



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
ESCOLA DE ENGENHARIA  
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA  
ENG07053 - TRABALHO DE DIPLOMAÇÃO EM ENGENHARIA  
QUÍMICA



# Preparação e Caracterização da Morfologia de Membranas Poliméricas

*Autora: Ingrid Caroline Roehrs*

*Orientadores: Nilo Sérgio Medeiros Cardozo*

*Isabel Cristina Tessaro*

Porto Alegre, 11 de dezembro de 2014



## Sumário

Sumário	iii
Agradecimentos	v
Resumo	vi
Lista de Figuras	vii
Lista de Tabelas	ix
Lista de Abreviaturas e Siglas	xi
1 Introdução	1
2 Revisão Bibliográfica	2
2.1 Preparação de membranas pela técnica de inversão de fases	2
2.2 Influência das condições de síntese na morfologia	3
2.3 Caracterização da morfologia da membrana por análise de imagens	4
2.4 Parâmetros quantitativos representativos da morfologia	5
2.5 Etapas da análise de imagens	7
3 Metodologia	9
3.1 Análise de Imagens	9
3.1.1 Ferramentas utilizadas	9
3.1.2 Definição dos parâmetros a serem quantificados	9
3.1.3 Definição das etapas de processamento e análise das imagens	9
3.1.4 Desenvolvimento das rotinas para a determinação de parâmetros morfológicos não definidos como funções intrínsecas do IMAGEJ	9
3.1.5 Validação das rotinas com análise de imagens	10
3.2 Procedimento Experimental para Preparação e Caracterização de Membranas	10
3.2.1 Preparação das membranas poliméricas	10
3.2.2 Análise de amostras por microscopia eletrônica de varredura	11
3.3 Análises Estatísticas	12
4 Resultados e Discussão	13
4.1 Definição das etapas de processamento das imagens	13
4.2 Desenvolvimento de rotinas para a determinação de parâmetros morfológicos não definidos como funções intrínsecas do IMAGEJ	18
4.3 Validação das rotinas com a análise de imagens de artigos	20
4.4 Caracterização das membranas preparadas	25
4.4.1 Análise da camada de topo das membranas	25
4.4.2 Análise visual da seção transversal das membranas	26
4.4.3 Análise quantitativa da seção transversal das membranas	27
5 Conclusões e Sugestões para Trabalhos Futuros	33
Referências	35
Apêndices	37

IA) Função desenvolvida para o cálculo da porosidade	37
IB) Funções desenvolvidas para o cálculo da assimetria e da irregularidade	37
IC) Função desenvolvida para o cálculo do coeficiente de correlação de Pearson	38
Anexos	39
IA) Funções utilizadas para avaliação da área total de poros	39
IB) Macro completa para a criação de uma nova tabela de resultados com valores médios e soma total dos parâmetros área e perímetro	40

## **Agradecimentos**

Agradeço à minha família por todo o amor e suporte, pelo incentivo a perseguir meus objetivos, pelo apoio em todos os momentos decisivos.

Agradeço a todos os meus amigos desses anos, por terem feito parte de muitos momentos especiais da minha vida.

Agradeço aos professores da UFRGS e da École Centrale Marseille, por me permitirem uma dupla-formação sólida.

Agradeço aos meus orientadores, Nilo Sérgio Medeiros Cardozo e Isabel Cristina Tessaro, por terem em muito me guiado nesse trabalho de conclusão de curso.

Agradeço também a Fernanda Formoso Ghiggi, por ter me ajudado nas etapas experimentais desse trabalho.

## Resumo

A caracterização da morfologia de membranas é importante, seja para determinar sua aplicação mais adequada, seja para estudos da influência de parâmetros de preparação nas suas propriedades finais. Um método muito utilizado é a caracterização por análise de imagens obtidas por microscópio eletrônico de varredura tanto da superfície de topo quanto das seções transversais. O foco desse trabalho foi definir parâmetros representativos para a caracterização da morfologia de membranas por microscopia eletrônica de varredura associada a um analisador de imagens comercial e analisar a influência das condições de preparação pela técnica de inversão de fases por imersão-precipitação, através de uma análise qualitativa e quantitativa de tais parâmetros. Os parâmetros adotados para a quantificação foram o diâmetro de Feret, a área média e a relação de aspecto do poro; a assimetria, a irregularidade e a porosidade da membrana; a correlação de Pearson entre a posição do poro ao longo da espessura da membrana e sua área/relação de aspecto. Inicialmente, procedeu-se a análise de imagens procedentes de artigos para a validação da rotina desenvolvida para a quantificação dos parâmetros morfológicos. Os resultados obtidos foram semelhantes à quantificação proposta nos artigos e, no caso dos parâmetros não listados nos artigos, os resultados apresentaram similaridade à análise qualitativamente visual das imagens. Na segunda etapa, foi realizada a quantificação dos parâmetros para as micrografias de membranas preparadas em laboratório, permitindo a análise da influência da concentração da solução polimérica e do tempo de evaporação. Pela técnica de inversão de fases por imersão-precipitação, foi preparada uma membrana de poli(étersulfona) com solvente dimetiacetamida e o não-solvente água para cada combinação de condição. As condições de preparo das membranas avaliadas foram a concentração da solução de espalhamento, que foi variada em 8%, 10% e 15%, e o tempo de evaporação antes da imersão do banho de coagulação, que foi variado em 30 s, 60 s e 90 s. A camada de topo apresentou poros muito pequenos não detectáveis com o aumento disponível no microscópio eletrônico de varredura utilizado, portanto não foi possível analisá-la. A quantificação foi possível para as micrografias da seção transversal das membranas e, conseqüentemente, a influência das condições de preparo sobre os parâmetros definidos pode ser analisada.

## Lista de Figuras

Figura 2.1: Etapas da preparação de membranas pela técnica de inversão de fases por imersão-precipitação. Imagem adaptada de Carvalho (2001). .....	2
Figura 2.2: Representação esquemática do caminho de composição de separação com atraso (A) e instantâneo (B). Imagem adaptada de Van De Witte <i>et al.</i> (1996). .....	3
Figura 2.3: Imagens típicas da seção transversal de membranas com morfologia <i>finger-like</i> (a) seguida de uma morfologia <i>sponge-like</i> (b). Imagem de Madaeni e Rahimpour (2005). .....	4
Figura 2.4: Imagens típicas da seção de topo de uma membrana de PVDF obtidas por MEV (a) e MEV por emissão de campo (b) e da distribuição de tamanho de poros da membrana (c). Imagens de Wang e Wang (2006). .....	5
Figura 2.5: Micrografias após tratamento da imagem. Na letra (a), representa-se a área porosa pelo branco. Na letra (b), as linhas dos caminhos livres são indicadas em vermelho. Imagens de Ziel, Haus e Tulke (2008). .....	6
Figura 2.6: Micrografia original da seção transversal da membrana (a) e após tratamento de imagens com o cálculo das linhas indicativas do fluxo de fluido através da membrana (b). Imagens de Torras, Puig e Ángel García (2011). .....	7
Figura 2.7: Micrografia original da superfície de topo de uma membrana (a) com uma incidência de luz não-uniforme e os resultados em suas transformação em binário (b). Imagens de Ghiggi (2014). .....	8
Figura 3.1: Equipamentos utilizados na preparação de membranas pela técnica de inversão de fases por imersão precipitação. ....	11
Figura 4.1: Imagem de MEV da superfície da membrana de PES e a seleção das regiões para a contagem manual dos poros. Imagem de Ghiggi (2014). ....	13
Figura 4.2: Visualização da contagem manual dos poros em cada uma das regiões selecionadas na micrografia original: canto superior esquerdo (a), meio (b) e canto inferior direito (c). .....	14
Figura 4.3: Imagens após tratamentos segundo os testes 1 (a), 2 (b), 3 (c), 4 (d), 5 (e), 6 (f), 7 (g), 8 (h) e 9 (i). .....	15
Figura 4.4: Macro básica utilizada. ....	16
Figura 4.5: Comparativo da imagem original da seção transversal (a) de Ghiggi (2014) com o resultados dos Testes 10 (b), 11 (c), 12 (d), 13 (e) e 14 (f). .....	17
Figura 4.6: Representação esquemática dos eixos de referência utilizados em relação à posição da camada de topo da membrana. Imagem adaptada de Torras e Garcia-Valls (2004). .....	19
Figura 4.7: Imagens utilizadas como base para a definição do grau de simetria. Os graus de assimetria definidos pelo autor são 2 % (DA 002), 9 % (DA 009), 38 % (DA 038), 54 % (DA 054) e 100 % (DA 100 e DA 100(2)). Imagens de Torras e Garcia-Valls (2004). .....	20
Figura 4.8: Imagens da seção transversal de uma mesma membrana. Extraído de Torras e Garcia-Valls (2004). .....	22
Figura 4.9: Micrografias de membranas de polissulfona com variação na espessura da camada de topo de Torras e Garcia-Valls (2004). ....	23

Figura 4.10: Micrografias de membranas de polissulfona fabricadas por Kool (1998). As imagens foram retiradas de Torras e Garcia-Valls (2004) e representam as variações morfológicas de membranas. ....	24
Figura 4.11: Micrografias obtidas com aumento de 100.000 vezes das superfícies de topo das membranas preparadas conforme referenciado na Tabela 3.1. ....	25
Figura 4.12: Micrografia das seções transversais das membranas de PES preparadas . Aumento de 500 vezes e energia de 20kV. ....	26
Figura 4.13: Imagens processadas das membranas preparadas pela técnica de inversão de fases por imersão-precipitação com diferentes combinações de concentração da solução polimérica e tempo de evaporação. ....	28



