-1270 nm e 1600-1650 nm.

Infine, per i cilindri da 3 cm e da 5 cm acquisiti in configurazione con il PLA sopra è stata osservata ancora una volta una generale sovrapposizione tra i profili, confermando quanto già discusso per la configurazione con PETG sopra: sebbene la trasformata SNV sia riuscita a eliminare lo *scattering* luminoso e a normalizzare le differenze tra le geometrie di stampa, il segnale non ha mostrato una sufficiente caratterizzazione chimica per descrivere le variazioni delle altezze dei polimeri.

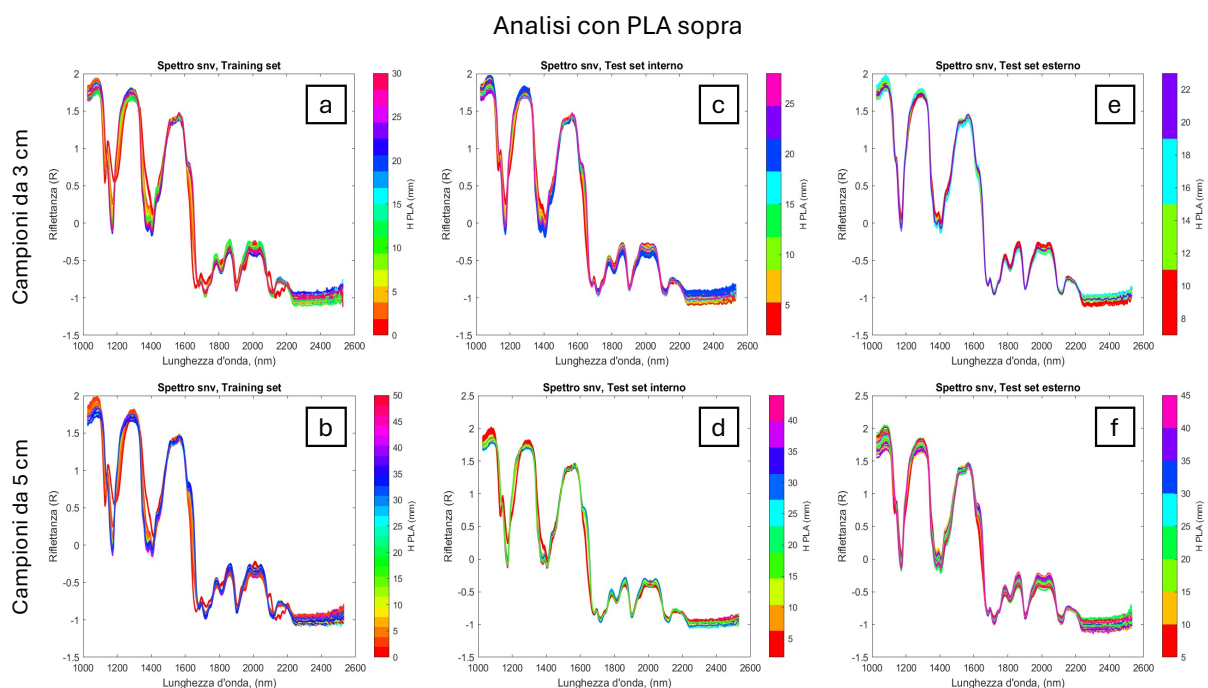


Figura 4.5 - Spettri con SNV dei campioni acquisiti in configurazione PLA sopra da 3 cm (riga superiore) e da 5 cm (riga inferiore). I grafici si riferiscono rispettivamente ai training set (a-b), test set interno (c-d) e test set esterno (e-f).

In conclusione, l'analisi condotta, in particolare sui training set, conferma la capacità del segnale NIR di penetrare all'interno dei provini. Tale evidenza è supportata dalla sistematica variazione dei profili spettrali nelle zone precedentemente identificate come diagnostiche: al variare dell'altezza del polimero che si trova "sopra", è osservata infatti una transizione coerente e progressiva della risposta spettrale. Nello specifico, i dati hanno mostrato che all'aumentare dell'altezza dello strato superiore, lo spettro complessivo del campione perde progressivamente le caratteristiche distintive del polimero sottostante, assumendo un andamento più simile al polimero "sopra". Questo comportamento sembra indicare un limite fisico di penetrazione della radiazione: nel momento in cui i profili spettrali smettono di cambiare e si sovrappongono allo spettro del polimero che si trova sopra, l'informazione

relativa al materiale sottostante non è più rilevabile, suggerendo una mancata penetrazione a strati più profondi.

Inoltre, dai dati si evidenzia una maggior capacità penetrativa della radiazione NIR nel PLA rispetto che nel PETG, riuscendo a veicolare informazioni sul materiale sottostante fino a spessore significativamente maggiori, ovvero 15 mm per il PLA rispetto ai 4-6 mm di PETG. Parallelamente, i risultati ottenuti sui cilindri hanno sottolineato come l'architettura interna sia anch'essa cruciale. L'adozione di diversi *pattern* di stampa determina, infatti, diverse modalità di interazione tra la radiazione e la materia; in particolare, l'insorgere di fenomeni di *scattering* tende a oscurare il contributo chimico del materiale, riducendo drasticamente la profondità di penetrazione utile del segnale.

4.2. PCA

Successivamente, è stata eseguita un'analisi esplorativa per mezzo di PCA. La PCA è stata svolta sulla matrice intera delle ROI, in modalità *pixel based*, senza ridurre il dataset con un sottoinsieme random. Come già discusso nel paragrafo 3.4.5, sono stati sviluppati quattro modelli variando la tipologia di pretrattamento utilizzata, e i risultati sono riportati nei paragrafi 4.2.1, 4.2.2, 4.2.3, 4.2.4.

4.2.1. Dati pretrattati con centraggio sulla media

Inizialmente, i dati sono stati pretrattati applicando un centraggio della media (*mean centering*) e quindi sottoposti a PCA. Dopo un'analisi degli score sulle prime quattro PCs, gli score su PC2 sono stati identificati come i più interessanti e maggiormente correlati all'informazione di interesse. Questo comportamento è dovuto al fatto che, non essendo stati applicati pretrattamenti di riga, PC1 cattura prevalentemente la variabilità sistematica legata agli effetti fisici del processo di stampa. Quindi, ai fini del presente studio, verranno esaminati e presentati solo i grafici degli score e dei loading per PC2. L'analisi viene presentata seguendo la stessa logica precedentemente descritta, partendo dai campioni da 3 e 5 cm in configurazione PETG sopra e poi passando a quelli in configurazione PLA sopra.

I risultati per la modalità PETG sopra sono riportati in Figura 4.6 e 4.7 rispettivamente per i provini da 3 cm e 5 cm.

Dall'analisi dei grafici dei loading (Figure 4.6a e 4.7a), è possibile individuare a valori assoluti elevati di loading le lunghezze d'onda maggiormente correlate alla PC2, ovvero quelle che influenzano maggiormente la distribuzione degli score e lo sviluppo dei modelli. Nello

specifico, in entrambe le figure è stata osservata una correlazione positiva a 1100 nm, 1200-1250 nm e 1650 nm, mentre le lunghezze d'onda a 1150 nm e 1400 nm hanno mostrato un'influenza negativa sulla PC2. Queste variabili corrispondono sia alle zone maggiormente diagnostiche per il riconoscimento dei due polimeri individuate in Figura 4.1, sia a quelle che negli spettri delle Figure 4.4a e 4.4b mostravano una correlazione con l'altezza del polimero negli spettri dei primi campioni della serie. Inoltre, risulta di particolare rilievo il fatto che i profili dei loading per i training set da 3 cm e da 5 cm sono pressoché identici; questo suggerisce che i due modelli stiano catturando e descrivendo i medesimi fenomeni di natura chimico-fisica, indipendentemente dallo spessore totale del campione analizzato.

Coerentemente con i dati spettrali, è stata riscontrata una correlazione tra i valori degli score di PC2 e l'aumento dello spessore in mm di PETG: nella Figura 4.6b, i primi due campioni, ovvero PLA puro (0 mm di PETG) e 2 mm di PETG, hanno mostrato valori di PC2 progressivamente decrescenti, caratterizzandosi dagli altri campioni che presentano tutti valori di score prossimi allo zero o negativi, e non hanno mostrato una correlazione significativa tra il valore dello score e lo spessore dello strato di polimero. Analogamente, nella Figura 4.7b per il training set da 5 cm, i primi tre campioni (PLA puro in rosso, 2 mm PETG in verde e 4 mm PETG in blu) mostrano un andamento progressivamente decrescente nei valori di score lungo la PC2 all'aumentare del PETG. Per i restanti campioni, che hanno assunto valori di PC2 negativi o vicini allo zero, non è stato invece possibile osservare una correlazione netta con la variazione quantitativa del polimero.

Per quanto riguarda la proiezione dei rispettivi test set interni in PC2, nella Figura 4.6c, relativa ai regoli da 3 cm, è stato riscontrato un comportamento analogo a quello del training set: è infatti visibile un andamento decrescente per i primi due provini in funzione della quantità di PETG (2 mm in rosso e 4 mm in verde), mentre i campioni rimanenti mostrano score simili l'uno all'altro. Invece, per il test set interno da 5 cm, riportato in Figura 4.7c, non è stata osservata dipendenza degli score della quantità di PETG. Questa mancanza di informazione può essere legata al fatto che, in questa serie, il campione più basso ha uno spessore di PETG già pari a 6 mm.

Nonostante ciò, negli score del test set interno da 5 cm è stata riscontrata una correlazione lungo PC2 all'interno di triplette o a coppie di campioni. Tale comportamento è riconducibile al modo in cui i campioni sono stati posti sul carrello durante l'analisi; infatti, per le motivazioni già trattate nel paragrafo 3.3.2, i campioni sono stati disposti a triplette o coppie per ogni acquisizione. La PC2 ha quindi rilevato per ogni immagine la disposizione spaziale dei provini sul carrello. Questo dimostra che la componente, pur spiegando parzialmente il contributo dello

spessore dello strato superiore di polimero, come indicato dagli andamenti riscontrati sui training set, è stata influenzata anche dalle condizioni di illuminazione dei campioni.

Sono state rilevate delle discrepanze anche per quanto riguarda i test set esterni, le cui score *image* sono riportate nelle Figure 4.6d per i campioni da 3 cm e 4.7d per quelli da 5 cm. In questi campioni, infatti, è stato riscontrato lungo la PC2 un aumento del rumore, non presente nei training set. Tale fenomeno è stato ricondotto all'impiego delle diverse trame di riempimento usate, trattate nel paragrafo 3.2, che sono distinguibili tramite l'ispezione visiva delle score *image*. Infatti, le immagini dei cilindri caratterizzati dal medesimo schema di stampa mostrano una distribuzione dei valori analoga, discostandosi sensibilmente dal comportamento atteso. Nello specifico, nella Figura 4.6d è chiaramente visibile la geometria spirale a ottagramma per la prima ROI e, anche se meno chiaramente, anche per l'ultima, mentre per la seconda e la terza è emerso un motivo "a clessidra", riconducibile all'uso della trama a corda di Archimede. Analogamente, nella Figura 4.7d, i motivi di stampa risultano visibili in buona parte delle ROI. Ad esempio, nell'ultima ROI è chiaramente visibile un motivo "a scacchi" chiaro e scuro, che visivamente corrisponde alla struttura microscopica della curva di Hilbert che caratterizza questo campione. Questa caratteristica è meno evidente, invece, nel primo campione, nonostante presenti lo stesso riempimento. È possibile che, essendo questa componente molto sensibile anche alle ombre, come precedentemente commentato, il contributo dell'ombra abbia coperto quello del *pattern* di stampa. La seconda, quarta, quinta e settima ROI, invece, presentano una forma "a clessidra" simile a quella ritrovata per la seconda e terza ROI di Figura 4.6d. Questo comportamento è riconducibile all'uso della corda di Archimede e del riempimento concentrico per questi quattro campioni. Infatti, questi due motivi di riempimento sono tra loro i più simili geometricamente, ed è ragionevole che diano fenomeni di *scattering*, riflessione e rifrazione simili. Al contrario, nella ROI 3 è chiaramente visibile un motivo riconducibile alla spirale a ottagramma, come già precedentemente commentato per la prima ROI di figura 4.6d. Questo *pattern* non risulta chiaro, invece, nella sesta ROI, forse anche questa volta a causa di un effetto delle ombre.

Campioni 3 cm, PETG sopra, centraggio sulla media

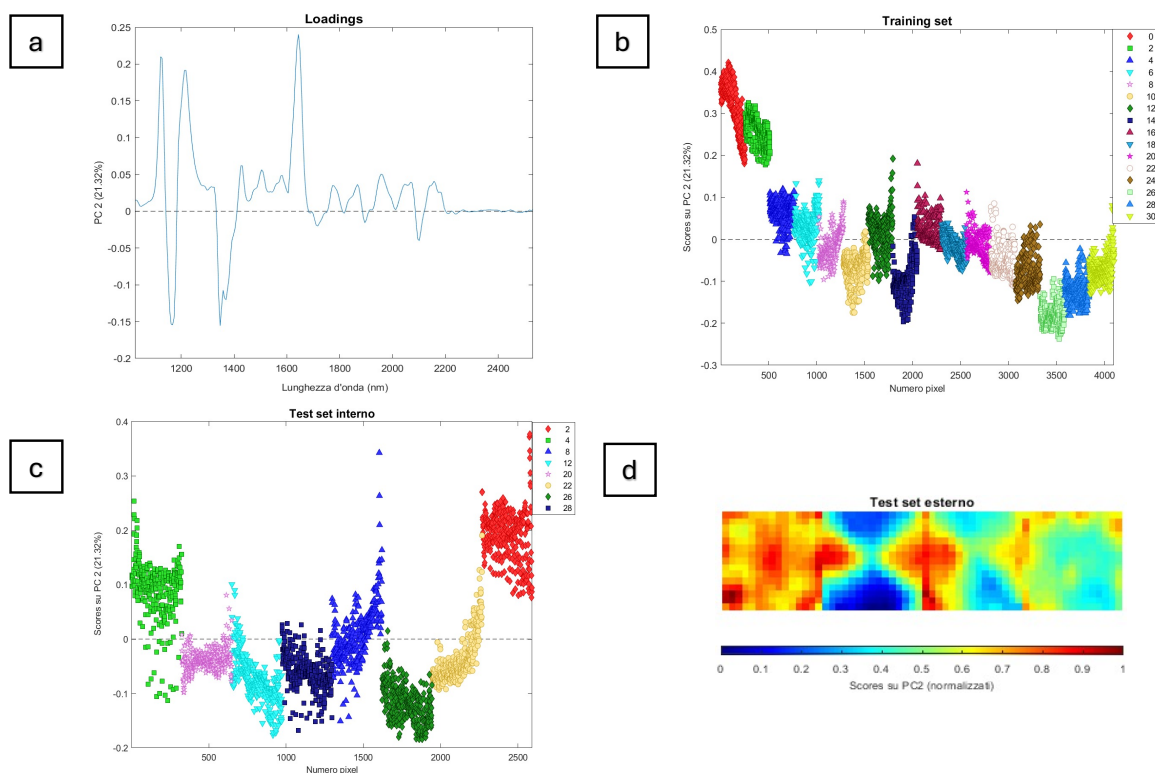


Figura 4.6 - Risultati dell'analisi PCA per i campioni da 3 cm (PETG sopra) pretrattati con centraggio sulla media: (a) Grafico dei loading della PC2, (b) Grafico degli score del training set, (c) Grafico degli score del test set interno e (d) Score *image* del test set esterno.