## Lista de Tabelas

Tabela 3.1: Legenda das nove membranas preparadas em laboratório pela técnica de inversão de fases por imersão-precipitação.....	11
Tabela 4.1: Resultados da seleção manual dos poros em amostras da imagem original... 14	14
Tabela 4.2: Resultados obtidos com a variação do contraste, nível de cinza de corte e utilização do filtro de dilatação para a seção superficial da membrana. ....	15
Tabela 4.3: Resultados obtidos com a variação do contraste, nível de cinza de corte e utilização do filtro de dilatação para a seção transversal da membrana. ....	17
Tabela 4.4: Valores de grau de assimetria obtidos pela fórmula desenvolvida comparados aos reportados por Torras e Garcia-Valls (2004).....	20
Tabela 4.5: Quantificação dos parâmetros morfológicos da Figura 4.7.....	21
Tabela 4.6: Resultados da análise das imagens da Figura 4.8.....	22
Tabela 4.7: Resultados da análise das imagens da Figura 4.9 nesse estudo, apresentando um comparativo com o grau de assimetria do artigo. ....	23
Tabela 4.8: Resultados obtidos na análise das membranas com variações morfológicas da Figura 4.10. ....	24
Tabela 4.9: Valores de tons de cinza de corte utilizados para as imagens obtidas para as nove membrans preparadas.....	28
Tabela 4.10: Médias e grupos pelo teste de Tukey para o parâmetro morfológico diâmetro de Feret médio das imagens de seção transversal das membranas de PES preparadas. ...	28
Tabela 4.11: Médias e grupos pelo teste de Tukey para o parâmetro morfológico área média do poro das imagens de seção transversal das membranas de PES preparadas.....	29
Tabela 4.12: Médias e grupos pelo teste de Tukey para o parâmetro morfológico relação de aspecto média das imagens de seção transversal das membranas de PES preparadas. ....	29
Tabela 4.13: Médias e grupos pelo teste de Tukey para o parâmetro morfológico assimetria das imagens de seção transversal das membranas de PES preparadas. ....	30
Tabela 4.14: Médias do parâmetro morfológico porosidade das imagens de seção transversal das membranas de PES preparadas.....	30
Tabela 4.15: Médias e grupos para os fatores concentração e tempo de evaporação separadamente para o parâmetro morfológico porosidade das imagens de seção transversal das membranas de PES preparadas.....	31
Tabela 4.16: Médias do parâmetro morfológico irregularidade das imagens de seção transversal das membranas de PES preparadas.....	31
Tabela 4.17: Médias e grupos para os fatores concentração e tempo de evaporação separadamente para o parâmetro morfológico irregularidade das imagens de seção transversal das membranas de PES preparadas.....	31
Tabela 4.18: Coeficiente de correlação de Pearson entre a área do poro e sua posição ao longo da espessura da membrana das imagens de seção transversal das membranas de PES preparadas. ....	32

Tabela 4.19: Coeficiente de correlação de Pearson entre a relação de aspecto do poro e sua posição ao longo da espessura da membrana das imagens de seção transversal das membranas de PES preparadas.....	32
--	----

---

## **Lista de Abreviaturas e Siglas**

ANOVA – Análise de variância

ASSISTAT – Programa de cálculo estatístico

DMAc – Dimetilacetamida

IMAGEJ – Processador e analisador de imagens

MEV – Microscopia eletrônica de varredura

MFA – Microscopia de Força Atômica

MET – Microscopia eletrônica de transmissão

PES – Poli(éter sulfona)

PVDF – Fluoreto polivinidileno

Stub – Suporte porta-amostras do microscópio eletrônico de varredura



## **1 Introdução**

Membranas são muito utilizadas em processos de separação, devido à sua versatilidade e facilidade de operação, ou pelo baixo consumo energético apresentado por algumas das técnicas quando comparadas com técnicas tradicionais. Apresentam-se com uma variada gama de tamanhos de poro e de seletividade, podendo ser utilizadas em processos de microfiltração, ultrafiltração, nanofiltração ou osmose inversa, entre outros. Essa versatilidade faz com que sejam utilizadas nos mais diversos tipos de indústria. No setor alimentício, por exemplo, se mostraram como uma alternativa muito eficiente para evitar tratamentos térmicos que poderiam alterar certas propriedades físico-químicas do alimento. O uso de membranas de osmose inversa para o processo de dessalinização de águas apresenta-se como uma solução para regiões onde há escassez de água. Assim, os processos de separação com membranas são utilizadas para a concentração do leite, purificação e potabilização da água, recuperação de efluentes, entre muitas outras aplicações.

Com vista na ampla faixa de aplicações possíveis, o desenvolvimento de membranas com características mais adequadas para cada caso é de grande relevância. Neste contexto, a caracterização das membranas, por parâmetros como o tamanho dos poros e sua distribuição, hidrofiliidade, fluxo médio, permeabilidade e seletividade, por exemplo, torna-se importante para que em cada aplicação seja utilizada a membrana mais adequada para o processo.

A técnica de preparo de membranas mais utilizada é a inversão de fases por imersão-precipitação, uma vez que ela possibilita obter uma grande variedade de tipos de membranas resultantes, as quais podem ser simétricas ou assimétricas, porosas ou densas, e, dessa forma, podem ser aplicadas a diversas técnicas, como microfiltração, ultrafiltração, nanofiltração ou mesmo osmose inversa.

Pequenas variações nas condições de fabricação como temperatura, umidade, tempo de espalhamento, por exemplo, geram mudanças significativas na morfologia de membranas preparadas por essa técnica, principalmente em laboratório, mas também na indústria. Um estudo desses fatores pode permitir, inclusive, a predição da estrutura das membranas e a influência destes nas propriedades de separação da membrana resultante.

Nesse contexto, o presente trabalho tem como objetivo caracterizar qualitativamente a morfologia de membranas poliméricas pela técnica de microscopia eletrônica de varredura associada à análise de imagens. Os objetivos específicos são: avaliar os parâmetros para a quantificação de características morfológicas utilizando imagens de membranas selecionadas de artigos; sintetizar membranas de poli(étersulfona) pela técnica de inversão de fases e avaliar a influência das condições de síntese sobre os parâmetros morfológicos.

## 2 Revisão Bibliográfica

### 2.1 Preparação de membranas pela técnica de inversão de fases

A técnica da inversão de fases é uma das mais utilizadas para a produção de membranas poliméricas comerciais. Ela envolve a transformação de uma solução polimérica líquida termodinamicamente estável para um estado sólido a partir de uma perturbação. A indução desse desequilíbrio termodinâmico pode ocorrer pela imersão-precipitação (imersão em um banho de não-solvente), evaporação controlada (evaporação de um solvente volátil da solução polimérica contendo uma mistura de solvente e não-solvente), precipitação térmica (mudança na temperatura da solução polimérica) ou absorção de não-solvente (o filme de solução polimérica absorve vapor de água, que é um não-solvente, do ambiente). Dentre essas, a técnica de imersão-precipitação é uma das mais utilizadas (Hořda *et al.*, 2013).

Na síntese de membranas pela técnica de inversão de fases por imersão e precipitação em laboratório, uma solução polimérica (solvente e polímero) é espalhada na forma de um filme fino em um suporte de vidro com o uso de uma faca de espalhamento e, em seguida, mergulhada em um banho de coagulação de não-solvente (Madaeni e Bakhtiari, 2012; Sadzadeh e Bhattacharjee, 2013). Estas etapas são representadas esquematicamente na Figura 2.1.

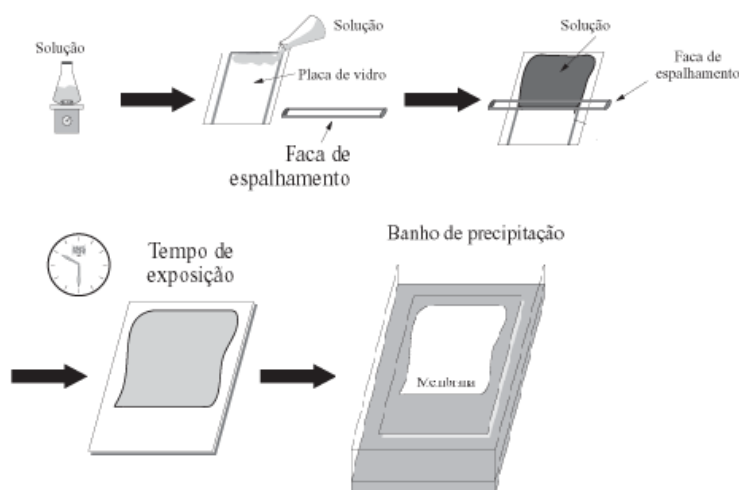


Figura 2.1: Etapas da preparação de membranas pela técnica de inversão de fases por imersão-precipitação. Imagem adaptada de Carvalho (2001).

A solução polimérica precipita devido aos processos de transferência de massas de solvente e não-solvente. Uma membrana anisotrópica (assimétrica) é formada pela separação de fases da solução polimérica, que ocorre pela presença do não-solvente. São formadas duas fases em equilíbrio termodinâmico (uma rica e outra pobre em polímero). A precipitação pode ocorrer por uma separação de fases instantânea (em tempo menor que um segundo), quando o caminho das composições entra na região instável, caracterizando uma decomposição espinodal; ou com atraso (em tempo maior que um segundo), quando o caminho da composição entra na região meta-estável, caracterizando a separação de fases por nucleação e crescimento (Madaeni e Bakhtiari, 2012). A diferença entre os caminhos de composição de uma separação instantânea e com atrasos é representada na Figura 2.2.

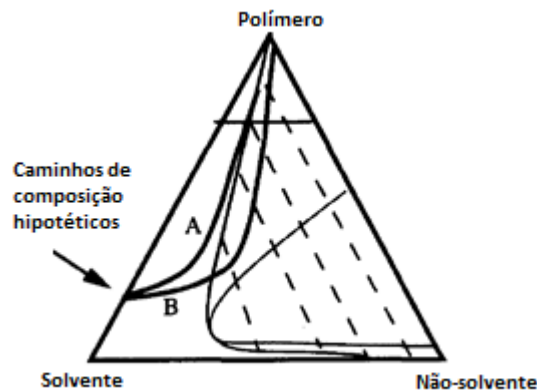


Figura 2.2: Representação esquemática do caminho de composição de separação com atraso (A) e instantâneo (B). Imagem adaptada de Van De Witte *et al.* (1996).

## 2.2 Influência das condições de síntese na morfologia

A morfologia e o desempenho da membrana formada pela técnica de inversão de fases por imersão e precipitação dependerão de diversos fatores experimentais, como a concentração de polímero na solução polimérica, o tipo de solvente e não-solvente (e suas afinidades entre si e com o polímero), o tipo de material de suporte (que pode ser vidro, polímero, metal e não-tecido), a utilização de aditivos na solução polimérica, a composição do banho de coagulação (podendo ser um solvente único, uma mistura de solventes ou ainda contendo não-solvente) e as condições no espalhamento da solução. Entre as variáveis que definem as condições de espalhamento, podem ser citadas a espessura do filme da solução polimérica espalhado, a velocidade do espalhamento, a temperatura da solução polimérica e do banho de coagulação e as condições do ambiente (temperatura, umidade relativa) antes e depois do espalhamento (Hořda *et al.*, 2013; Sadzadeh e Bhattacharjee, 2013).

A miscibilidade entre o solvente e o não-solvente é uma variável importante na morfologia da membrana formada. Quando a miscibilidade entre os dois é alta, as difusões do não-solvente para o filme polimérico espalhado e a do solvente do filme para o banho de coagulação são facilitadas. Consequentemente, a separação tende a ser instantânea, levando normalmente a uma morfologia caracterizada por uma camada de topo mais porosa e macrovazios do tipo *finger-like* (no formato de dedo, como canais verticais) ao longo da espessura da membrana (Figura 2.3a). Quando a miscibilidade é baixa entre o solvente e não solvente, há uma tendência à formação de uma morfologia com uma camada de topo densa ou poros menores (Madaeni e Rahimpour, 2005).

O aumento da concentração de polímero na solução de espalhamento é responsável por uma propensão à precipitação com atraso, resultando em uma morfologia que tende a mudar da estrutura *finger-like* para a estrutura *sponge-like* (esponjosa) (Figura 2.3b). Na superfície da membrana, isso é representado pela diminuição do número e do diâmetro dos poros. Na seção transversal, a mudança é observada pela redução do número de macrovazios, pelo aumento da espessura da camada de topo e pela presença de poros menores (Madaeni e Bakhtiari, 2012).

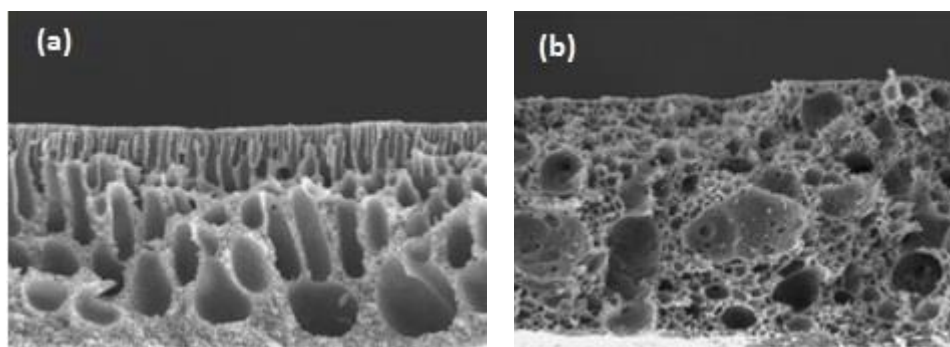


Figura 2.3: Imagens típicas da seção transversal de membranas com morfologia *finger-like* (a) seguida de uma morfologia *sponge-like* (b). Imagem de Madaeni e Rahimpour (2005).

Como discutido por outros autores, a alteração da concentração de polímero, do tipo de polímero, do solvente, do não-solvente e de aditivos, provoca mudanças de viscosidade da solução polimérica. Um aumento da viscosidade da solução de espalhamento reduz a taxa de trocas materiais entre solvente e não-solvente durante a separação de fases. O impacto na morfologia é observado na alteração da estrutura assimétrica completamente *finger-like* para uma estrutura assimétrica *sponge-like*. Além disso, com o aumento da viscosidade, aumenta a distância entre a superfície da membrana e o ponto onde os macrovazios começam (Zhang *et al.*, 2010).

A influência do banho de coagulação na morfologia também é importante: a adição de solvente ao banho de não-solvente pode induzir uma separação com atraso. O aumento da concentração de solvente no banho de coagulação causa uma diminuição da taxa de troca mássica entre o solvente e o não-solvente, gerando uma diminuição no tamanho dos macrovazios, com uma tendência a uma morfologia esponjosa. Quanto mais suave o banho de coagulação, isto é, quanto maior a concentração de solvente, maior será o tempo para a separação de fases (Madaeni e Bakhtiari, 2012).

### 2.3 Caracterização da morfologia da membrana por análise de imagens

A caracterização da morfologia de membranas é muito importante para a escolha da membrana certa para uma determinada aplicação, para um controle de qualidade de processos de preparação de membranas, para a obtenção de dados que permitam o estudo da influência de um determinado parâmetro do processo de preparação da membrana sobre a estrutura da membrana produzida ou para o entendimento dos mecanismos de transporte em tal processo.

Os parâmetros estruturais que normalmente são caracterizados são a distribuição do tamanho de poros, a porosidade, a morfologia e a espessura. Quanto às características de separação, procura-se estudar a seletividade, a permeabilidade, a resistência mecânica, química e térmica, assim como o caráter hidrofílico.

Muitos são os métodos existentes para a caracterização de membranas, que podem ser segmentados em métodos para caracterizar os parâmetros morfológicos referentes à estrutura e métodos para avaliar as características de separação. Para uma análise da estrutura da membrana, alguns métodos utilizados são: a microscopia eletrônica, que pode ser de varredura (MEV) ou de transmissão (MET); a microscopia de força atômica (MFA); método de ponto de bolha; método bilíquido; prometria de mercúrio, entre



outros, cujo objetivo é obter a distribuição de tamanho de poros da membrana. Quanto às características de separação, podem-se realizar medidas de permeabilidade e medidas de retenção a um dado soluto, por exemplo.

A microscopia eletrônica de varredura e a microscopia eletrônica de transmissão são métodos empregados principalmente para se obter a distribuição e os tamanhos de poros em estudos da morfologia. Frequentemente, essa análise se dá qualitativamente, mas pesquisadores têm explorado a quantificação para que a interpretação possa ser sistemática e mais rápida (Torras e Garcia-Valls, 2004; Ziel, Haus e Tulke, 2008; Torras, Puig e Ángel García, 2011). A seguir são descritos alguns dos parâmetros quantificados para as análises da morfologia tanto da seção superficial quanto da seção transversal.

#### 2.4 Parâmetros quantitativos representativos da morfologia

Para a caracterização da seção de topo da membrana, normalmente são analisados: a densidade de poros por área de membrana, a distribuição do tamanho dos poros (seja relativo à área ou relativo ao diâmetro), os diâmetros máximo, mínimo e médio de poro e a porosidade superficial da membrana, os quais normalmente podem ser obtidos pela técnica de análise de imagem direta (Torras e Garcia-Valls, 2004; Wang e Wang, 2006). A seguir são apresentadas algumas imagens típicas da seção superficial de membranas obtidas por microscopia eletrônica de varredura (Figura 2.4a), por microscopia eletrônica de varredura por emissão de campo (Figura 2.4b) e o gráfico de distribuição de tamanho de poros (Figura 2.4c) para uma membrana de PVDF (fluoreto polivinidileno).

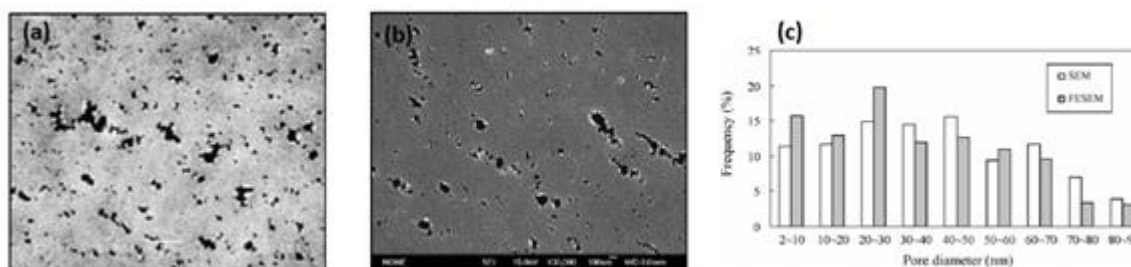


Figura 2.4: Imagens típicas da seção de topo de uma membrana de PVDF obtidas por MEV (a) e MEV por emissão de campo (b) e da distribuição de tamanho de poros da membrana (c). Imagens de Wang e Wang (2006).

A quantificação desses mesmos parâmetros, em muitos casos, se torna difícil para a seção transversal, visto que as estruturas tendem a formar macrovazios cujas delimitações são difíceis de estabelecer. Os poros não são facilmente distinguidos uns dos outros, formando-se, muitas vezes, uma área contínua de poros. Nesse caso, outros parâmetros, além dos mencionados acima, acabam sendo definidos com o objetivo de se quantificar e caracterizar a seção transversal das imagens.