Campioni 5 cm, PETG sopra, centraggio sulla media

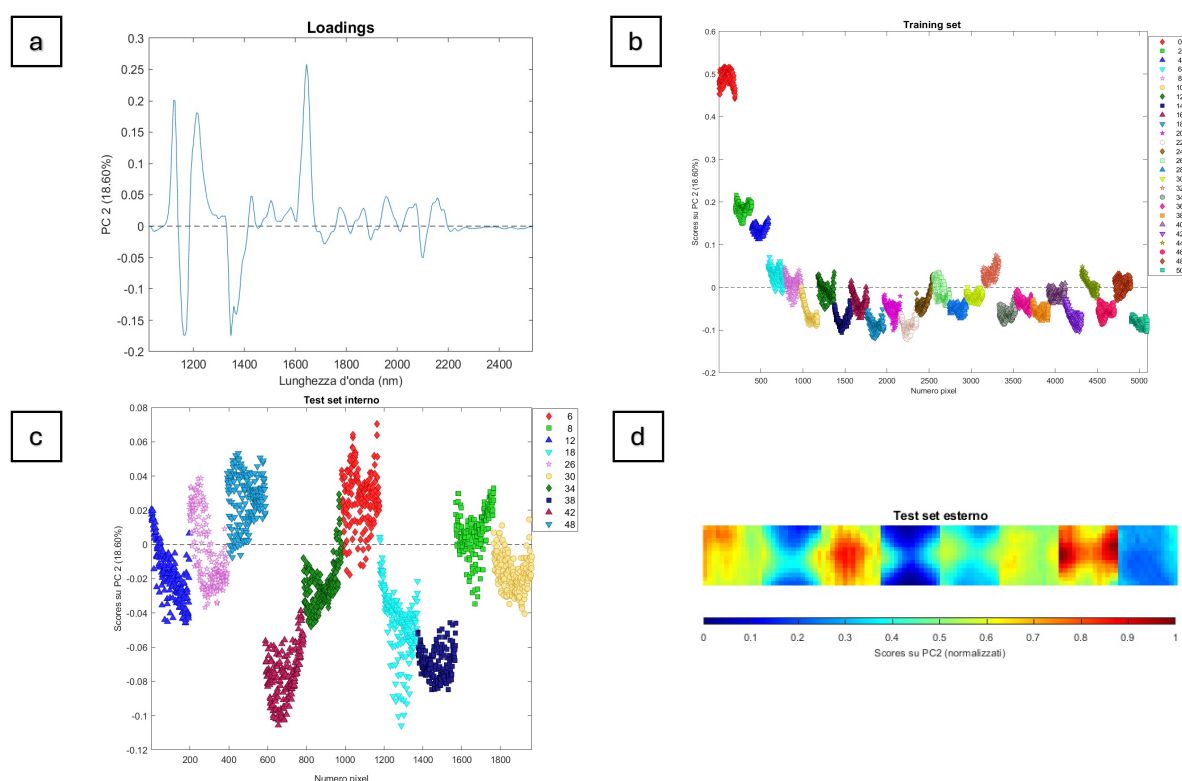


Figura 4.7 - Risultati dell'analisi PCA per i campioni da 5 cm (PETG sopra) pretrattati con centraggio sulla media: (a) Grafico dei loading della PC2, (b) Grafico degli score del training set, (c) Grafico degli score del test set interno e (d) Score *image* del test set esterno.

Successivamente, la stessa analisi è stata effettuata per i set da 3 cm e 5 cm acquisiti in configurazione PLA sopra. Nello specifico, l'analisi dei grafici dei loading dei training set di entrambe le altezze (Figure 4.8a e 4.9a) ha permesso di trarre conclusioni del tutto simili a quelle esposte in precedenza per le Figure 4.6a e 4.7a. Le medesime variabili spettrali già discusse per la configurazione PETG sopra hanno mostrato alti valori di loading, permettendo di confermare il contributo predominante delle lunghezze d'onda a 1100 nm, 1200-1250 nm e 1650 nm correlate positivamente alla PC2 e di quelle a 1150 nm e 1400 nm correlate negativamente.

L'analogia dei loading tra le due configurazioni PETG sopra e PLA sopra rappresenta un punto di forza per la strategia analitica adottata: infatti, questo risultato suggerisce che il modello dipenda esclusivamente dal rapporto relativo tra i due polimeri e dalla loro variazione quantitativa e, invece, non sia sensibile all'orientazione spaziale dei polimeri e all'ordine della stratificazione. Tale comportamento dimostra una ottima robustezza dell'approccio analitico, capace di produrre un modello interpretativo univoco, coerente e indipendente sia dall'altezza totale che dall'orientazione del campione analizzato.

La validità di tale approccio interpretativo trova conferma nell'analisi degli score della PC2 dei training set da 3 cm e da 5 cm (Figure 4.8b 4.9b). Anche in questo caso, infatti, è stata riscontrata una correlazione tra i valori calcolati di PC2 e l'incremento in mm di PLA. In particolare, nella Figura 4.8b relativa ai regoli da 3 cm, è stato osservato un andamento progressivo e crescente nei primi quattro campioni (PETG puro, 2 mm, 4 mm e 6 mm di PLA) all'aumentare dello spessore del PLA. Per i restanti campioni non è stata invece rilevata una correlazione netta con la variazione quantitativa del polimero: gli score tendono infatti a distribuirsi stocasticamente attorno allo zero, alternando valori positivi e negativi. Questo comportamento potrebbe evidenziare il raggiungimento del limite fisico del sistema, oltre il quale il segnale legato allo spessore del materiale non è più distinguibile dal rumore inquanto la penetrazione della radiazione NIR non è più efficace.

Tali considerazioni sono risultate valide anche per il training set da 5 cm (Figura 4.9b); in questo caso, infatti è stato osservato nuovamente un andamento progressivo e crescente per i primi quattro campioni (da PETG puro a 6 mm di PLA). Al contrario, per i campioni con spessori maggiori non è stata rilevata una tendenza correlata all'altezza del polimero sopra. Sebbene si possano riscontrare localmente delle serie in ordine crescente, la loro distribuzione è infatti casuale. Quest'ultimo comportamento riconducibile in parte al rumore di fondo, ma principalmente a interferenze fisiche, come la presenza di ombre, come già trattato per la Figura 4.7c, che oltre la soglia di 6 mm mascherano il segnale analitico legato alla variazione del polimero.

Per quanto riguarda la proiezione in PC2 del test set interno dei provini da 3 cm e 5 cm in configurazione PLA sopra, è stata osservata una distribuzione dei campioni parzialmente coerente con i rispettivi training set. Nello specifico, per entrambe le altezze da 3 cm (Figura 4.8c) e da 5 cm (Figura 4.9c) è emersa una caratterizzazione soltanto per il campione rosso (2mm PLA), infatti; oltre tale soglia tutti gli altri provini assumono valori di PC2 che oscillano intorno allo zero.

Infine, anche per i cilindri da 3 cm e 5 cm con il PLA sopra (Figure 4.8d e 4.9d) sono state riscontrate le medesime criticità osservate per i campioni con il PETG sopra. Nello specifico, si sono rilevate discrepanze legate a un incremento del rumore; tale fenomeno, chiaramente visibile tramite l'ispezione delle score *image*, è risultato ancora una volta riconducibile all'adozione delle diverse trame di riempimento per i cilindri. Analogamente a quanto osservato per le Figura 4.6d, nel test set esterno da 3 cm in configurazione PLA sopra (Figura 4.8d) è chiaramente visibile una trama a “clessidra” per la seconda e terza ROI, indicativa della

geometria a corda di Archimede, mentre per la prima e la quarta ROI il motivo “a scacchi” del *pattern* curva di Hilbert è meno visibile rispetto ai cilindri con PETG sopra.

Questo potrebbe essere dovuto al fatto che il PLA, in combinazione con questa particolare trama, genera un effetto di *scattering* luminoso che prevale anche sull’architettura fisica dei cilindri. Inoltre, per il test set esterno da 5 cm in Figura 4.9d, analogamente per la configurazione con PETG sopra (Figura 4.7d), sono facilmente riconducibili le trame a “clessidra” per la seconda e la settima ROI, indicative del riempimento concentrico, e per la quarta e quinta ROI, che invece possiedono quello a corde di Archimede. La terza ROI ha mostrato, come in Figura 4.7d, un comportamento riconducibile al motivo a spirale ad ottagramma, mentre la sesta ROI non ha mostra lungo PC2 nessun comportamento indicativo del *pattern* usato.

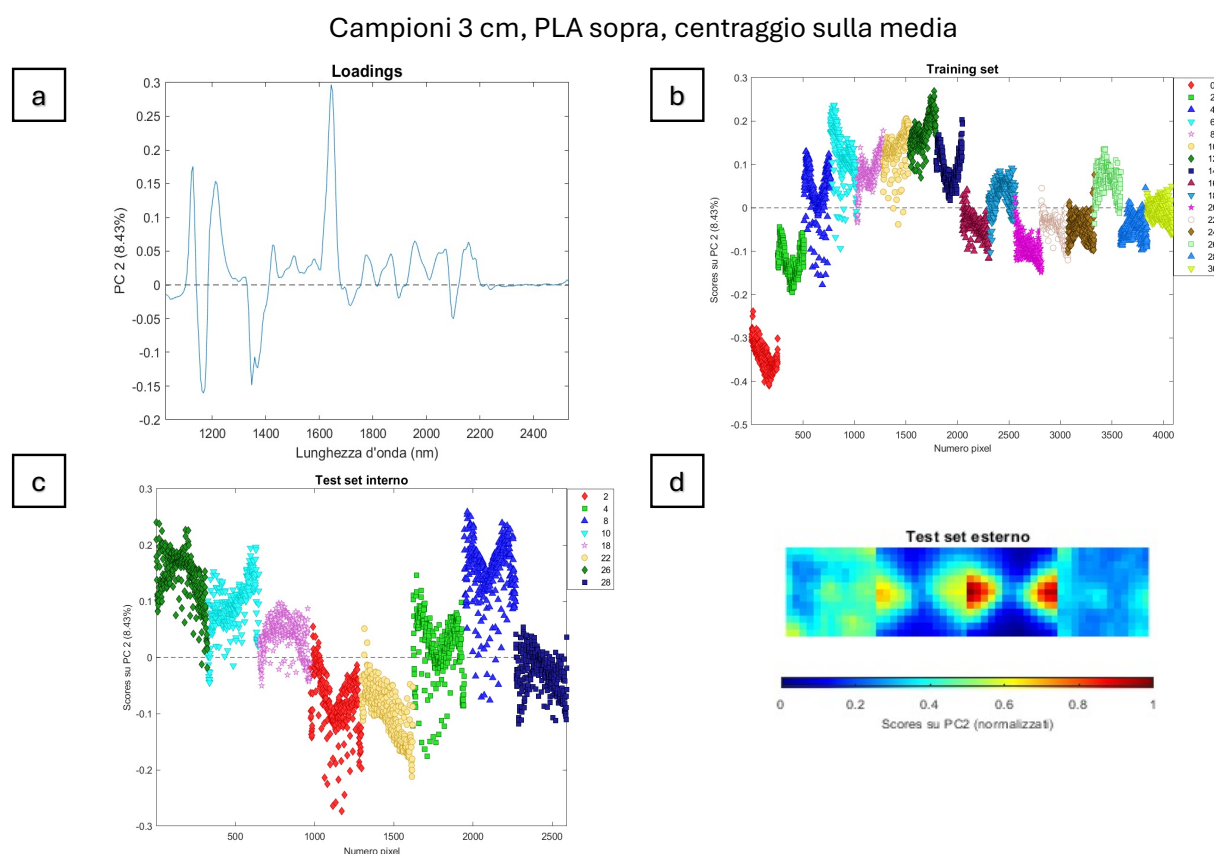


Figura 4.8 - Risultati dell’analisi PCA per i campioni da 3 cm (PLA sopra) pretrattati con centraggio sulla media:

- (a) Grafico dei loading della PC2, (b) Grafico degli score del training set, (c) Grafico degli score del test set interno e (d) Score image del test set esterno.

Campioni 5 cm, PLA sopra, centraggio sulla media

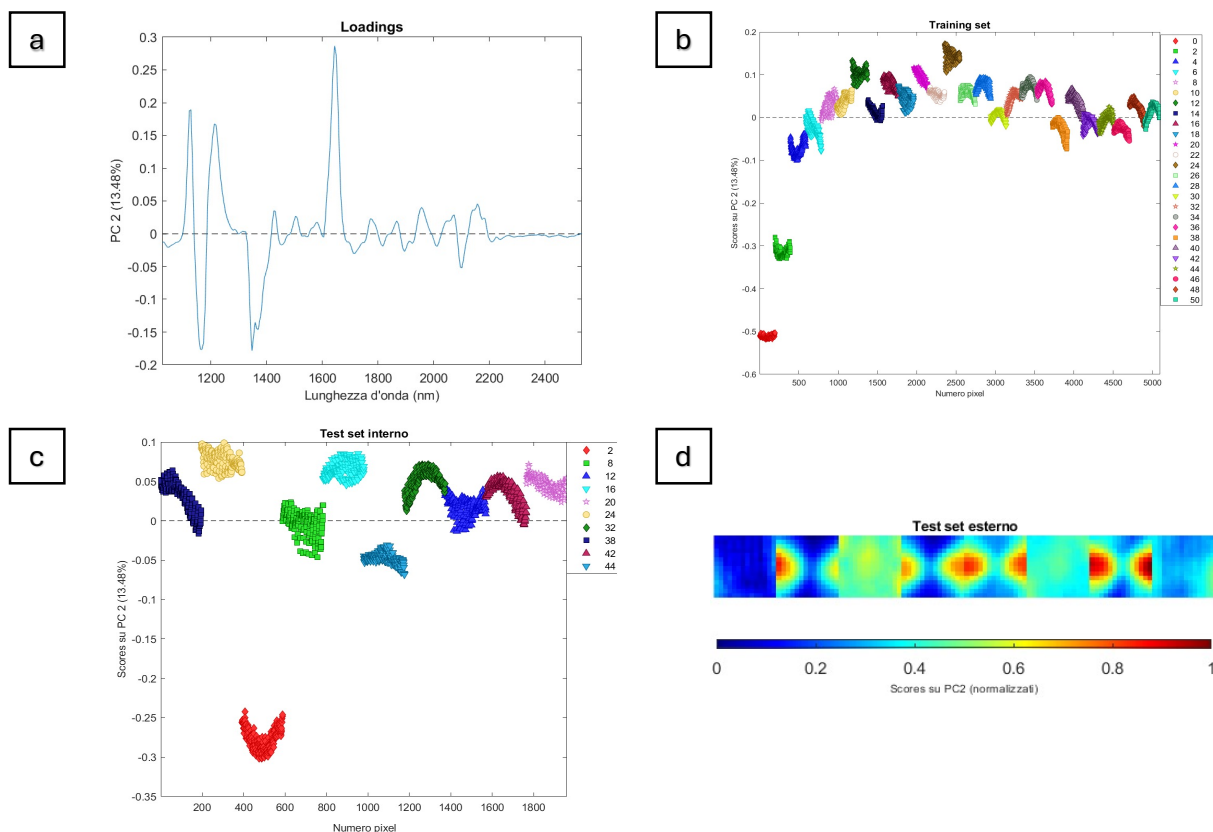


Figura 4.9 - Risultati dell'analisi PCA per i campioni da 5 cm (PLA sopra) pretrattati con centraggio sulla media:

- (a) Grafico dei loading della PC2, (b) Grafico degli score del training set, (c) Grafico degli score del test set interno e (d) Score *image* del test set esterno.