A fração porosa, representada pela área total ocupada pelos poros em relação à área total da membrana, é bastante utilizada para uma estimativa de porosidade local. Além disso, o caminho livre médio é uma abordagem diferenciada, pela qual se calcula o valor médio das distâncias que seriam percorridas na direção do fluxo até a intersecção com uma seção de polímero na membrana. A Figura 2.5b representa graficamente o conceito dos diferentes caminhos livres.

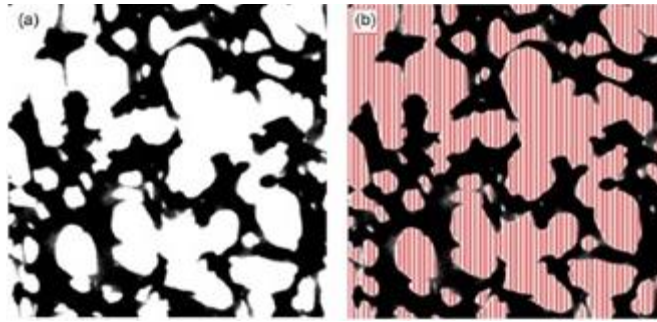


Figura 2.5: Micrografias após tratamento da imagem. Na letra (a), representa-se a área porosa pelo branco. Na letra (b), as linhas dos caminhos livres são indicadas em vermelho. Imagens de Ziel, Haus e Tulke (2008).

Além disso, para a uma caracterização das diferentes morfologias de membrana, que pode ser isotrópica e anisotrópica, torna-se interessante caracterizar o grau de assimetria da distribuição dos poros ao longo da espessura da membrana. Uma das maneiras propostas de avaliar este parâmetro leva em conta a identificação de diferentes densidades de poro ao longo da direção do fluxo da membrana, definindo diferentes grupos de simetria (“g” grupos). Para cada um desses grupos, calcula-se um fator de simetria “f”, que é obtido pela multiplicação do comprimento do grupo de simetria pela área que é ocupada pelos poros. E “F” será a soma de todos esses fatores “f”. O grau de assimetria é calculado com base na diferença entre esses fatores de simetria, como apresentado na Equação 2.1 (Torras e Garcia-Valls, 2004).

$$\text{Grau de Assimetria (\%)} = \sum_{i=1}^g \left| \frac{(100/g - f_i/F) * 100}{g} \right| \quad (2.1)$$

A regularidade da distribuição de poros, em número e em diâmetro, também é calculada na direção perpendicular ao fluxo da membrana. Pode ser calculada com base na covariância de valores do número de pixels de poros para cada coluna em uma segmentação da imagem. Além disso, pode-se calcular uma regularidade global com base na distribuição ao longo das duas direções, sendo interessante inclusive para a análise das seções de topo da membrana (Torras e Garcia-Valls, 2004).

Outro parâmetro morfológico importante é a tortuosidade, que pode ser estimada pela relação entre o caminho seguido pelo fluido através da membrana (a sequência de poros mais curta) e o menor caminho, correspondente a uma linha reta, geralmente a espessura da membrana. Na Figura 2.6b, está apresentado como a imagem pode ser tratada para que se obtenha uma estimativa do cálculo da tortuosidade ligando-se os centroides dos poros através da análise de imagens (Torras, Puig e Ángel García, 2011).

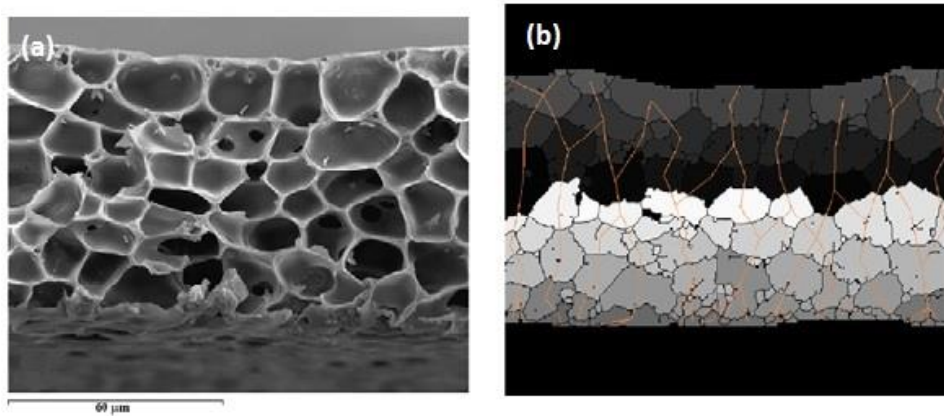


Figura 2.6: Micrografia original da seção transversal da membrana (a) e após tratamento de imagens com o cálculo das linhas indicativas do fluxo de fluido através da membrana (b). Imagens de Torras, Puig e Ángel García (2011).

## 2.5 Etapas da análise de imagens

A imagem original é composta de vários pixels, cada um com um tom de cinza diferente, que pode variar de zero para um pixel preto até 255 para um pixel branco. Dessa forma, uma das etapas é a escolha do tom de cinza de corte para a transformação da imagem para um padrão binário (apenas preto e branco), etapa chamada de *thresholding*. Caso o tom de cinza do pixel esteja acima do tom de corte, o pixel será transformado em branco (valor 255); caso contrário, o pixel assumirá o valor de zero, correspondente à cor preta.

No caso de membranas, os poros são mais escuros e a estrutura polimérica é mais clara. O objetivo é encontrar um nível de cinza de corte com o qual apenas os poros sejam identificados em preto na transformação em binário. A partir disso, o analisador de imagens pode processar e realizar a quantificação dos poros e de suas áreas com base na contagem dos pixels pretos.

A dificuldade, portanto, está na melhor escolha de um tom de cinza que represente os poros da membrana. Devido a diferenças de profundidade dos poros, alguns são retratados como mais escuros que outros. Além disso, a incidência do feixe de elétrons do microscópio eletrônico de varredura pode não se dar de modo homogêneo ao longo da membrana, de modo que algumas regiões de uma mesma membrana apresentem pixels mais claros e/ou escuros do que outras. A Figura 2.7 retrata um caso de falta de homogeneidade na distribuição da luminosidade e os efeitos prejudiciais no tratamento posterior da imagem para a quantificação.

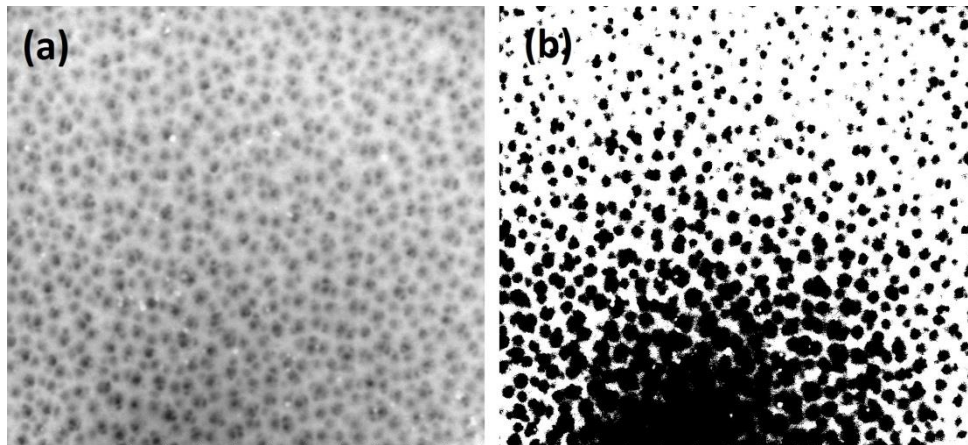


Figura 2.7: Micrografia original da superfície de topo de uma membrana (a) com uma incidência de luz não-uniforme e os resultados em sua transformação em binário (b).  
Imagens de Ghiggi (2014).

A escolha do tom de cinza ideal para o corte é feita de modo empírico: varia-se o nível de cinza até encontrar a melhor semelhança visual entre a imagem original obtida pelo MEV e a digitalizada em preto e branco, utilizada para gerar os dados de diâmetro e área dos poros, buscando-se a maximização da identificação dos poros evidentes e minimizando os falsos poros (Calvo *et al.*, 2004; Abdullah, Bérubé e Horne, 2014).

Eventualmente, utiliza-se a aplicação da escolha automática do tom de cinza de corte do analisador de imagens (She, Tung e Kong, 2008).

Desse modo, nota-se um esforço crescente pela quantificação e sistematização da análise de imagens para a caracterização de membranas, porém ainda sem um procedimento padronizado e com aceitação irrestrita. Uma das principais limitações da sistematização da quantificação é o processamento da imagem, no que se refere à determinação dos parâmetros importantes durante o tratamento. A escolha do tom de cinza de corte é essencial, no entanto, tem sido realizada de modo subjetivo e dependente do usuário. Outra limitação é a padronização na atribuição de valores a parâmetros morfológicos que são normalmente tratados qualitativamente, como a assimetria da membrana, ou que não possuem um sistema padrão de quantificação, como a tortuosidade ou o caminho livre médio.

### 3 Metodologia

#### 3.1 Análise de Imagens

##### 3.1.1 Ferramentas utilizadas

Para a análise das imagens de seções de topo e transversais das membranas, optou-se pela utilização do programa gratuito IMAGEJ, um processador e analisador de imagens em linguagem Java. Este admite a aplicação de *plugins* e macros especialmente desenvolvidas e calibradas para a automatização do processo de análise das imagens em estudo.