Complessivamente, l'applicazione del pretrattamento del centraggio di colonna ha permesso di sviluppare, lungo la PC2, un modello parzialmente in grado di descrivere i campioni in funzione dello spessore progressivo dei polimeri. Tuttavia, sia nella fase di validazione con il test set interno da 5 cm (configurazione PETG sopra), sia in modo più marcato nell'analisi dei cilindri, l'informazione chimica di interesse è risultata oscurata dalla predominanza di variabili fisiche. Tra queste, le trame di stampa hanno giocato un ruolo cruciale, compromettendo la robustezza del modello stesso.

Di conseguenza, al fine di convogliare l'informazione chimica lungo la PC1, ovvero la componente di massima varianza, e minimizzare le discrepanze derivanti dallo *scattering* luminoso e dall'architettura geometrica dei campioni, è stato sviluppato un modello applicando sui dati la combinazione della trasformata SNV e del centraggio sulla media.

4.2.2. Dati pretrattati con SNV e centraggio sulla media

Successivamente i dati sono stati pretrattati applicando prima la trasformata SNV, poi un centraggio sulla media e quindi sottoposti a PCA. Dopo un'analisi degli score sulle prime quattro PCs, quelli su PC1 sono stati identificati come i più significativi e maggiormente correlati all'informazione di interesse, quindi, ai fini del presente studio, verranno esaminati e presentati solo i grafici degli score e dei loading per PC1 per i training set da 3 cm e 5 cm, prima con configurazione PETG sopra (Figure 4.10 e 4.11) e poi PLA sopra (Figure 4.12 e 4.13).

Dall'analisi dei grafici dei loading (Figure 4.10a e 4.11a) sono state individuate le variabili che hanno influenzato maggiormente il modello, ovvero quelle che mostrano valori assoluti elevati di loading. In particolare, in entrambe le figure è stata osservata una correlazione positiva a 1100 nm, 1200-1250 nm e 1650 nm, mentre le lunghezze d'onda a 1150 nm e 1400 nm hanno mostrato un'influenza negativa sulla PC1.

Tali lunghezze d'onda sono state presentate come diagnostiche della variazione dello spessore dei polimeri (Figure 4.4a e 4.4b).

Inoltre, il profilo delle variabili diagnostiche dei grafici dei loading appena descritti rimane pressoché identico a quello presente in Figure 4.6a e 4.7a per i dati trattati con solo centraggio sulla media, confermando il fatto che i due trattamenti hanno isolato la variabilità relativa allo stesso fenomeno chimico-fisico. Tuttavia, con la combinazione della trasformata SNV e del centraggio sulla media, l'informazione d'interesse si è spostata sulla PC1 e rappresenta una percentuale della varianza totale pari a 83%, a fronte del 13% su PC2 con il solo centraggio sulla media. Questo incremento dimostra l'efficacia del pretrattamento; l'applicazione di SNV ha rimosso buona parte delle interferenze fisiche e del rumore di fondo, permettendo all'informazione d'interesse di emergere come la massima fonte di variabilità del sistema.

Coerentemente con quanto detto, gli score lungo la PC1, illustrati nelle Figure 4.10b e 4.11b rispettivamente per i regoli da 3 cm e 5 cm, hanno evidenziato una distribuzione dei campioni in funzione della quantità crescente di PETG. In particolare, in entrambi i casi, è stata osservata una variazione decrescente e progressiva degli score su PC1 fino a un'altezza di PETG pari a circa 12 mm; oltre tale valore, in nessuno dei due training set sono state rilevate variazioni significative, e tutti i campioni successivi si sono disposti a valori costanti di score, attorno a -0.5.

Dunque, con questo pretrattamento, si riesce a caratterizzare un maggior spessore di polimero (12 mm), a fronte dei 6 mm di PETG ottenuti per i grafici degli score sui dati trattati solo con centraggio sulla media (Figure 4.6b e 4.7b).

Considerazioni analoghe a quelle fatte per i grafici degli score (Figure 4.10b e 4.11b), possono scaturire dall'analisi delle Figure 4.10c e 4.11c, relative alle proiezioni dei test set interni: lungo la PC1 sono stati infatti riscontrati valori di score decrescenti per i primi tre campioni, rispettivamente fino a 8 mm per i regoli da 3 cm e fino a 12 mm per quelli da 5 cm. Quindi, l'integrazione della trasformata SNV ha permesso di convogliare l'informazione chimica sulla PC1 anche per il test set interno da 3 cm con PETG sopra, permettendo di filtrare il segnale e rilevare penetrazione efficace della radiazione NIR fino a profondità superiori di quelle precedentemente stimate. In quest'ultimo caso, l'applicazione del solo centraggio sulla media era risultato insufficiente, poiché l'informazione di interesse appariva ancora dominata dallo *scattering* luminoso.

Nel test set esterno da 3 cm (Figura 4.10d), solo nella prima ROI si evidenzia una differenza nei valori di PC1 riconducibile alla geometria di stampa; infatti, si osserva una distribuzione tipica della trama a spirale a ottagramma. Nelle ultime tre ROI questo fenomeno fisico non si rileva, ma la seconda (13 mm di PETG) è caratterizzata da una colorazione verde acqua, più chiara rispetto alla terza e alla quarta che assumono stessi valori di PC1 (blu). Tale comportamento è coerente con i risultati del training set, dove era stata riscontrata una capacità di penetrazione della radiazione fino a circa 12 mm. Al contrario, per gli ultimi due campioni, caratterizzati da spessori di PETG pari a 17 mm e 23 mm, il segnale non è stato in grado di fornire informazioni chimiche rilevanti.

Quindi, rispetto all'impiego del solo centraggio sulla media, l'analisi delle score *image* lungo la PC1 per i cilindri da 3 cm (Figura 4.10d) ha evidenziato che l'interferenza dovuta alle differenti geometrie è rimasta presente solo nel primo campione da 7 mm di PETG, a differenza di quanto evidenziato in Figura 4.6d per cui la trama di stampa era visibile in tutte e quattro le ROI. Tale considerazione testimonia come anche in questo caso la trasformata SNV abbia contribuito all'eliminazione degli effetti fisici sulla radiazione.

Per quanto riguarda i cilindri da 5 cm rappresentati nella score *image* di Figura 4.11d, l'informazione fisica attribuita alla geometria di stampa non è risultata presente del tutto. Inoltre, i primi due campioni hanno mostrato una variazione di colore all'aumentare dell'altezza dello strato superiore di PETG, con la prima ROI di un colore tra il verde acqua e il rosso intenso, la seconda tra il verde acqua e il celeste, e le ROI dalla terza in poi di un blu cobalto uniforme: un risultato notevole se si considerano gli spessori di PETG pari a 5 mm e 11 mm.

Quindi, anche per i cilindri da 5 cm la trasformata SNV ha permesso di eliminare il rumore sistematico legato alle geometrie di riempimento, che non risultano più visibili nella score *image*, a differenza di quanto evidenziato in Figura 4.7d.

Campioni 3 cm, PETG sopra, SNV/centraggio sulla media

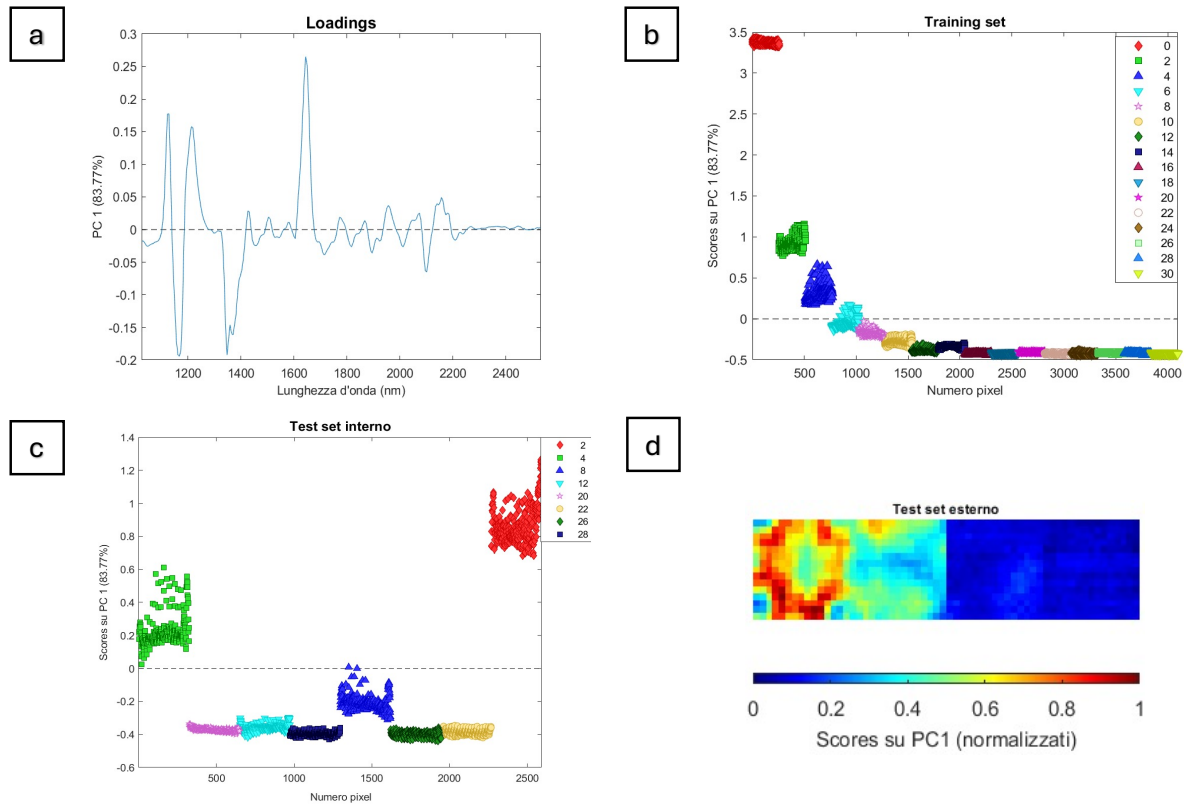


Figura 4.10 - Risultati dell'analisi PCA per i campioni da 3 cm (PETG sopra) pretrattati con SNV e centraggio sulla media: (a) Grafico dei loading della PC1, (b) Grafico degli score del training set, (c) Grafico degli score del test set interno e (d) Score *image* del test set esterno.

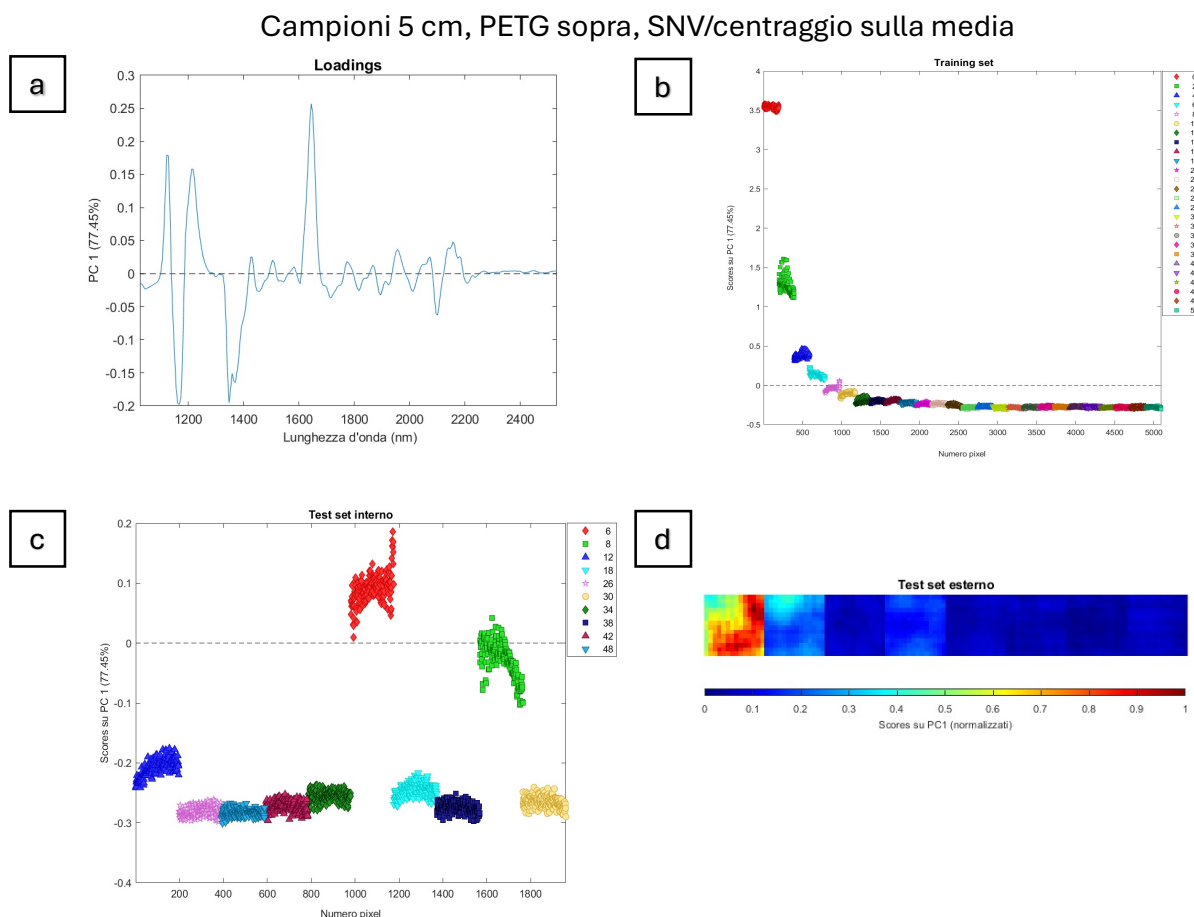


Figura 4.11 - Risultati dell'analisi PCA per i campioni da 5 cm (PETG sopra) pretrattati con SNV e centraggio sulla media: (a) Grafico dei loading della PC1, (b) Grafico degli score del training set, (c) Grafico degli score del test set interno e (d) Score *image* del test set esterno.

Infine, l'applicazione della trasformata SNV è stata estesa anche ai campioni da 3 cm e 5 cm con il PLA sopra. Per quanto riguarda i relativi grafici dei loading (Figure 4.12a e 4.13a), è stato confermato un andamento del tutto analogo a quanto riscontrato nel caso di PETG sopra: l'informazione chimica è stata convogliata sulla PC1, guidata dalle medesime variabili spettrali già identificate. Questa sistematica coerenza, riscontrata non solo al variare dell'orientazione dei polimeri, ma anche al variare del pretrattamento (Figure 4.9a e 4.10a), dimostra che il modello sta estraendo nuovamente l'informazione chimica intrinseca del sistema e testimonia l'ottima robustezza dell'approccio proposto, capace di fornire una descrizione univoca ed affidabile del fenomeno.

Coerentemente con tali risultati, i grafici degli score dei training set da 3 cm e 5 cm (Figure 4.1b e 4.13b) hanno mostrato una distribuzione degli score su PC1 dei primi campioni in funzione dello spessore crescente di PLA. In particolare, per entrambi i set è stata osservata una correlazione sistematica lungo la PC1 fino a un valore di circa 16 mm di polimero.