##### 3.1.2 Definição dos parâmetros a serem quantificados

Com base na revisão bibliográfica, depreende-se que é recomendável definir conjuntos diferentes de parâmetros para caracterizar as imagens da seção transversal e do topo das membranas.

No caso da superfície de topo, foram avaliados os seguintes parâmetros: densidade de poros (número de poros/ $\mu\text{m}^2$ ), a área média dos poros ( $\mu\text{m}^2$ ), o diâmetro de Feret (a maior distância entre dois pontos quaisquer situados ao longo do contorno do poro, em  $\mu\text{m}$ ), a porosidade superficial, a relação de aspecto média (razão entre o maior e o menor diâmetro do poro) e a circularidade média.

Para a seção transversal da membrana, optou-se por quantificar, além dos parâmetros já mencionados: a regularidade, a simetria, o coeficiente de correlação de Pearson entre a área dos poros e a espessura da membrana, o coeficiente de correlação de Pearson entre relação de aspecto e a espessura da membrana.

##### 3.1.3 Definição das etapas de processamento e análise das imagens

Nesse estudo, foram realizados testes com diferentes parâmetros de processamento das imagens, utilizando-se imagens retiradas de artigos e do trabalho de Ghiggi (2014). Em seguida, foram realizados testes com diferentes parâmetros do analisador de imagens para a determinação dos poros.

No tratamento da imagem, foram modificados os parâmetros de contraste, o nível de cinza de corte para transformar a imagem em binário (preto e branco) e a suavidade das bordas (função que reduz as oscilações bruscas dos níveis de cinza dos pixels).

Na etapa de análise, na qual se procede a contagem e análise dos poros a partir da imagem processada, foram testados diferentes valores dos parâmetros de área e circularidade mínima e máxima dos poros a serem contabilizados pelo analisador. Além disso, foram realizados testes com o filtro *Maximum*, disponível no programa IMAGEJ, o qual é um filtro de dilatação do nível de cinza, que realiza a substituição em cada pixel com o maior valor de nível de cinza dos pixels no entorno.

##### 3.1.4 Desenvolvimento das rotinas para a determinação de parâmetros morfológicos não definidos como funções intrínsecas do IMAGEJ

O programa IMAGEJ é bastante completo em seus *plugins*, fornecendo, além da tabela de resultados com as informações para cada poro contabilizado, os resultados

estatísticos básicos como a média, desvio padrão, valor mínimo e máximo de cada parâmetro quantificado, tais como a área e o diâmetro de Feret.

Uma vez que a análise de muitas imagens, sejam de uma mesma membrana ou de membranas diferentes, é muito dispendiosa, buscou-se a automatização desse processo através de uma macro única, racionalizando tempo e aumentando a eficiência do processo. O código do tratamento das imagens e da análise de cada poro foi implementado utilizando-se as funções já disponíveis no IMAGEJ. No caso dos cálculos de porosidade, simetria e irregularidade, que não são funções intrínsecas do programa, teve-se que desenvolver os códigos correspondentes a partir dos conceitos e/ou expressões específicas. A simetria e a irregularidade foram avaliadas a partir do grau de assimetria, definido na Equação 2.1. A porosidade foi calculada como a razão entre a área correspondente aos pixels pretos e a área total da imagem processada.

### 3.1.5 Validação das rotinas com análise de imagens

Com o intuito de verificar se o código desenvolvido estaria com as funcionalidades corretas, procedeu-se a análise de três conjuntos de imagens da seção transversal de membranas obtidas do artigo de Torras e Garcia-Valls (2004): i) três micrografias de uma mesma membrana sintetizada pelo autor; ii) seis micrografias de membranas de polissulfona com variações na espessura da camada de topo; iii) seis micrografias de membranas de polissulfona com variações morfológicas. Assim, foi possível fazer a validação do código desenvolvido pela comparação dos resultados obtidos com aqueles apresentados nos artigos utilizados.

## 3.2 Procedimento Experimental para Preparação e Caracterização de Membranas

Neste trabalho, foram sintetizadas membranas poliméricas pela técnica de inversão de fases por imersão-precipitação a partir de um sistema ternário composto pelo polímero (poli(éter sulfona) – PES), solvente (dimetilacetamida – DMAc) e não-solvente (água). A seguir são descritos os procedimentos utilizados para a preparação das membranas e para a sua análise por microscopia eletrônica de varredura.

### 3.2.1 Preparação das membranas poliméricas

Três soluções poliméricas foram preparadas, cujas composições foram 8%, 10% e 15% em massa de PES dissolvido em DMAc. Essas soluções foram deixadas em agitação do dia para a noite para que o polímero fosse bem dissolvido (10 a 16 h).

No dia da síntese das membranas, as soluções poliméricas ainda foram colocadas de 20 a 30 minutos no ultrassom para a remoção de bolhas de ar. As condições ambiente durante a síntese foi de aproximadamente  $23 \pm 0,5$  °C e umidade do ar variando de 67% a 70%.

Foram utilizadas placas de vidro como suporte e uma faca de espalhamento na espessura de 200  $\mu\text{m}$ , sendo que o espalhamento foi feito manualmente com uma velocidade aproximadamente constante.

Após o espalhamento, para cada concentração, variou-se o tempo de evaporação antes da imersão no banho de coagulação em 30, 60 e 90 segundos.

As membranas foram deixadas no banho de coagulação composto somente de não-solvente (água destilada a temperatura ambiente) por um intervalo de cerca de 2 minutos, ao final do qual a água era descartada. Após, foram enxaguadas com água destilada e imersas em outro recipiente com água até que todas as membranas fossem sintetizadas. Na Figura 3.1, constam os materiais da esquerda para a direita, os materiais para a preparação das membranas: recipiente com o banho de coagulação; placa de vidro e faca de espalhamento; Erlenmeyer com a solução polimérica.



Figura 3.1: Equipamentos utilizados na preparação de membranas pela técnica de inversão de fases por imersão precipitação.

Para a remoção do não-solvente, as membranas foram deixadas por 1 h em banho de etanol e depois por 1 h em banho de hexano. Em seguida, foram deixadas secando ao ar livre por 48 h.

Assim, ao todo, foram sintetizadas nove membranas com diferentes concentrações de polímero na solução de espalhamento e tempo de evaporação. A Tabela 3.1 explicita a referência atribuída a cada membrana sintetizada.

Tabela 3.1: Legenda das nove membranas preparadas em laboratório pela técnica de inversão de fases por imersão-precipitação.

		<i>Concentração da Solução Polimérica (%)</i>		
		<i>8</i>	<i>10</i>	<i>15</i>
<i>Tempo de</i>	<i>30</i>	M1	M4	M7
<i>Evaporação</i>	<i>60</i>	M2	M5	M8
<i>(s)</i>	<i>90</i>	M3	M6	M9

### 3.2.2 *Análise de amostras por microscopia eletrônica de varredura*

Para cada membrana sintetizada, foram retiradas duas amostras: uma para a análise da superfície do topo e outra para a da seção transversal. As amostras para a análise do topo foram simplesmente recortadas com uma tesoura, com o devido cuidado para não prejudicar a seção superior. Para as amostras de análise da seção transversal, foi necessário cortar pequenos pedaços, congelá-los em nitrogênio líquido e então quebrá-los. As 18 amostras foram coladas em *stubs* com a utilização de uma fita dupla-face e foram enviadas para o processo de metalização com ouro.

Usando o microscópio eletrônico de varredura (MEV, modelo JSM 5800), com uma voltagem de aceleração de 20kV, foram obtidas imagens do topo com aumento entre 45.000 e 100.000 vezes e imagens da seção transversal com aumento de 100 a 1.500 vezes.

### **3.3 Análises Estatísticas**

Todas as análises estatísticas necessárias foram realizadas pelo teste de Tukey a 5 % de significância, utilizando-se o software ASSISTAT, desenvolvido pelo Prof. Dr. Francisco de Assis Santos e Silva da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG).



## 4 Resultados e Discussão

Neste capítulo, serão apresentados e discutidos os principais resultados da definição das etapas do processamento das imagens e a implementação no IMAGEJ, assim como os resultados da análise das micrografias preparadas em laboratório.

### 4.1 Definição das etapas de processamento das imagens

O primeiro parâmetro da análise de imagem a ser estudado foi o nível de cinza. A escolha do nível de cinza de corte correto é essencial na análise dos poros, pois influencia tanto na contagem do número de poros quanto na área de cada um deles.

Além do nível de cinza de corte, há outros parâmetros utilizados na etapa inicial de processamento da imagem que podem afetar a representatividade da imagem processada em relação à imagem original. Entre estes, os mais críticos seriam o valor de contraste e, no caso da utilização de filtros, o tipo de filtro utilizado.

Desta forma, é importante estabelecer um critério mais sistemático para avaliar quais opções utilizar com relação aos três parâmetros de processamento de imagem mencionados nos parágrafos anteriores e evitar restringir esta escolha exclusivamente a uma análise visual e pessoal. Para isto, foram realizados testes de processamento/análise de imagem variando os parâmetros de interesse e os resultados destes testes foram comparados com aqueles obtidos a partir de uma amostragem manual dos poros na imagem original, realizada por meio de um procedimento de contagem e identificação de contorno manual dos poros. A Figura 4.1 apresenta a imagem original e indica as áreas que foram selecionadas para a contagem e seleção do contorno manual dos poros: o canto superior esquerdo, o meio e o canto inferior direito.