Inoltre, anche nelle proiezioni dei test set interni (Figure 4.12C e 4.13C) è emersa una distribuzione dei campioni conforme a quanto visto nei corrispettivi training set. In particolare, è stata osservata per i regoli da 3 cm una distribuzione progressiva e crescente degli score su PC1 fino al quarto campione (azzurro) con 10 mm di PLA, mentre per quelli da 5 cm fino a 16 mm di PLA. Quindi, dal confronto dei training set e dei test set interni con PETG sopra, emerge il fatto che la radiazione penetra di più nel PLA piuttosto che in PETG; infatti, per quest'ultimo (Figure 4.10a-c e 4.11a-c) è stata osservata una caratterizzazione fino a 6 mm, a fronte dei 16 mm di PLA. Questo conferma quanto già precedentemente suggerito sia nell'interpretazione degli spettri pretrattati, sia nell'interpretazione delle PCA con centraggio sulla media.

Infine, per quanto ha riguardato i cilindri da 3 cm (Figura 4.12d) non è stata riscontrata l'influenza della trama di stampa su alcuno dei campioni. Al contrario, i valori di PC1 assunti sono risultati progressivi e crescenti, come chiaramente evidenziato dal graduale cambiamento di colore dal blu al rosso. Infatti, in questo caso è evidente una differenza colorimetrica anche tra l'ultimo campione (23 mm), rosso scuro, e il penultimo (17 mm), arancione, dimostrando un'elevata capacità di penetrazione della luce in questo materiale.

Analogamente, anche per il test set esterno da 5 cm non è emersa l'informazione fisica associata ai riempimenti. In questo caso, i valori di PC1 visualizzati nella *score image* (Figura 4.13d) hanno mostrato un colore caratteristico per i primi tre/quattro cilindri (17 mm e 23 mm); oltre tale soglia, invece, tutti i campioni sono risultati del medesimo colore, e quindi con valori simili di PC1. È interessante notare che gli ultimi due provini tra cui si apprezza una differenza di colore hanno la stessa altezza per i campioni da 3 cm e 5 cm. Questo risultato suggerisce grande concordanza tra i due modelli, indicando che l'altezza totale del campione non influenza la penetrazione, che invece è direttamente correlata allo spessore dello strato superficiale da penetrare.

Campioni 3 cm, PLA sopra, SNV/centraggio sulla media

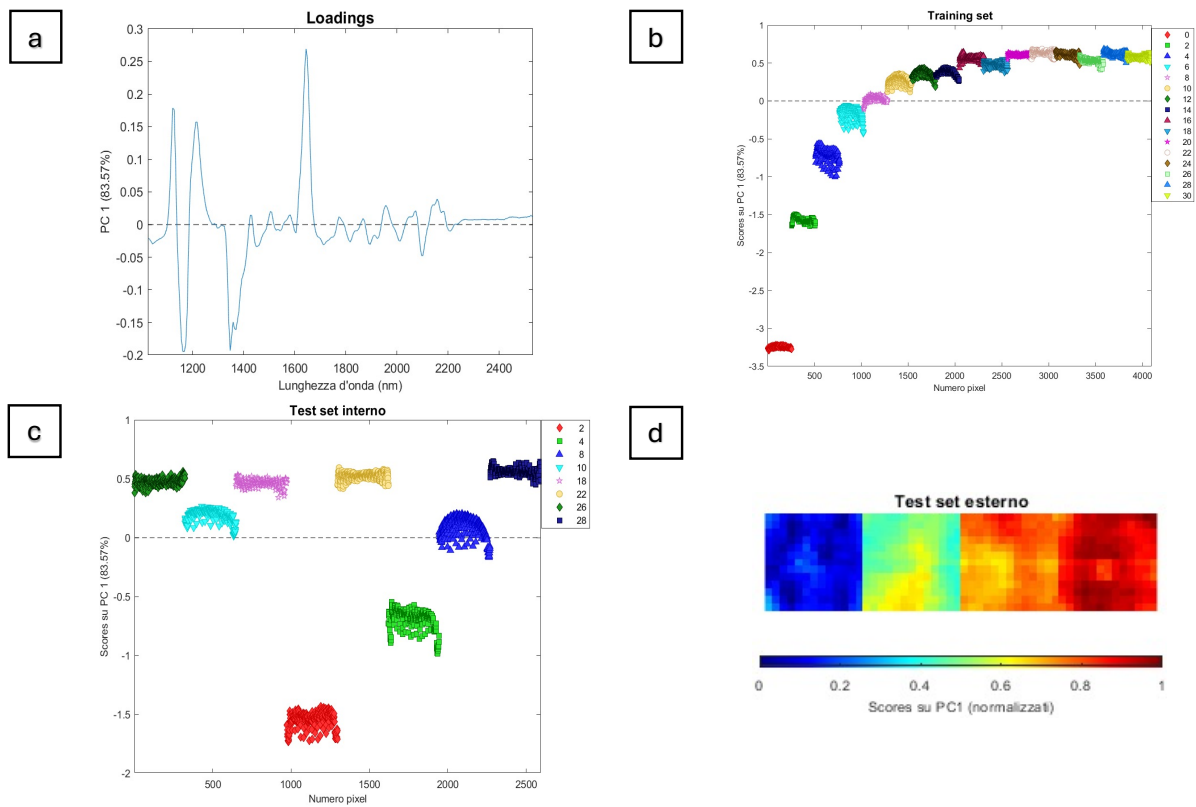


Figura 4.12 - Risultati dell'analisi PCA per i campioni da 3 cm (PLA sopra) pretrattati con SNV e centraggio sulla media: (a) Grafico dei loading della PC1, (b) Grafico degli score del training set, (c) Grafico degli score del test set interno e (d) Score image del test set esterno.

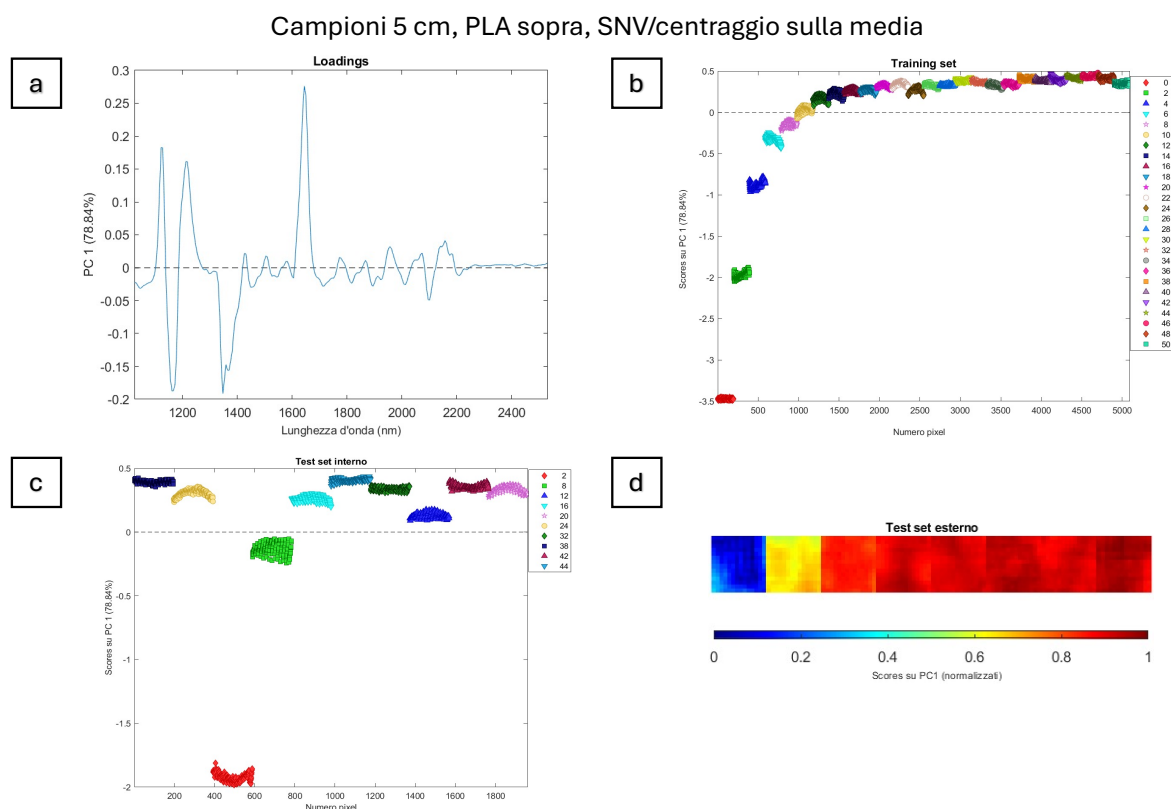


Figura 4.13 - Risultati dell'analisi PCA per i campioni da 5 cm (PLA sopra) pretrattati con SNV e centraggio sulla media: (a) Grafico dei loading della PC1, (b) Grafico degli score del training set, (c) Grafico degli score del test set interno e (d) Score image del test set esterno.

Un aspetto di particolare rilievo emerso dal confronto tra i diversi set sperimentali è stata la maggiore capacità penetrativa della radiazione riscontrata nei cilindri rispetto a quanto valutato nei regoli. In mancanza di altre fonti di variabilità, tale discrepanza è risultata riconducibile alla differente strategia di deposizione dei materiali adottata durante la stampa 3D per le due geometrie, come già approfondito nel paragrafo 3.2.

Infatti, mentre per i regoli è stata utilizzata una trama di riempimento di tipo rettilineo, che prevede la deposizione di linee parallele con una rotazione di 90° tra strati successivi, nei cilindri è avvenuta una sovrapposizione coerente per tutte e quattro le geometrie usate. In dettaglio, per la stampa di questi provini l'ugello della stampante 3D ha percorso la medesima traiettoria su più strati, senza andare a creare una trama intrecciata come invece avviene nei campioni con riempimento rettilineo. È probabile che questa sovrapposizione precisa, in contrapposizione a una struttura a trama, abbia favorito una maggiore profondità di penetrazione della radiazione, che probabilmente nei cilindri riesce a penetrare nel microscopico lume tra due linee successive di polimero.

Oltre alle considerazioni sulla geometria di stampa, il confronto tra i set sperimentali ha messo in luce un ulteriore aspetto di rilievo: i campioni in configurazione PLA sopra hanno generalmente mostrato differenze nei valori di score fino a una maggiore altezza di strato superiore di polimero. Tale evidenza ha suggerito che la radiazione sia in grado di penetrare più efficacemente attraverso il PLA rispetto al PETG, permettendo così di recuperare informazioni chimiche anche da strati più profondi. Questo fenomeno può essere attribuito alla differente attività vibrazionale dei due polimeri nella regione del NIR; infatti, il PETG è caratterizzato da una maggiore presenza di legami ossidrilici (O-H) rispetto al PLA, che strutturalmente ne è privo. Poiché tali legami risultano estremamente attivi al NIR, il PETG tende ad assorbire la radiazione in modo più marcato; di conseguenza, in questo polimero l'energia radiante viene attenuata più rapidamente già nei primi strati, riducendo la quantità di luce che può penetrare in profondità e tornare al rilevatore. Al contrario, il minor assorbimento intrinseco del PLA consente alla radiazione di attraversare spessori maggiori, permettendo al modello di mappare una variazione quantitativa maggiore di polimero.

Questo comportamento, unito alla sovrapposizione speculare delle trame nei cilindri, ha contribuito a estendere l'intervallo entro cui la PCA è in grado di rilevare differenze tra i campioni. Grazie alla maggior penetrazione della radiazione, il modello riesce infatti a cogliere e a descrivere variabilità spettrali legate a strati più profondi che sarebbero risultati inaccessibili all'indagine in condizioni di forte assorbimento intrinseco o in presenza di configurazioni geometriche meno favorevoli alla trasmissione del segnale.

Dunque, in conclusione, l'analisi finora condotta ha dimostrato come la scelta delle tecniche di pretrattamento sia stata determinante per la corretta interpretazione dei dati spettrali. Inizialmente, l'applicazione del solo centraggio sulla media è risultata insufficiente a isolare l'informazione chimica, che, sebbene presente, appariva confinata sulla PC2 e in alcuni casi dominata da variabili fisiche interferenti, quali lo *scattering* luminoso e le diverse trame di stampa dei campioni.

L'integrazione della trasformata SNV ha rappresentato un punto di svolta dell'analisi, permettendo di minimizzare tali interferenze e di convogliare l'informazione legata alla variazione quantitativa dei polimeri sulla PC1.

4.2.3. Dati pretrattati con autoscalatura

Successivamente, i dati sono stati pretrattati con autoscalatura, al fine di valutare se una diversa pesatura delle variabili potesse migliorare la capacità del modello di descrivere la variabilità

del sistema e la sua robustezza. Il modello PCA è stato quindi nuovamente calcolato usando questo pretrattamento.

Anche in questo caso, verranno presentati prima i dati nella configurazione PETG sopra, sia per i campioni di altezza 3 cm sia per quelli di altezza 5 cm. Anche in questo caso, dopo aver valutato i risultati sulle prime quattro componenti, si è deciso di presentare i dati riguardanti la PC1.

Dall'analisi iniziale dei grafici dei loading di PC1 (Figure 4.14a e 4.15a) per i training set da 3 cm e 5 cm con PETG sopra è emerso un profilo significativamente differente rispetto a quanto osservato nei modelli precedenti. In particolare, ad eccezione della variabile a 1650 nm che è correlata negativamente, si nota come le variabili siano quasi interamente caratterizzate da valori di loading positivi. Questa distribuzione generalmente suggerisce che non si sta isolando dell'informazione chimica, bensì un effetto di intensità globale, che può essere legato a variazioni fisiche comuni a praticamente tutte le lunghezze d'onda.

Questa osservazione è stata confermata dai corrispettivi grafici degli score: nella Figura 4.14b relativa ai regoli da 3 cm, solo il campione di PETG puro ha mostrato un'effettiva differenza lungo la PC1, assumendo valori fortemente negativi. Al contrario, tutti gli altri provini hanno presentato distribuzioni tali da non permettere di rilevare alcuna correlazione significativa tra gli score su questa componente e l'altezza dello strato. Anche nel caso dei training set da 5 cm non è stata rilevata alcuna correlazione lungo la PC1, evidenziando l'assenza di informazioni di natura chimica (Figura 4.15b). Inoltre, sebbene si possa osservare la presenza di raggruppamenti di campioni, questi non sembrano riconducibili alla disposizione dei provini sul carrello, come osservato invece per la Figura 4.7c, né ad altre fonti note di variabilità; infatti, se tali gruppi avessero un comportamento legato alla geometria di illuminazione, i campioni al loro interno dovrebbero mantenere sempre una forma di progressione coerente, assumendo sempre un andamento lungo PC1 crescente o decrescente. Quindi, l'assenza di tale linearità all'interno dei singoli raggruppamenti conferma la presenza di una distribuzione casuale, e la mancanza di correlazione anche con l'informazione di natura fisica.

Per quanto riguarda le proiezioni dei test set interni, è possibile affermare che nella Figura 4.14c, relativa ai regoli da 3 cm, non è emersa alcuna correlazione lungo la PC1; tutti i provini hanno infatti assunto valori prossimi allo zero. Tale comportamento è coerente con quanto trattato già per il grafico degli score del training set in Figura 4.14b.

Al contrario, per il test set interno da 5 cm (Figura 4.15c), è stata riscontrata una tendenza dei campioni lungo la PC1 a presentare un ordine crescente degli score in raggruppamenti da due o tre unità. Questo effetto, già osservato e descritto per i medesimi campioni pretrattati con

centraggio sulla media (Figura 4.7c), è attribuibile allo *scattering* luminoso dovuto alla disposizione a triplette o a coppie dei campioni sul carrello durante l'acquisizione. Tale evidenza indica che lungo questa componente, sebbene non sia presente dell'informazione chimica legata allo spessore del polimero, emerge almeno in parte dell'informazione legata a effetti fisici.