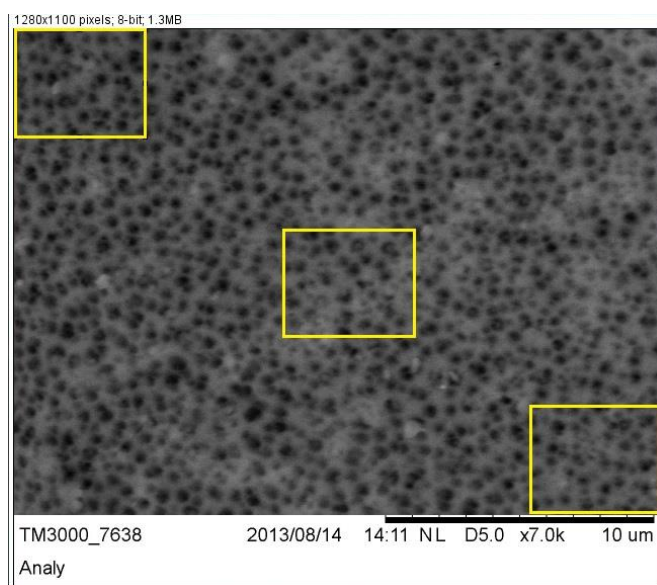


Figura 4.1: Imagem de MEV da superfície da membrana de PES e a seleção das regiões para a contagem manual dos poros. Imagem de Ghiggi (2014).

A Figura 4.2 mostra a ampliação das áreas selecionadas e a contagem dos poros em cada uma delas.

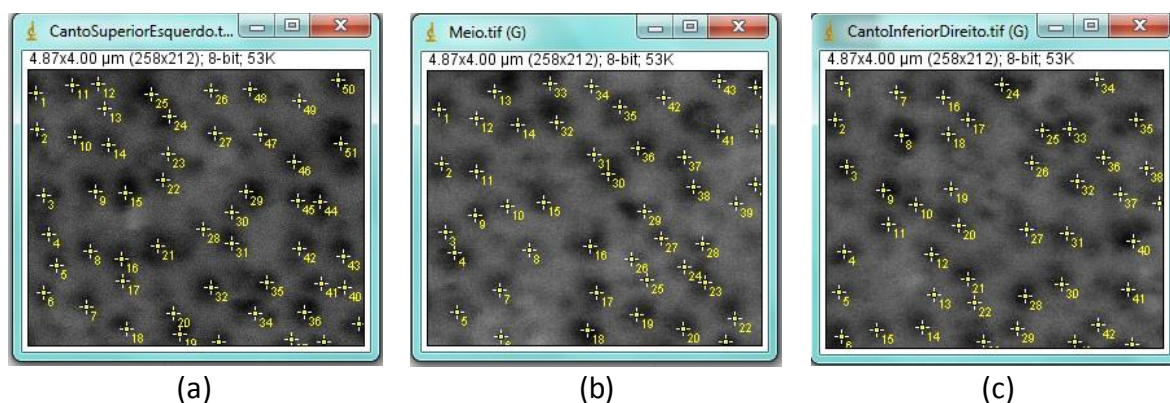


Figura 4.2: Visualização da contagem manual dos poros em cada uma das regiões selecionadas na micrografia original: canto superior esquerdo (a), meio (b) e canto inferior direito (c).

A seguir, na Tabela 4.1, são apresentados os resultados numéricos da análise pelo IMAGEJ dos poros que foram identificados e cujos contornos foram selecionados manualmente para cada uma das regiões, assim como a média aritmética destas.

Tabela 4.1: Resultados da seleção manual dos poros em amostras da imagem original.

	<i>Média do nível de cinza</i>	<i>Área média (<math>\mu\text{m}^2</math>)</i>	<i>Circularidade média</i>	<i>Feret médio (<math>\mu\text{m}</math>)</i>	<i>Nº poros contados</i>	<i>Área imagem (<math>\mu\text{m}^2</math>)</i>	<i>Nº poros /área (<math>\mu\text{m}^2</math>)</i>
<i>Sup. Esquerdo</i>	52	0,084	0,696	0,422	52	19,48	2,67
<i>Meio</i>	63	0,103	0,731	0,461	47	19,48	2,41
<i>Inf. Direito</i>	58	0,097	0,687	0,466	44	19,48	2,26
<b><i>Média</i></b>	<b>57</b>	<b>0,095</b>	<b>0,705</b>	<b>0,450</b>	<b>48</b>	<b>19,48</b>	<b>2,45</b>
<b><i>Desvio Padrão</i></b>	<b>5,508</b>	<b>0,010</b>	<b>0,023</b>	<b>0,024</b>	<b>4,041</b>	<b>0,000</b>	<b>0,207</b>

Para a imagem original (Figura 4.1), em cada teste, foram variados os níveis de cinza de corte, contrastes e a utilização do filtro de dilatação do nível de cinza para analisar a influência desses parâmetros na obtenção da imagem e da contagem de partículas final, e também para verificar qual conjunto de parâmetros se ajusta melhor aos valores obtidos manualmente nas amostras. As imagens tratadas constam na Figura 4.3. Os valores de cada parâmetro nos testes dessas imagens e os resultados encontram-se na Tabela 4.2.

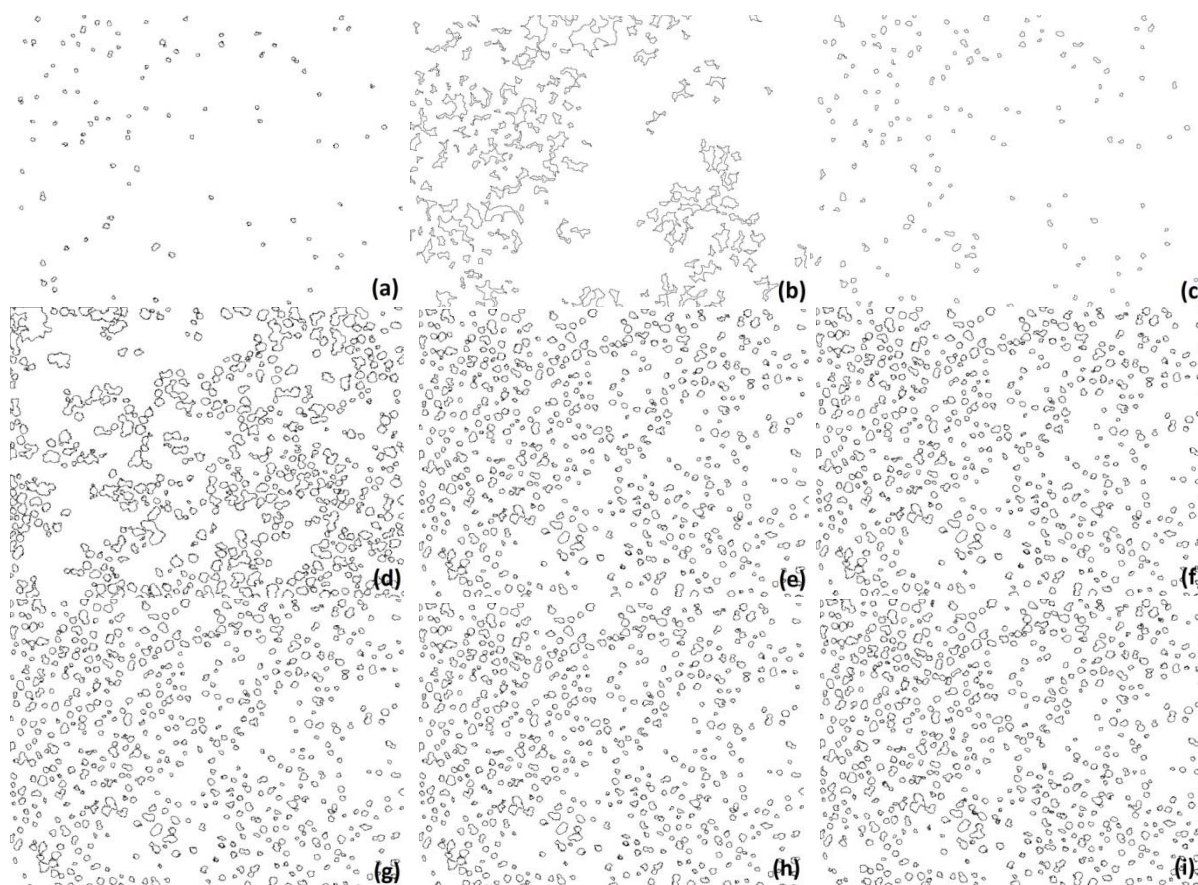


Figura 4.3: Imagens após tratamentos segundo os testes 1 (a), 2 (b), 3 (c), 4 (d), 5 (e), 6 (f), 7 (g), 8 (h) e 9 (i).

Tabela 4.2: Resultados obtidos com a variação do contraste, nível de cinza de corte e utilização do filtro de dilatação para a seção superficial da membrana.

	Parâmetros de processamento avaliados			Parâmetros morfológicos quantificados					
	Contraste	Nível de cinza	Filtro	Área média ( $\mu\text{m}^2$ )	Circularidade média	Feret médio ( $\mu\text{m}$ )	Nº poros	Área imagem ( $\mu\text{m}^2$ )	Nº poros / área ( $n/\mu\text{m}^2$ )
Teste 1	0,4	26	Não	0,044	0,398	0,326	97	501,11	0,19
Teste 2	0,4	Auto	Sim	0,251	0,346	0,934	176	501,11	0,35
Teste 3	0,4	50	Sim	0,052	0,719	0,348	153	501,11	0,31
Teste 4	0,4	Auto	Não	0,216	0,27	0,708	428	501,11	0,85
Teste 5	0	50	Não	0,098	0,345	0,471	573	501,11	1,14
Teste 6	0,4	50	Não	0,098	0,345	0,471	573	501,11	1,14
Teste 7	0,2	50	Não	0,098	0,345	0,471	573	501,11	1,14
Teste 8	0,6	50	Não	0,098	0,345	0,471	573	501,11	1,14
Teste 9	0,4	52	Não	0,107	0,335	0,495	600	501,11	1,20

Comparando-se os Testes 5, 6, 7 e 8, pode-se concluir que o aumento do contraste não interfere na determinação dos poros das imagens, por mais que facilite na identificação visual para o caso de uma seleção manual. Portanto, considerou-se que este parâmetro não é essencial para a transformação da imagem em binário.