A conferma di ciò, per i test set esterni sia da 3 cm sia da 5 cm è stata riscontrata la presenza di rumore, il quale ha prevalso sull'informazione chimica. Tale fenomeno è risultato chiaramente visibile dall'ispezione delle score *image* (Figure 4.14d e 4.15d), nelle quali la distribuzione dei pixel ha permesso di riconoscere le trame di stampa per tutti i campioni. In particolare, per i cilindri da 3 cm la trama a spirale ad ottagramma è visibile sia nella prima ROI sia, sebbene meno chiaramente, nella quarta, mentre la seconda e la terza ROI sono caratterizzate da un motivo a “clessidra” tipico della geometria a corde di Archimede.

Per quanto riguarda i cilindri da 5 cm (Figura 4.15d) la score *image* ha mostrato nuovamente le geometrie di stampa sfruttati; ad esempio, la seconda, quarta, quinta e settima ROI hanno presentato un profilo a “clessidra” che è indicativo delle trame concentrica (seconda e settima ROI) e corde di Archimede (quarta e quinta ROI). Il comportamento analogo tra queste due trame si era manifestato anche in Figura 4.7d per i cilindri da 5 cm pretrattati con centraggio sulla media, confermando il fatto che queste due geometrie generano fenomeni di *scattering*, riflessione e rifrazione simili. Nella terza ROI è rilevabile una geometria indicativa della trama a spirale ad ottagramma, mentre tale comportamento non è visibile nella sesta ROI; questo aspetto può essere dovuto alla presenza di rumore sistematico generato dallo *scattering* della luce, che allontana l'informazione utile. Infine, nell'ultima ROI è possibile individuare la trama a “scacchi”, indicativa della curva di Hilbert che caratterizza questo campione. Questa caratteristica è meno evidente, invece, nel primo campione, nonostante presenti lo stesso riempimento, a indicazione del fatto che in questo caso ha prevalso nuovamente l'effetto delle ombre nelle proiezioni su PC1.

Campioni 3 cm, PETG sopra, autoscalatura

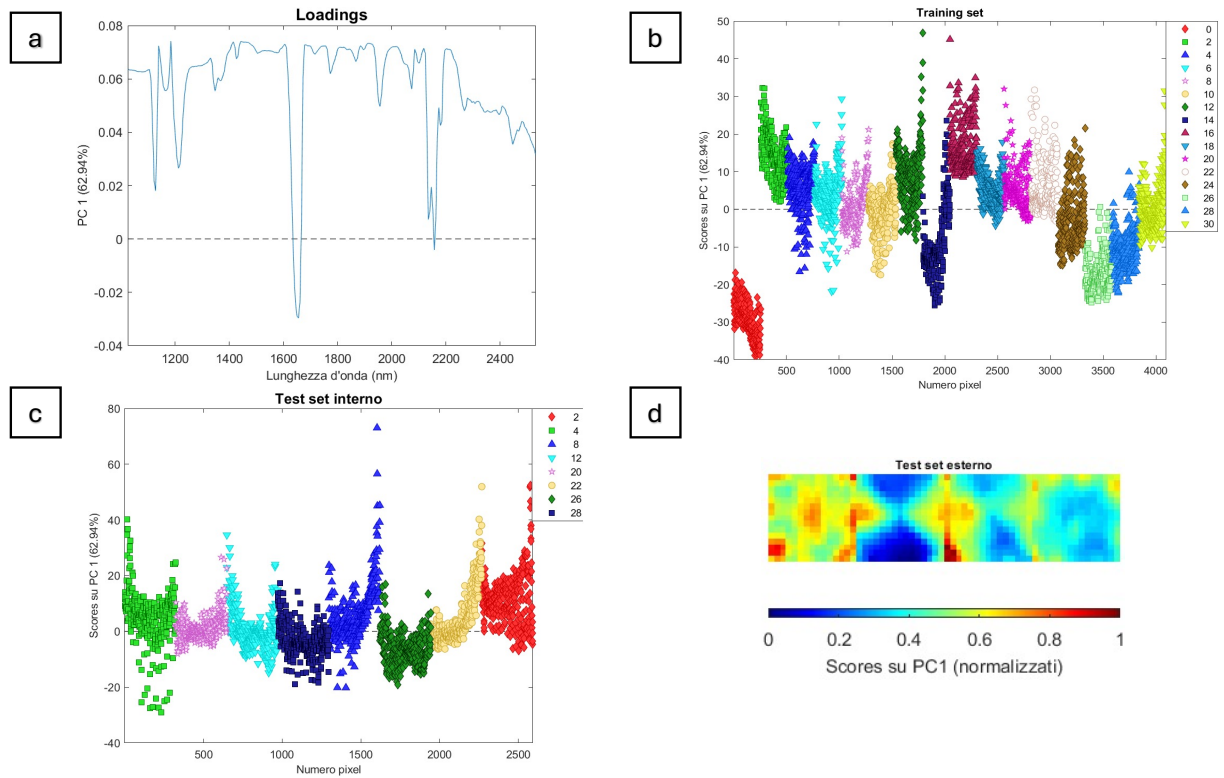


Figura 4.14 - Risultati dell'analisi PCA per i campioni da 3 cm (PETG sopra) pretrattati con autoscalatura: (a) Grafico dei loading della PC1, (b) Grafico degli score del training set, (c) Grafico degli score del test set interno e (d) Score image del test set esterno.

Campioni 5 cm, PETG sopra, autoscalatura

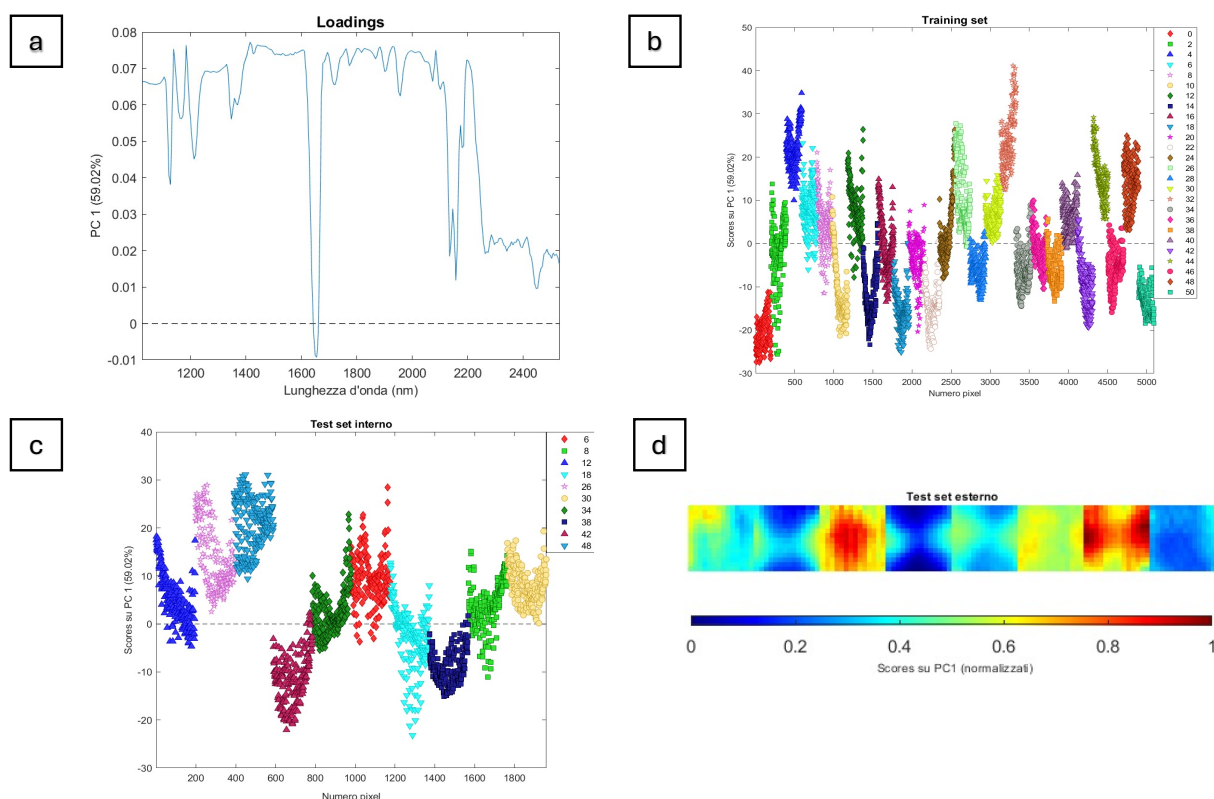


Figura 4.15 - Risultati dell'analisi PCA per i campioni da 5 cm (PETG sopra) pretrattati con autoscalatura: (a) Grafico dei loading della PC1, (b) Grafico degli score del training set, (c) Grafico degli score del test set interno e (d) Score image del test set esterno.

Successivamente, l'applicazione dell'autoscalatura è stata estesa anche ai training set e ai test set interno ed esterno dei campioni alti 3 cm e 5 cm con il PLA sopra e i relativi risultati sono riportati nelle Figure 4.16 e 4.17.

Quindi, come appena discusso per i campioni con il PETG sopra, sono state fatte alcune considerazioni prima per i grafici dei loading dei training set da 3 cm e da 5 cm (Figure 4.16a e 4.17a). In particolare, a eccezione della variabile a 1650 nm che è correlata negativamente, si nota come le variabili siano quasi interamente caratterizzate da valori di loading positivi. Questa distribuzione generalmente suggerisce la presenza anche in questo caso di un effetto di intensità globale, legato a variazione fisiche macroscopiche comuni a tutte le lunghezze d'onda, ribadendo, anche per la configurazione PLA sopra, come l'autoscalatura mascheri l'informazione chimica a favore dello *scattering* luminoso o di altri effetti fisici, quali, ad esempio, la natura della superficie esterna del campione.

Inoltre, un elemento di fondamentale importanza emerge dal confronto diretto tra i modelli autoscalati delle due diverse configurazioni. A differenza di quanto riscontrato con il solo centraggio sulla media o con la sua combinazione con SNV, in cui i profili dei loading

rimanevano pressoché identici, l'applicazione dell'autoscalatura mostra invece alcune discrepanze tra i valori dei campioni con PETG sopra e quelli con PLA sopra. Tale comportamento determina come, in questo caso, la PCA risenta anche dell'orientazione dei campioni e quindi anche dei fenomeni fisici che avvengono a livello superficiale.

A conferma di ciò, per i regoli da 3 cm (Figura 4.16b), il grafico degli score ha mostrato una distribuzione dei campioni suddivisa in due blocchi distinti: la prima metà ha assunto valori positivi di PC1, mentre la seconda ha presentato valori negativi. Tale fenomeno è risultato riconducibile alla differente grana delle due basi di ciascun regolo; una è infatti caratterizzata da una superficie liscia e l'altra da una ruvida, dovuta all'ordine di stampa degli strati. Il valore della PC1 è dipeso, dunque, da quale delle due facce ha interagito direttamente con la radiazione: nello specifico, la superficie liscia ha determinato valori positivi, mentre quella ruvida ha generato valori negativi. La base liscia è corrispondente al primo strato depositato dalla stampante 3D a diretto contatto con il piano di stampa, mentre quella ruvida è indicativa dell'ultimo strato estruso. Come trattato nel paragrafo 3.2, essendo stati i provini progettati affinché il polimero in minor quantità venisse sempre stampato per primo, i campioni con una quantità ridotta di PLA, cioè la prima metà, hanno esposto alla radiazione la superficie liscia. Al contrario, i campioni caratterizzati da una prevalenza di PLA, ovvero la seconda metà in Figura 4.16b, hanno mostrato invece la base con la superficie ruvida, determinando quindi valori negativi di PC1.

Per il grafico degli score del training set da 5 cm (Figura 4.17b), invece, è stata riscontrata una distribuzione del tutto casuale dei campioni, attribuibile alla predominanza del rumore su PC1. Tale effetto è dovuto all'altezza maggiore di questi campioni, che impedisce alle loro superfici di trovarsi all'interno della zona di fuoco dell'obiettivo, posto invece sul fondo del carrello. Di conseguenza, i dettagli morfologici legati alla rugosità superficiale, trovandosi fuori fuoco, si disperdono, determinando una predominanza del rumore stocastico sulla PC1.

Inoltre, anche per le proiezioni dei test set interni da 3 cm e 5 cm acquisiti con il PLA sopra (Figure 4.16c e 4.17c) non sono stati osservati lungo PC1 andamenti riconducibili alla natura chimica dei campioni, né ad eventuali effetti fisici.

Infine, nelle Figure 4.16d e 4.17d relative ai test set esterni da 3 cm e 5 cm, la ricostruzione dell'immagine mediante i valori di PC1 ha mostrato visivamente la caratterizzazione delle diverse geometrie di stampa. Nello specifico, è risultata nuovamente distinguibile la trama a "clessidra" tipica della geometria a corde di Archimede nella ROI centrale di entrambi i set; inoltre per i cilindri da 5 cm (Figura 4.17d) è stato possibile identificare anche la geometria concentrica in corrispondenza della seconda e della penultima ROI indicando, in analogia con

quanto già discusso per la Figura 4.15d. Inoltre, la trama a spirale ad ottagramma risulta invece parzialmente identificabile sia nella prima e quarta ROI dei cilindri da 3 cm che nella terza e sesta ROI per quelli alti 5 cm. Infine, per la prima ROI in Figura 4.17d è visibile la trama a “scacchi”, che identifica il riempimento a curva di Hilbert, mentre nell’ultima ROI tale geometria è meno visibile, indicando che in questo caso gli effetti delle ombre e di *scattering* hanno oscurato la reale geometria del riempimento.

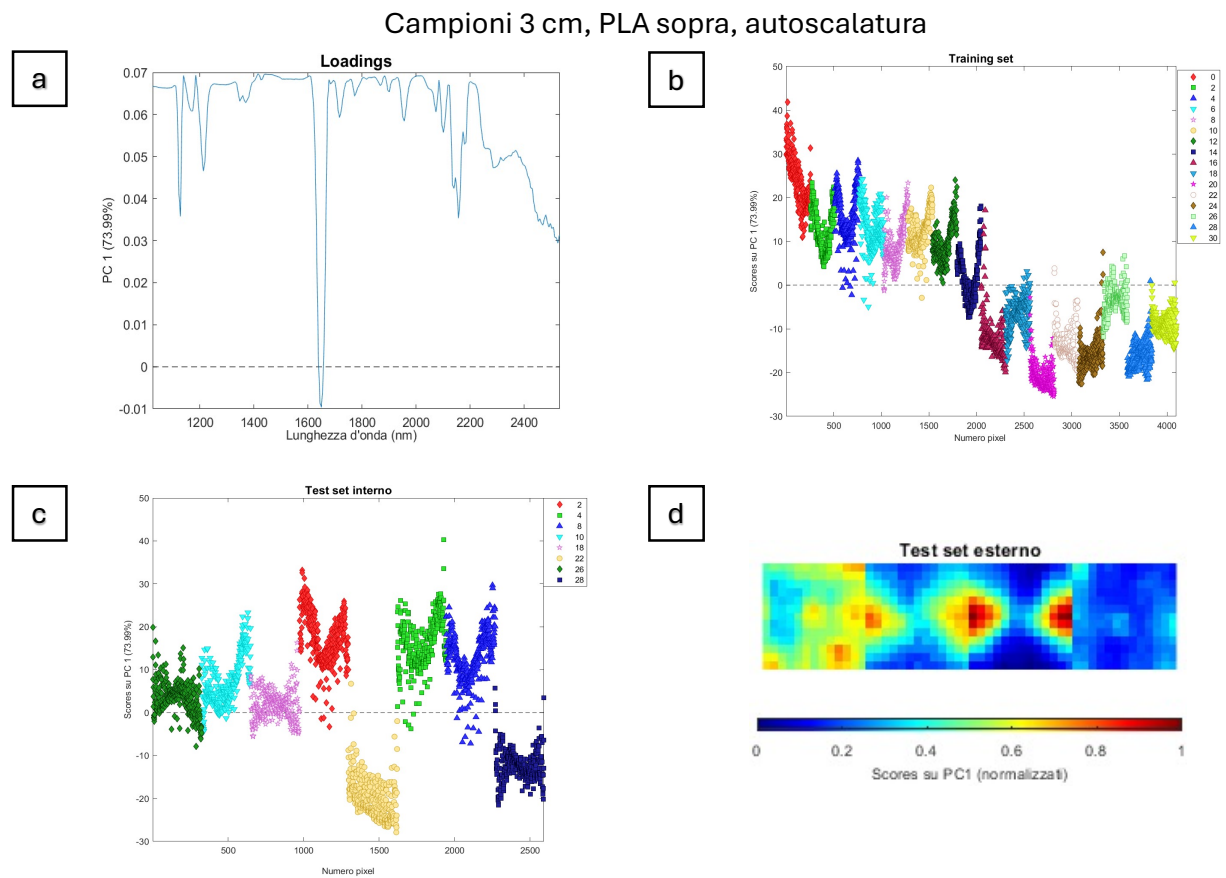


Figura 4.16 - Risultati dell’analisi PCA per i campioni da 3 cm (PLA sopra) pretrattati con autoscalatura: (a) Grafico dei loading della PC1, (b) Grafico degli score del training set, (c) Grafico degli score del test set interno e (d) Score image del test set esterno.

Campioni 5 cm, PLA sopra, autoscalatura

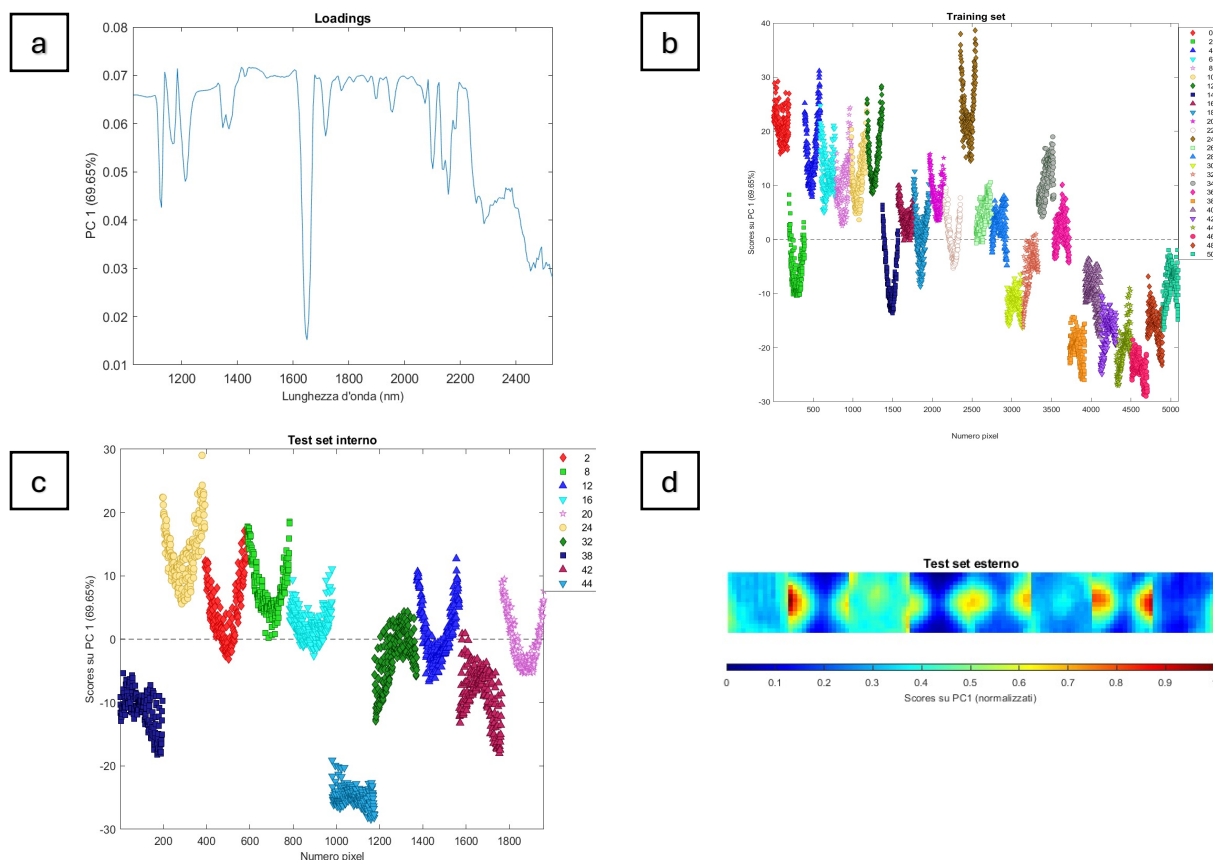


Figura 4.17 - Risultati dell'analisi PCA per i campioni da 5 cm (PLA sopra) pretrattati con autoscalatura: (a) Grafico dei loading della PC1, (b) Grafico degli score del training set, (c) Grafico degli score del test set interno e (d) Score image del test set esterno.

In sintesi, l'applicazione della sola autoscalatura non ha permesso di ottenere una caratterizzazione chimica soddisfacente, poiché tale approccio ha esaltato prevalentemente le variabili fisiche e morfologiche dei campioni. Questo fenomeno è emerso chiaramente nel test set interno da 5 cm con PETG sopra, dove è stata identificata la presenza di *scattering* luminoso dovuto alla disposizione dei provini sul carrello, mentre per i campioni da 3 cm con PLA sopra la PC1 ha descritto unicamente la trama superficiale delle facce. In tutti i test set esterni, inoltre, l'informazione è risultata totalmente dominata dalle diverse trame di riempimento usate (Tabella 3.3 e 3.4).

I risultati hanno confermato, in questo specifico caso studio, come la standardizzazione della varianza, in assenza di una correzione degli effetti moltiplicativi, abbia privilegiato il rumore sistematico di natura fisica rispetto al segnale chimico di interesse. Di conseguenza, al fine di

normalizzare il segnale e tentare di isolare l'informazione chimica, successivamente sui dati è stata applicata la trasformata SNV prima dell'autoscalatura.

4.2.4. Dati pretrattati con SNV e autoscalatura

Successivamente, i dati sono stati pretrattati con la combinazione della trasformata SNV e dell'autoscalatura prima del calcolo del modello PCA. Anche in questo scenario, verranno presentati prima i dati nella configurazione PETG sopra e successivamente PLA sopra, sia per i campioni di altezza 3 cm che per quelli da 5 cm.

Dopo aver valutato i risultati sulle prime quattro componenti principali, si è deciso di presentare esclusivamente i dati riguardanti la PC1. Partendo dall'esame dei grafici dei loading relativi ai training set da 3 cm e 5 cm (Figure 4.18a e 4.19a), è emerso un profilo spettrale caratterizzato da diverse bande con un andamento atipico rispetto a quanto osservato finora. In particolare, la distribuzione di tali bande appare di natura stocastica rispetto alle zone spettrali identificate come diagnostiche in precedenza (Figura 4.1). Ciò suggerisce che l'applicazione congiunta di SNV e autoscalatura, in questa specifica configurazione, abbia amplificato il rumore sistematico anziché isolare il segnale chimico.

Per quanto riguarda i rispettivi grafici degli score dei regoli da 3 cm e 5 cm per il training set nelle Figure 4.18b e 4.19b, è stata osservata una netta separazione dei campioni in due blocchi distinti lungo la PC1: la prima metà della serie ha assunto valori positivi, mentre la seconda metà valori negativi. Tale distribuzione è riconducibile alla differente micro-geometria delle basi, come già riscontrato nei regoli da 3 cm pretrattati con l'autoscalatura in Figura 4.17b. Quindi, mentre con la sola autoscalatura questa natura morfologica superficiale si manifestava esclusivamente nei campioni da 3 cm, l'azione congiunta della trasformata SNV ha sottolineato ulteriormente tale proprietà, rendendola la fonte principale di variazione per entrambe le altezze. Dunque, la PC1 ha continuato a caratterizzare esclusivamente la grana della superficie, liscia o ruvida, esaltando quindi il rumore sistematico dovuto alla superficie dei regoli a scapito dell'informazione analitica.

Diversamente, le proiezioni dei test set interni (Figure 4.18c e 4.19c) hanno mostrato un comportamento differente tra le due altezze analizzate. Nella Figura 4.18c, relativa ai campioni da 3 cm, la proiezione non mostra alcuna distribuzione significativa lungo la PC1. Questa assenza di andamenti specifici ha indicato una carenza di informazione rilevante, sia di natura chimica che fisica, con una netta predominanza del rumore di fondo. Al contrario, nel test set interno da 5 cm (Figura 4.19c) è osservabile il medesimo comportamento riscontrato nel training set; infatti, i campioni caratterizzati da una quantità minoritaria di PETG (pari a 6 mm

in rosso, 8 mm in verde, 12 mm in azzurro, 18 mm in blu) presentano valori positivi di PC1. Al contrario, i restanti provini con quantità superiore a 25 mm di PETG si posizionano su valori negativi.

Infine, è stata anche registrata una perdita dell'informazione fisica legata all'architettura geometrica interna dei cilindri. Nelle score *image* del test set esterno da 3 cm (Figura 4.18d), la proiezione sulla PC1 ha evidenziato la geometria di riempimento a Corde di Archimede solo nella seconda ROI e quello a spirale a ottagramma nella prima e nella quarta ROI. Nei cilindri da 5 cm (Figura 4.19d) è risultata distinguibile solo la geometria della terza e della quarta ROI. In questo caso, l'informazione geometrica è oscurata quasi totalmente, non permettendo di identificare nemmeno la trama della campione con la minor quantità di PETG, dettaglio che era invece percepibile utilizzando il solo trattamento di autoscalatura (Figura 4.14d).

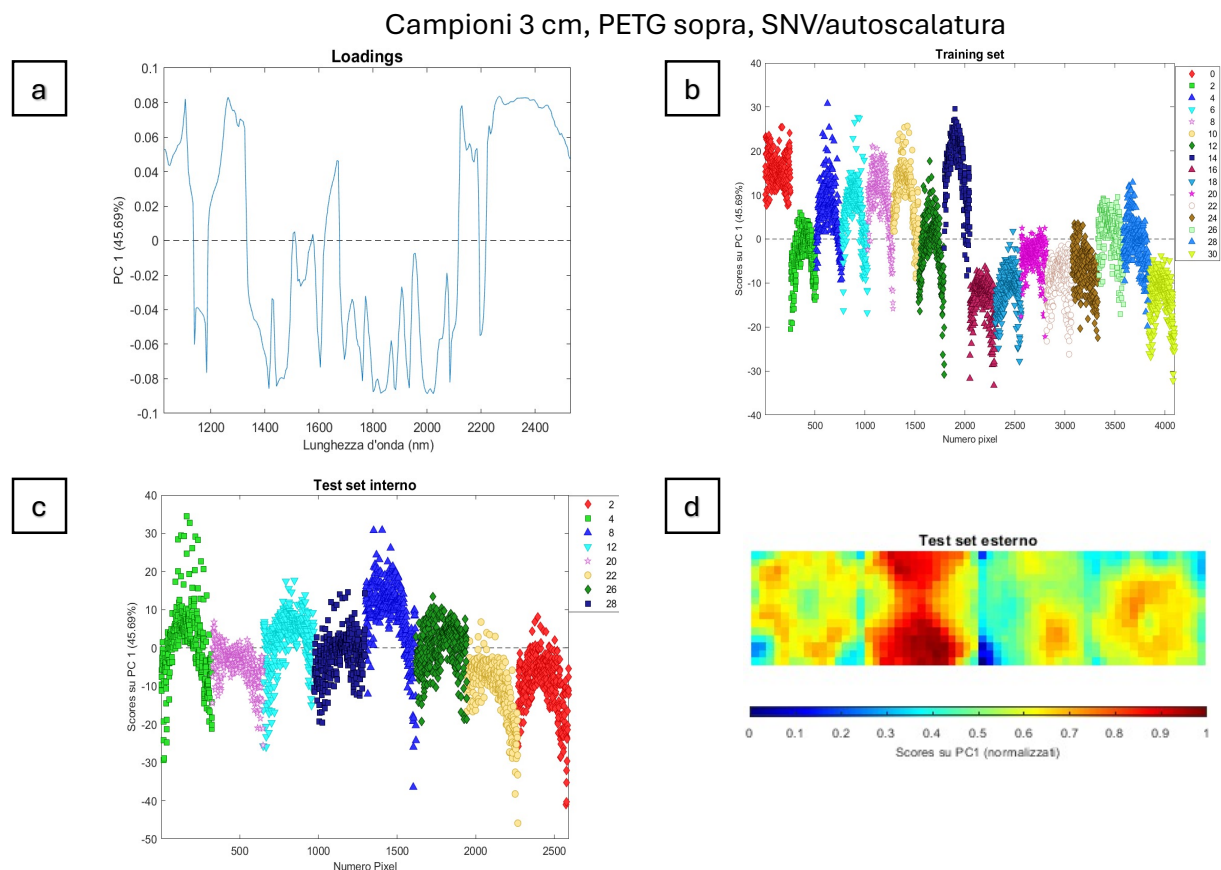


Figura 4.18 - Risultati dell'analisi PCA per i campioni da 3 cm (PETG sopra) pretrattati con SNV e autoscalatura: (a) Grafico dei loading della PC1, (b) Grafico degli score del training set, (c) Grafico degli score del test set interno e (d) Score image del test set esterno.