O uso do filtro de dilatação não levou a bons resultados de similaridade com a contagem manual das partículas, como pode ser observado nos Testes 2 e 3, tanto com o nível de cinza de 50, quanto com o nível de cinza definido automaticamente pelo analisador de imagens.

Desse modo, nota-se que o determinante na análise das imagens é o nível de cinza de corte, sendo que o valor determinado automaticamente pelo analisador, caso dos Testes 2 e 4, não conduziu a resultados adequados, como mostra a comparação dos valores da área média de poro e do diâmetro de Feret visual com a imagem original. O nível de cinza de corte definido em 50 apresentou resultados mais próximos ao valor da contagem manual.

Analisando-se a Tabela 4.2, observa-se que apenas a circularidade deveria ser melhorada. Isso pode ser obtido com a utilização do filtro *Smooth*, que suaviza as bordas das imagens, e conseqüentemente reduz as oscilações bruscas dos níveis de cinza dos pixels.

A macro estabelecida para o processamento/análise da Figura 4.1, com o nível de cinza de corte de 50, é apresentada na Figura 4.4.

```
run("32-bit");  
  
setThreshold(0,50); //seleção dos pixels que possuam nível de cinza entre 0 e 50  
  
run("Smooth"); //filtro que suaviza as bordas irregulares  
  
run("Convert to Mask"); //transformação em preto e branco  
  
run("Analyze Particles...", "size=0.025-Infinity circularity=0.10-1.00 show=[Bare Outlines]  
display clear include summarize"); //análise das partículas com tamanho mínimo de  
0,025µm2 e de circularidade mínima 0,1
```

Figura 4.4: Macro básica utilizada.

Macros similares foram utilizadas para a análise da imagem de seção transversal de uma membrana de PES do trabalho de Ghiggi (2014). Foram realizados testes com diferentes parâmetros de processamento/análise (alterando-se as variáveis de nível de cinza de corte, tamanho mínimo de partícula a ser contabilizada e a utilização do filtro de dilatação). Foram obtidas cinco imagens, as quais foram comparadas com a imagem original, conforme apresentado na Figura 4.5. As condições de cada parâmetro do processamento e análise das imagens, e os resultados numéricos da quantificação podem ser encontrados na Tabela 4.3.

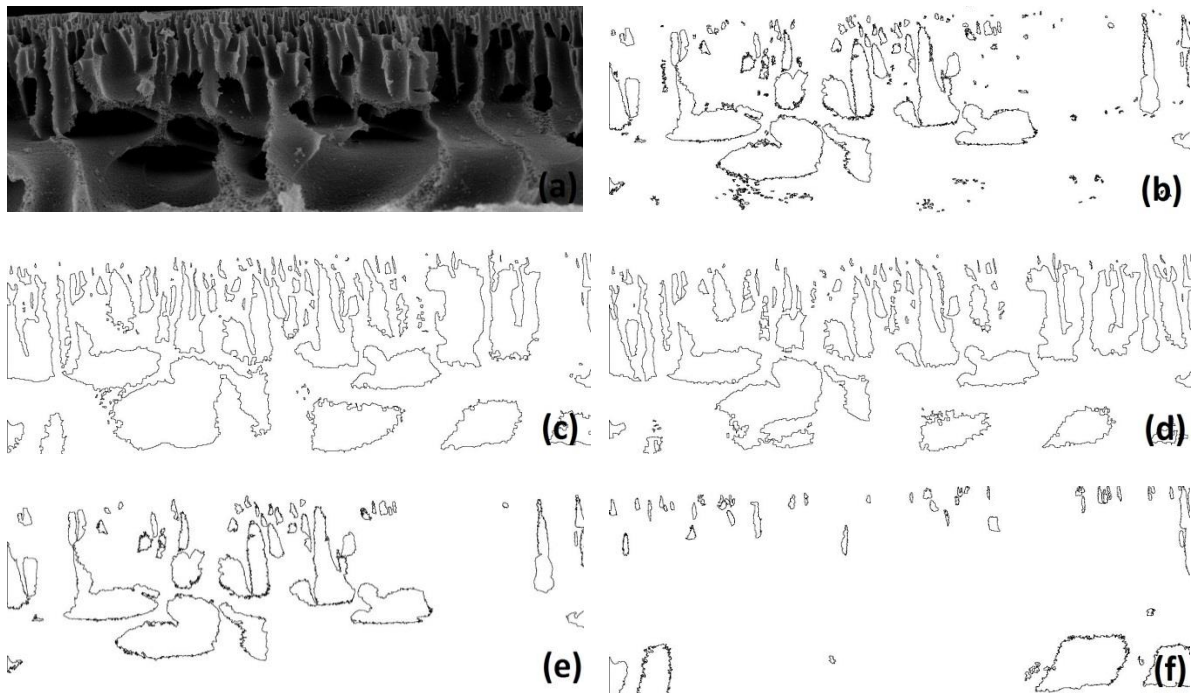


Figura 4.5: Comparativo da imagem original da seção transversal (a) de Ghiggi (2014) com o resultados dos Testes 10 (b), 11 (c), 12 (d), 13 (e) e 14 (f).

Tabela 4.3: Resultados obtidos com a variação do contraste, nível de cinza de corte e utilização do filtro de dilatação para a seção transversal da membrana.

	Parâmetros de processamento avaliados			Parâmetros morfológicos quantificados				
	Filtro	Área mínima ( $\mu\text{m}^2$ )	Nível de cinza	Nº poros	Área total dos poros ( $\mu\text{m}^2$ )	Área média ( $\mu\text{m}^2$ )	Circularidade média	Feret médio ( $\mu\text{m}$ )
Teste 10	Não	0,1	26	225	1090,136	4,845	0,377	2,341
Teste 11	Sim	0,1	Auto	105	2236,893	21,304	0,444	5,523
Teste 12	Sim	0,1	50	98	1710,407	17,453	0,405	6,042
Teste 13	Não	1	26	50	1048,329	20,967	0,285	55,188
Teste 14	Não	1	Auto	45	452,28	10,051	0,308	4,632

A partir da análise dessas imagens, pode-se concluir que os parâmetros utilizados no Teste 14 (Figura 4.5.f) não permitiram representar os macrovazios importantes da seção transversal da membrana. Ao mesmo tempo, os parâmetros utilizados nos Testes 10 e 13 (Figuras 4.5.b e 4.5.e, respectivamente) não possibilitaram representar um macrovazio existente no canto superior direito da imagem. As Figuras 4.5.c e 4.5.d, obtidas nos Testes 11 e 12, respectivamente, representaram bem a seção transversal como um todo. Mas devido à incerteza do cálculo automático do nível de cinza de corte para cada uma das imagens, é preferível utilizar um valor de corte predeterminado, como no Teste 12 (Figura 4.5.d).

Os resultados apresentados nesta seção evidenciam que a escolha do nível de cinza de corte constitui a maior limitação da metodologia de processamento/análise de

imagens utilizada para avaliação da morfologia da membrana. Está sendo buscado um método automatizado para a determinação do nível de cinza de corte, ou seja, algum que não exija, por exemplo, uma amostragem manual dos poros para cada uma das imagens, fato que pode inviabilizar o uso da análise das imagens para algumas aplicações, como controle de qualidade, devido ao excessivo tempo de análise requerido. Uma alternativa interessante a ser estudada mais detalhadamente é o uso de uma estratégia semi-automatizada baseada na seleção de diversos pontos da extremidade de diferentes poros da imagem e calcular a média do nível de cinza deles e utilização deste valor médio como nível de cinza de corte.

Foram feitos alguns testes preliminares baseados nesta proposta, mas seria necessária a análise de um número maior de imagens para confirmar a eficácia desta estratégia. No entanto, como não haveria tempo suficiente para completar este estudo no âmbito do presente trabalho sem prejudicar a execução das demais etapas previstas, optou-se por utilizar nas demais etapas o método em sua configuração atual. Assim foram feitos testes preliminares, para cada amostra analisada, para determinar o valor mais adequado do nível de cinza de corte com base na semelhança visual entre as imagens original e processada.

#### **4.2 Desenvolvimento de rotinas para a determinação de parâmetros morfológicos não definidos como funções intrínsecas do IMAGEJ**

Na sequência, foram desenvolvidas funções que pudessem realizar os cálculos de parâmetros morfológicos não definidos como funções intrínsecas do IMAGEJ, como porosidade, simetria e irregularidade.

A porosidade foi calculada conforme definido na Seção 3.4.1, como a razão entre a área de pixels pretos, correspondente aos poros, e a área total da imagem. Primeiramente, a área total dos poros foi calculada utilizando três funções disponibilizadas como código livre pelo Research Services Branch (RSB, 2014), as quais são apresentadas no Anexo IA. O cálculo da área total da imagem foi feita com funções intrínsecas do IMAGEJ que recuperam as dimensões horizontal e vertical da imagem. Esta função é apresentada no Apêndice IA.