Campioni 5 cm, PETG sopra, SNV/autoscalatura

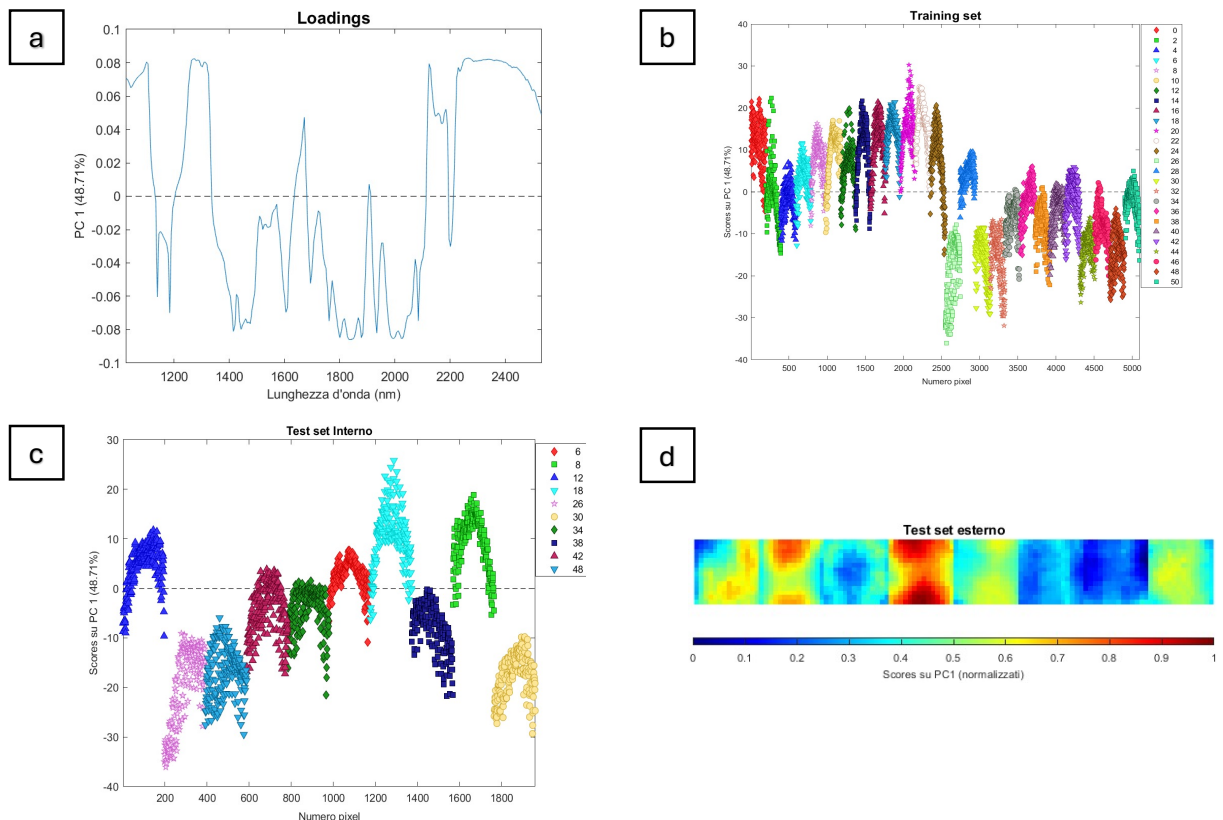


Figura 4.19 - Risultati dell'analisi PCA per i campioni da 5 cm (PETG sopra) pretrattati con SNV e autoscalatura: (a) Grafico dei loading della PC1, (b) Grafico degli score del training set, (c) Grafico degli score del test set interno e (d) Score image del test set esterno.

Infine, lo stesso pretrattamento è stato esteso anche a training set, test set interno ed esterno dei campioni da 3 cm e da 5 cm con il PLA sopra, e i relativi grafici sono riportati in Figure 4.20 e 4.21.

Anche in questo caso, nelle Figure 4.20a e 4.21a l'esame dei grafici dei loading di PC1 dei training set da 3 cm e 5 cm è stato caratterizzato da un profilo dominato da componenti stocastiche, a conferma del fatto che la combinazione di SNV e autoscalatura tende a enfatizzare il rumore.

Tuttavia, risulta necessario sottolineare che tali profili sono pressoché identici a quelli precedentemente ottenuti per la configurazione con il PETG sopra (Figure 4.18a e 4.19a). Questa riproducibilità dimostra che il segnale identificato nel modello non è di natura esclusivamente casuale, altrimenti si sarebbero sviluppati dei profili dissimili tra i diversi dataset, determinando la presenza di informazione reale e probabilmente di natura sistematica. Per quanto riguarda i grafici degli score dei training set da 3 cm e da 5 cm (Figure 4.20b e 4.21b), non è stata osservata alcuna separazione netta lungo la PC1 basata sulla micro-

geometria delle superfici, a differenza di quanto riscontrato per Figure 4.18b e 4.19b. Quindi, in questo caso, la mancanza di informazioni di natura chimica che fisica rilevanti è già visibile nel set di calibrazione.

In linea con quanto osservato, le proiezioni dei test set interni sia da 3 cm che da 5 cm (Figure 4.20c e 4.21c) non hanno mostrato distribuzioni significative lungo la PC1. Questa assenza di andamenti significativi ha indicato una carenza di informazione rilevante, sia di natura chimica che fisica, sottolineando la predominanza di rumore di fondo. Quindi, se nella configurazione con PETG sopra, il pretrattamento andava in parte a esaltare la rugosità superficiale nei training set, con il PLA sopra, invece, pure questa informazione fisica è stata persa per entrambe le altezze analizzate.

Questo comportamento potrebbe essere dovuto al fatto che il PLA, come già discusso precedentemente, sembrerebbe generare uno *scattering* luminoso maggiore rispetto al PETG, e che quindi in questo caso predomina sul segnale caratteristico della struttura superficiale. Conseguentemente, quando la trasformata SNV interviene per correggere gli effetti sistematici, oltre ad allontanare lo *scattering* degli strati profondi, allontana anche la debole informazione della rugosità superficiale.

Infine, la perdita di informazione rilevante è stata osservata anche nelle score *image* dei test set esterni. Infatti, nei cilindri da 3 cm è stato osservato il motivo a corde di Archimede nelle due ROI centrali, ma la distribuzione dei valori di PC1 non è apparsa chiara come per i dati trattati con solo autoscalatura (Figura 4.16d) o per quelli trattati con centraggio sulla media (Figura 4.8d). Nella Figura 4.21d, la distribuzione dei valori di PC1 per la descrizione dei cilindri da 5 cm si è comportata analogamente a quella presente in Figura 4.19d, relativa al test set esterno di quelli con il PETG sopra; infatti, è stato rivelato esclusivamente il *pattern* di stampa corde di Archimede solo per la quarta ROI.

Campioni 3 cm, PLA sopra, SNV/autoscalatura

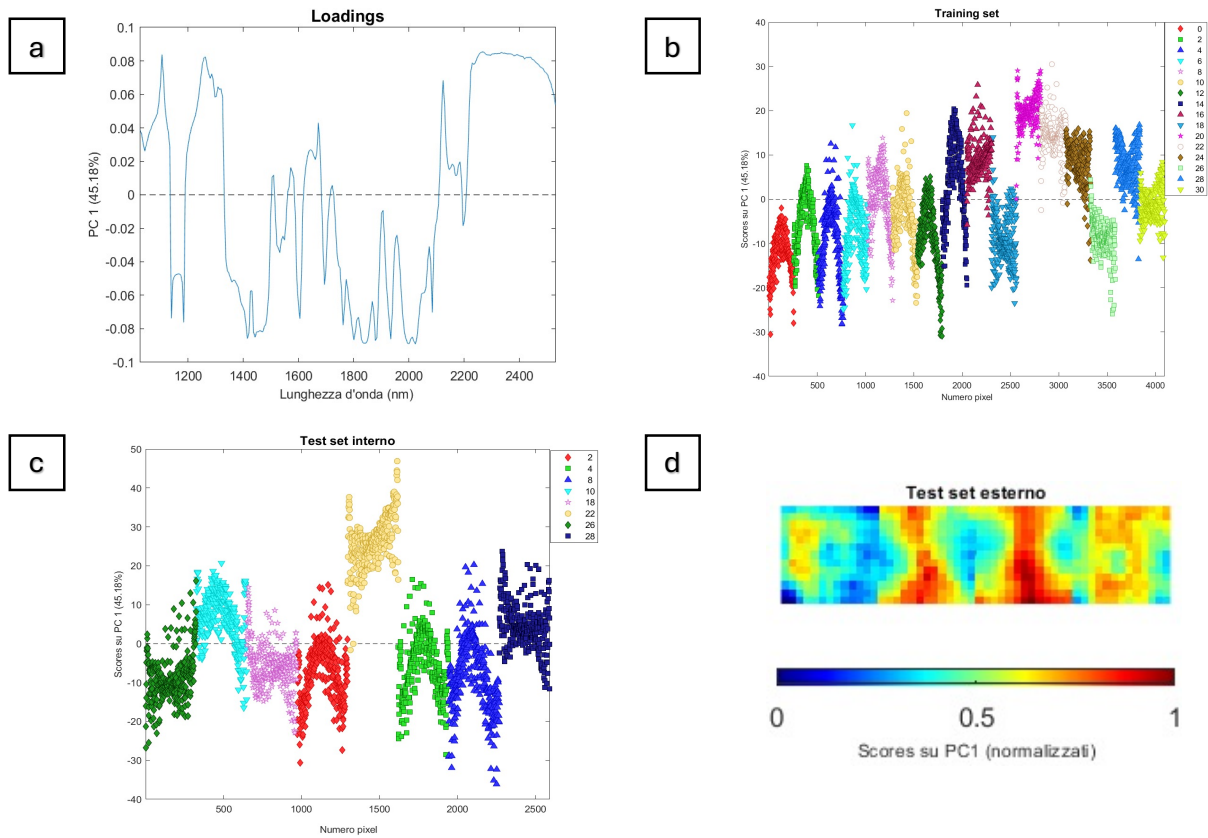


Figura 4.20 - Risultati dell'analisi PCA per i campioni da 3 cm (PLA sopra) pretrattati con SNV e autoscalatura:
 (a) Grafico dei loading della PC1, (b) Grafico degli score del training set, (c) Grafico degli score del test set interno e (d) Score image del test set esterno.

Campioni 5 cm, PLA sopra, SNV/autoscalatura

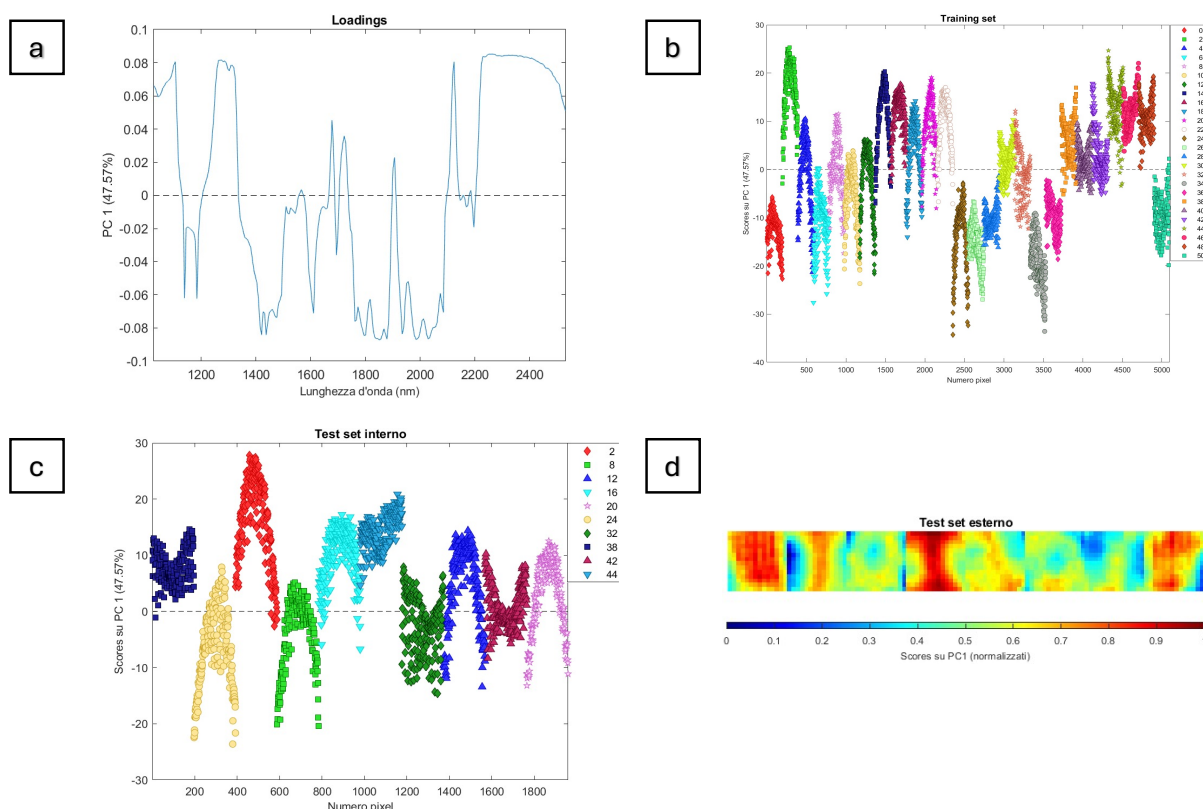


Figura 4.21 - Risultati dell'analisi PCA per i campioni da 5 cm (PLA sopra) pretrattati con SNV e autoscalatura:

(a) Grafico dei loading della PC1, (b) Grafico degli score del training set, (c) Grafico degli score del test set interno e (d) Score image del test set esterno.

In conclusione, l'impiego della trasformata SNV in combinazione con l'autoscalatura, sebbene finalizzato alla rimozione degli effetti moltiplicativi e dello *scattering*, ha prodotto un decremento del rapporto segnale-rumore (SNR), introducendo così un'amplificazione del rumore stocastico e compromettendo la risoluzione delle informazioni spettrali sia di natura chimica che fisica. Si potrebbe quindi concludere che l'uso della trasformata SNV ha permesso di mitigare l'effetto delle informazioni di natura fisica, ma le informazioni di natura chimica sono rimaste nascoste, probabilmente a causa della natura stessa dell'autoscalatura che dà lo stesso peso statistico a variabili con segnale molto intenso e al rumore di fondo.

L'analisi ha evidenziato una drastica diminuzione del potere esplorativo della PCA, riscontrabile nell'assenza di tendenze significative all'interno dei training set e dei test set interni. Inoltre, è stata osservata una perdita dell'informazione morfologica: le trame di riempimento, alcune precedentemente risolte tramite la sola autoscalatura, sono risultate oscurate, confermando come l'eccessiva standardizzazione della varianza su dati già

normalizzati via SNV abbia indotto in questo caso studio artefatti tali da oscurare i segnali analitici d'interesse.

5. CONCLUSIONI

In conclusione, il presente lavoro di tesi ha aiutato a colmare una lacuna nella letteratura scientifica attuale, dimostrando che la tecnologia NIR-HSI non è limitata alla sola analisi superficiale, ma costituisce un potente strumento per l'indagine degli strati profondi della materia. Attraverso lo studio dei 54 campioni stratificati con PLA e PETG, è stato possibile sviluppare un metodo analitico capace di fornire nuove informazioni sulla penetrazione della radiazione infrarossa nella materia, intraprendendo un primo passo verso il superamento delle ambiguità interpretative tipiche delle strutture multicomponente.

Il successo della strategia proposta risiede nella sinergia tra l'efficacia della PCA e l'applicazione mirata di pretrattamenti chemiometrici. Inizialmente, l'applicazione del solo centraggio sulla media ha mostrato i limiti della tecnica, rimanendo troppo influenzato dallo *scattering* e dalle trame di riempimento della stampa 3D, quindi, per descrivere opportunamente il segnale chimico è stata introdotta la trasformata SNV. Infatti, la combinazione di tali pretrattamenti ha permesso di ripulire il segnale dal rumore sistematico e di spostare l'informazione chimica su PC1, aumentando la robustezza del modello.

Al contrario, l'applicazione della sola autoscalatura, introducendo una standardizzazione delle variabili, ha esaltato il rumore sistematico, dovuto allo *scattering* luminoso e alle diverse geometrie di stampa presenti nei cilindri, oltre che alle differenze tra le superfici esterne dei campioni. Infine, la combinazione di tale pretrattamento con SNV ha contribuito alla perdita di informazione sia chimica che fisica, incrementando il rumore di fondo e lo sviluppo di artefatti spettrali.

Dunque, i risultati più significativi sono emersi dall'analisi dei dati pretrattati con SNV e centraggio sulla media, che ha rilevato una penetrazione di circa 1 cm per entrambi i polimeri, mostrando allo stesso tempo una penetrazione maggiore nel PLA rispetto al PETG per le differenze nella natura dei legami chimici che compongono questi due polimeri. Tuttavia, la ricerca ha evidenziato come la penetrazione della radiazione NIR non sia legata esclusivamente alla chimica dei materiali, ma dipenda fortemente anche dall'architettura interna dei campioni. Infatti, è stata riscontrata una maggiore penetrazione nei cilindri rispetto ai regoli dei training set, cosa che ha confermato che la diversa modalità di deposizione dei polimeri, ovvero con sovrapposizione precisa anziché riempimento a trama incrociata, ha permesso di estendere

l'intervallo di altezze su cui è possibile rilevare differenze tra strati ad altezza diversa, rendendo accessibili all'indagine spessori e strati profondi che con un diverso riempimento sarebbero risultati invisibili.

Grazie a questo lavoro di tesi, è stata mostrata l'efficacia della tecnologia NIR-HSI oltre la superficie, aprendo prospettive concrete per il trasferimento di questa tecnologia verso ambiti dove la comprensione della struttura profonda è vitale. Settori quali il forense, i beni culturali e l'industria farmaceutica possono ora beneficiare di un approccio non distruttivo e non invasivo per l'analisi di manufatti stratificati, prove documentali o prodotti complessi, superando i limiti della spettroscopia puntuale grazie alla ricchezza del dato spaziale fornito dall'*imaging*.

BIBLIOGRAFIA

- [1] N. Shahrubudin, T. C. Lee, and R. Ramlan, "An overview on 3D printing technology: Technological, materials, and applications," in *Procedia Manufacturing*, Elsevier B.V., 2019, pp. 1286–1296. doi: 10.1016/j.promfg.2019.06.089.
- [2] Modix Modular Technologies Ltd., "Modix BIG-Meter V4 - Technical Specifications," Modix 3D Official Website.
- [3] ASTM International, *Standard Terminology for Additive Manufacturing Technologies*. 2012.
- [4] Xometry, "Fused Deposition Modeling (FDM) 3D Printing Technology Overview," Xometry Pro.
- [5] S. Abdella *et al.*, "3D Printing of Thermo-Sensitive Drugs," *Pharmaceutics*, vol. 13, no. 9, p. 1524, Sep. 2021, doi: 10.3390/pharmaceutics13091524.
- [6] Prusa Research, "Dove si possono trovare i modelli 3D?," Prusa Knowledge Pro.
- [7] J. Turner, "Bambu Lab's MakerWorld: What Is It?," All3DP.
- [8] Weerg, "Cos'è un file formato STL, lo standard per la stampa 3D e come crearlo," Weerg.com.
- [9] A. Cano-Vicent *et al.*, "Fused deposition modelling: Current status, methodology, applications and future prospects," *Addit. Manuf.*, vol. 47, p. 102378, Nov. 2021, doi: 10.1016/j.addma.2021.102378.
- [10] Adobe, "Cos'è un file STL?," Adobe Creative Cloud.
- [11] D. H. D. M. ; H. C. H. ; H. S. D. Sadava, "Le biomolecole e il metabolismo," in *Il carbonio, gli enzimi, il DNA. Biochimica e biotecnologie*, Zanichelli, 2021, pp. 86–119.
- [12] Weerg S.r.l., "Polimeri Termoplastici e Termoindurenti: Guida Tecnica 2026," Weerg Blog.
- [13] Prusa Research a.s., "PLA (Polylactic Acid) - Prusa Knowledge Base," Prusa Knowledge Base.
- [14] Prusa Research a.s., "PETG (Polyethylene Terephthalate Glycol) - Prusa Knowledge Base," Prusa Knowledge Base.
- [15] Prusa Research a.s., "ABS (Acrylonitrile Butadiene Styrene) - Prusa Knowledge Base," Prusa Knowledge Base.
- [16] S. J. Trenfield, A. Awad, A. Goyanes, S. Gaisford, and A. W. Basit, "3D Printing Pharmaceuticals: Drug Development to Front-line Care." [Online]. Available: <http://www.spritam.com/>

- [17] L. B. da Cruz Junior and L. Bachmann, "Manufacture and characterization of a 3D-printed integrating sphere," *Instrum. Sci. Technol.*, vol. 49, no. 3, pp. 276–287, 2021, doi: 10.1080/10739149.2020.1824922.
- [18] H. D. Whitehead, J. V. Waldman, D. M. Wirth, and G. LeBlanc, "3D Printed UV–Visible Cuvette Adapter for Low-Cost and Versatile Spectroscopic Experiments," *ACS Omega*, vol. 2, no. 9, pp. 6118–6122, Sep. 2017, doi: 10.1021/acsomega.7b01310.
- [19] M. Adhami *et al.*, "3D-printing of dipyrindamole/thermoplastic polyurethane materials for bone regeneration," *Drug Deliv. Transl. Res.*, vol. 15, no. 7, pp. 2467–2482, Jul. 2025, doi: 10.1007/s13346-024-01744-1.
- [20] Treccani, "Spettroscopia," *Vocabolario Treccani on-line*. 2024.
- [21] U. Amaldi, "L'Amaldi 2.0 (Capitolo E6: Le onde elettromagnetiche)," Bologna: Zanichelli editore S.p.A., 2010, ch. 6, pp. E155–E162.
- [22] Ugo. Amaldi, "La struttura dell'atomo," in *L'Amaldi 2.0. Blu. Dalla struttura atomica alle soluzioni*, Bologna: Zanichelli, pp. 176–202.
- [23] A. M. Syukur, A. G. Putrada, and M. Abdurrohman, "Increasing Accuracy of Power Consumption Using Artificial Neural Network," in *2019 7th International Conference on Information and Communication Technology (ICoICT)*, IEEE, Jul. 2019, pp. 1–6. doi: 10.1109/ICoICT.2019.8835371.
- [24] C. Malegori, "Near-infrared Spectroscopy: basics and principles."
- [25] C. Pasquini, "Near Infrared Spectroscopy: Fundamentals, Practical Aspects and Analytical Applications," *Journal of the Brazilian Chemical Society (oppure abbreviato: J. Braz. Chem. Soc.)*, vol. 14, no. 2, pp. 198–219, 2003, doi: 10.1590/S0103-50532003000200006.
- [26] D. A. ; C. E. W. Burns, *Handbook of Near-Infrared Analysis*, 3rd ed. Boca Raton: CRC Press, 2007. doi: 10.1201/9781420007374.
- [27] A. Peinado, J. Hammond, and A. Scott, "Development, validation and transfer of a Near Infrared method to determine in-line the end point of a fluidised drying process for commercial production batches of an approved oral solid dose pharmaceutical product," *J. Pharm. Biomed. Anal.*, vol. 54, no. 1, pp. 13–20, Jan. 2011, doi: 10.1016/j.jpba.2010.07.036.
- [28] S. Gariglio *et al.*, "Determination of time since deposition of bloodstains through NIR and UV–Vis spectroscopy – A critical comparison," *Talanta*, vol. 278, pp. 1–10, Oct. 2024, doi: 10.1016/j.talanta.2024.126444.
- [29] H. Yu, L. Guo, M. Kharbach, and W. Han, "Multi-Way Analysis Coupled with Near-Infrared Spectroscopy in Food Industry: Models and Applications," *Foods*, vol. 10, no. 4, pp. 1939–1954, Apr. 2021, doi: 10.3390/foods10040802.
- [30] G. Lu and B. Fei, "Medical hyperspectral imaging: a review," *J. Biomed. Opt.*, vol. 19, no. 1, p. 010901, Jan. 2014, doi: 10.1117/1.jbo.19.1.010901.
- [31] European Space Agency (ESA), "Le informazioni contenute in un'immagine.," ESA Eduspace.
- [32] W. Kurz *et al.*, "Dimensionality reduction in hyperspectral imaging using standard deviation-based band selection for efficient classification," *Sci. Rep.*, vol. 15, no. 1, p. 34478, Oct. 2025, doi: 10.1038/s41598-025-21738-4.
- [33] A. F. H. Goetz, G. Vane, J. E. Solomon, and B. N. Rock, "Imaging Spectrometry for Earth Remote Sensing," *Science (1979)*, vol. 228, no. 4704, pp. 1147–1153, Jun. 1985, doi: 10.1126/science.228.4704.1147.
- [34] N. Hagen and M. W. Kudenov, "Review of snapshot spectral imaging technologies," *Optical Engineering*, vol. 52, no. 9, p. 090901, Sep. 2013, doi: 10.1117/1.OE.52.9.090901.

- [35] A. GOWEN, C. O'DONNELL, P. CULLEN, G. DOWNEY, and J. FRIAS, "Hyperspectral imaging – an emerging process analytical tool for food quality and safety control," *Trends Food Sci. Technol.*, vol. 18, no. 12, pp. 590–598, Dec. 2007, doi: 10.1016/j.tifs.2007.06.001.
- [36] Specim, "What is Hyperspectral Imaging?," Specim Official Website.
- [37] Living Optics, "What is Spatial Resolution? Factors & Measurement.," Living Optics Glossary.
- [38] Dr. Gerhard Holst and Dr. Mona Clerico, "Pixel Size & Sensitivity," Wiley Analytical Science.
- [39] R. C. . Gonzalez and R. E. . Woods, *Digital image processing*, 4th ed. Pearson, 2018.
- [40] G. Hollows and N. James, "Understanding Focal Length and Field of View," Edmund Optics Imaging Resource Guide.
- [41] G. Hollows and N. James, "Understanding Depth of Field and Depth of Focus," Edmund Optics Imaging Resource Guide.
- [42] "Your Machine Vision Camera Selection Guide | Basler AG." Accessed: Mar. 30, 2026. [Online]. Available: <https://www.baslerweb.com/en/learning/camera-selection/>
- [43] L. Indd, "Hyperspectral Remote Sensing Principles and Applications".
- [44] S. Gariglio *et al.*, "Effect of environmental conditions and deposition substrate on bloodstain ageing studied by means of Raman and near infrared spectroscopies coupled with chemometrics," *Microchemical Journal*, vol. 220, p. 116381, Jan. 2026, doi: 10.1016/j.microc.2025.116381.
- [45] S. Piarulli *et al.*, "An effective strategy for the monitoring of microplastics in complex aquatic matrices: Exploiting the potential of near infrared hyperspectral imaging (NIR-HSI)," *Chemosphere*, vol. 286, p. 131861, Jan. 2022, doi: 10.1016/j.chemosphere.2021.131861.
- [46] S. Francini, T. Hermosilla, N. C. Coops, M. A. Wulder, J. C. White, and G. Chirici, "An assessment approach for pixel-based image composites," *ISPRS Journal of Photogrammetry and Remote Sensing*, vol. 202, pp. 1–12, Aug. 2023, doi: 10.1016/j.isprsjprs.2023.06.002.
- [47] T. Blaschke, "Object based image analysis for remote sensing," *ISPRS Journal of Photogrammetry and Remote Sensing*, vol. 65, no. 1, pp. 2–16, Jan. 2010, doi: 10.1016/j.isprsjprs.2009.06.004.
- [48] "Data Analysis and Chemometrics for Metabolomics".
- [49] T. Hastie, R. Tibshirani, and J. Friedman, "Springer Series in Statistics The Elements of Statistical Learning Data Mining, Inference, and Prediction".
- [50] P. Oliveri, C. Malegori, and M. Casale, "Introduction to Chemometrics – Chemometrics School," Genova, 2026.
- [51] Paul. Geladi and Hans. Grahn, *Multivariate image analysis*. Wiley, 1996.
- [52] B. G. Ram, P. Oduor, C. Igathinathane, K. Howatt, and X. Sun, "A systematic review of hyperspectral imaging in precision agriculture: Analysis of its current state and future prospects," *Comput. Electron. Agric.*, vol. 222, no. 24, p. 109037, Jul. 2024, doi: 10.1016/j.compag.2024.109037.
- [53] P. Oliveri, C. Malegori, R. Simonetti, and M. Casale, "The impact of signal pre-processing on the final interpretation of analytical outcomes – A tutorial," *Anal. Chim. Acta*, vol. 1058, pp. 9–17, Jun. 2019, doi: 10.1016/j.aca.2018.10.055.
- [54] Abraham. Savitzky and M. J. E. Golay, "Smoothing and Differentiation of Data by Simplified Least Squares Procedures.," *Anal. Chem.*, vol. 36, no. 8, pp. 1627–1639, Jul. 1964, doi: 10.1021/ac60214a047.

- [55] Åsmund Rinnan, F. van den Berg, and S. B. Engelsen, "Review of the most common pre-processing techniques for near-infrared spectra," *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, vol. 28, no. 10, pp. 1207–1208, Nov. 2009, doi: 10.1016/j.trac.2009.07.007.
- [56] R. A. van den Berg, H. C. Hoefsloot, J. A. Westerhuis, A. K. Smilde, and M. J. van der Werf, "Centering, scaling, and transformations: improving the biological information content of metabolomics data," *BMC Genomics*, vol. 7, no. 1, p. 142, Dec. 2006, doi: 10.1186/1471-2164-7-142.
- [57] S. Kucheryavskiy, "Preprocessing: Mean Centering and Autoscaling," 2020.
- [58] I. T. Jolliffe and J. Cadima, "Principal component analysis: a review and recent developments," *Philosophical Transactions of the Royal Society A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences*, vol. 374, no. 2065, p. 20150202, Apr. 2016, doi: 10.1098/rsta.2015.0202.
- [59] J. G. Eisenhauer, "Degrees of freedom," *Teach. Stat.*, vol. 30, no. 3, pp. 75–78, 2008, doi: 10.1111/j.1467-9639.2008.00324.x.
- [60] "Covarianza - Enciclopedia - Treccani." Accessed: Mar. 31, 2026. [Online]. Available: [https://www.treccani.it/enciclopedia/covarianza_\(Enciclopedia-della-Scienza-e-della-Tecnica\)/](https://www.treccani.it/enciclopedia/covarianza_(Enciclopedia-della-Scienza-e-della-Tecnica)/)
- [61] I. T. J. Springer, "Principal Component Analysis, Second Edition".
- [62] J. Starmer, "StatQuest: Principal Component Analysis (PCA) Clearly Explained," Youtube .
- [63] M. V. Padalkar and N. Pleshko, "Wavelength-dependent penetration depth of near infrared radiation into cartilage," *Analyst*, vol. 140, no. 7, pp. 2093–2100, 2015, doi: 10.1039/C4AN01987C.
- [64] Z. Li *et al.*, "Exploiting the penetration depth of XRF and NIR radiation: from 2D to 3D spectral imaging," *TrAC - Trends in Analytical Chemistry*, vol. 197, Apr. 2026, doi: 10.1016/j.trac.2026.118693.
- [65] Prusa Research a.s., "Prusament PLA Natural 1kg (NFC)."
- [66] Prusa Research a.s., "Prusament PETG Clear 1kg (NFC)."
- [67] Prusa Research, "Trame di riempimento ," Prusa Knowledge Base.
- [68] F. A. . Merchant and K. R. . Castleman, *Microscope image processing*. Academic Press, an imprint of Elsevier, 2023.
- [69] Paul. Geladi and Hans. Grahn, *Multivariate image analysis*, 1st ed. Wiley, 1996.
- [70] J. Workman Jr. and L. Weyer, *Practical Guide and Spectral Atlas for Interpretive Near-Infrared Spectroscopy*. CRC Press, 2012. doi: 10.1201/b11894.
- [71] R. Pantani, F. De Santis, F. Auriemma, C. De Rosa, and R. Di Girolamo, "Effects of water sorption on poly(lactic acid)," *Polymer (Guildf)*., vol. 99, pp. 130–139, Sep. 2016, doi: 10.1016/j.polymer.2016.07.008.
- [72] L. Bokobza, "Near infrared spectroscopy of polymers," *Spectrochim. Acta A Mol. Biomol. Spectrosc.*, vol. 54, no. 1, pp. 173–182, 1998.