Para as quantificações da assimetria e da irregularidade, procurou-se implementar uma função baseada no grau de assimetria de Torras e Garcia-Valls (2004), apresentado na Equação 2.1 da Seção 2.4. A principal diferença se deu na definição dos grupos de simetria da imagem. Na função desenvolvida, os grupos são igualmente distribuídos na imagem, ou seja, possuem mesma largura e mesma área. Na fórmula original, leva-se a entender que tais grupos são definidos com base no maior gradiente entre a densidade de poros por grupo. Além disso, na função desenvolvida, realiza-se a soma das diferenças em relação a uma distribuição uniforme dos pixels pretos por grupo de simetria. Adicionou-se também o fator empírico  $(g-2)/(g-1)$ , que leva em conta o número de grupos de simetria escolhido. Este fator foi determinado após testes realizados com imagens padrão de maneira a obter maior similaridade entre os valores de grau de assimetria calculados pela metodologia proposta e aqueles apresentados por Torras e Garcia-Valls (2004). As imagens utilizadas como padrão para estes testes são apresentadas na Seção 4.3 (Figura 4.7), juntamente com os resultados obtidos na sua análise. A fórmula final para o cálculo do grau de assimetria é representada pela Equação 4.1. O código desenvolvido para a determinação da assimetria e da irregularidade encontra-se no Apêndice IB.

$$Assimetria (\%) = \sum_{i=1}^g \left| \frac{(F/g - f_i) * 100}{F} * \frac{(g - 2)}{(g - 1)} \right| \quad (4.1)$$

O cálculo da irregularidade da membrana é baseado nessa mesma fórmula (Equação 4.1). A diferença reside no fato que, para a assimetria, analisa-se a distribuição de tamanho dos poros ao longo da espessura da membrana (considerado o eixo vertical  $y$ , Figura 4.6); enquanto que, para a irregularidade, leva-se em conta a distribuição de tamanho dos poros na direção perpendicular à espessura da membrana (considerado o eixo horizontal  $x$ , Figura 4.6). A Figura 4.6 evidencia a escolha de orientação dos eixos  $x$  e  $y$  em relação à camada de topo da membrana.

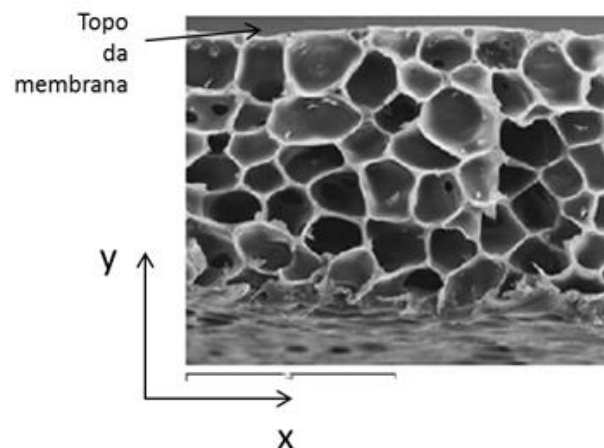


Figura 4.6: Representação esquemática dos eixos de referência utilizados em relação à posição da camada de topo da membrana. Imagem adaptada de Torras e Garcia-Valls (2004).

Optou-se por calcular também dois coeficientes de correlação de Pearson que poderiam ser significativos para a caracterização da morfologia da membrana: o primeiro da área de cada poro em relação à posição na espessura da membrana (eixo vertical); o segundo da relação de aspecto de cada poro em relação a esse eixo vertical. A fórmula para o cálculo do coeficiente de Pearson entre variáveis  $x$  e  $y$ , cujo código é apresentado no Apêndice IC, foi feito pela Equação 4.2.

$$Coeficiente\ de\ Correlação\ (x, y) = \frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})}{\sqrt{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2} * \sqrt{\sum_{i=1}^n (y_i - \bar{y})^2}} \quad (4.2)$$

Se o valor absoluto do coeficiente de correlação em relação à área do poro for próximo de um para uma determinada imagem, poderia indicar que se trata de uma membrana com assimetria, pois haveria variação da área dos poro ao longo da espessura da membrana. Da mesma forma, a identificação de correlação entre a relação de aspecto e a posição ao longo da espessura da membrana indicaria transição de poros circulares para um formato mais *finger-like*.

Além disso, para a visualização dos resultados relativos aos parâmetros definidos nesta seção e de alguns outros parâmetros médios de interesse, foi necessário criar uma tabela de resultados, diferente da versão padrão exibida pelo IMAGEJ. Para isto, utilizou-

se como base um código livre disponibilizado pelo Research Services Branch (RSB, 2014), que explicita como criar uma nova tabela de resultados com os valores médios de certos parâmetros, como a área e o perímetro, assim como a área total dos objetos contabilizado (partículas, poros). A macro original completa disponibilizada pelo RSB (2014) encontra-se no Anexo IB.

### 4.3 Validação das rotinas com a análise de imagens de artigos

Para garantir que o cálculo do grau de assimetria adaptado pudesse ser corretamente empregado, analisaram-se as imagens padrão de grau de assimetria do artigo de Torras e Garcia-Valls (2004) (Figura 4.7).

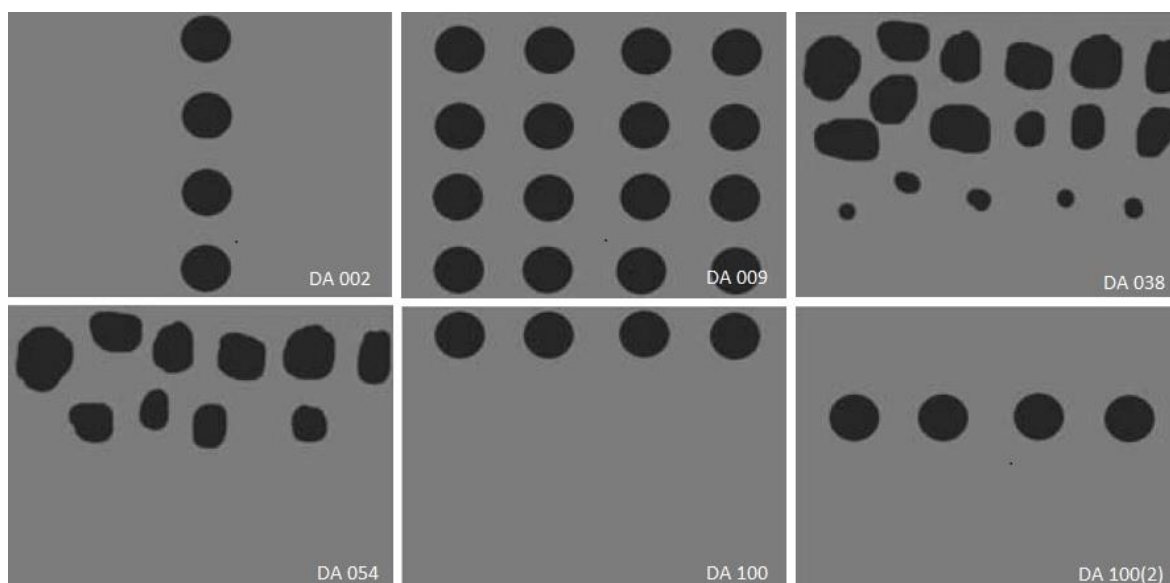


Figura 4.7: Imagens utilizadas como base para a definição do grau de simetria. Os graus de assimetria definidos pelo autor são 2 % (DA 002), 9 % (DA 009), 38 % (DA 038), 54 % (DA 054) e 100 % (DA 100 e DA 100(2)). Imagens de Torras e Garcia-Valls (2004).

Os valores obtidos do grau de assimetria, utilizando quatro grupos de simetria, foram comparados com aqueles fornecidos por Torras e Garcia-Valls (2004). Cabe mencionar que estes autores não reportam o número de grupos de simetria para essas imagens. Os resultados obtidos são apresentados na Tabela 4.4.

Tabela 4.4: Valores de grau de assimetria obtidos pela fórmula desenvolvida comparados aos reportados por Torras e Garcia-Valls (2004).

<i>Grau de Assimetria (%)</i>	<i>Imagem DA 002</i>	<i>Imagem DA 009</i>	<i>Imagem DA 038</i>	<i>Imagem DA 054</i>	<i>Imagem DA 100</i>	<i>Imagem DA 100(2)</i>
<i>Reportado no artigo</i>	2	9	38	54	100	100
<i>Obtido</i>	0	0	58	67	100	100

Nota-se que, apesar de os valores obtidos pela metodologia desenvolvida serem diferentes daqueles reportados por Torras e Garcia-Valls (2004), existe uma correlação entre os dois resultados e os valores obtidos no presente trabalho também permitem identificar diferenças de assimetria entre as amostras analisadas.



A Tabela 4.5 apresenta os valores calculados dos parâmetros morfológicos área média, porosidade, irregularidade e coeficientes de correlação para essas mesmas imagens.

Tabela 4.5: Quantificação dos parâmetros morfológicos da Figura 4.7.

<i>Imagem</i>	<i>Área Média (pixels)</i>	<i>Porosidade (%)</i>	<i>Irregularidade (%)</i>	<i>Correl. Área</i>	<i>Correl. Relação Aspecto</i>
DA 002	920,8	5,84	67	0,3766	-0,1269
DA 009	924,0	23,44	0	0,0933	0,298
DA 038	702,6	18,94	12	-0,775	-0,2654
DA 054	836,1	13,26	6	-0,6548	-0,0974
DA 100	923,5	5,86	0	0,6329	-0,6739
DA 100(2)	923,5	5,86	0	0,5501	0,8346

Utilizando como base de referência a análise visual da Figura 4.7, pode-se afirmar que os resultados apresentados na Tabela 4.5 indicam que os parâmetros de análise escolhidos permitem quantificar, para a imagem padrão utilizada nesta etapa, os aspectos morfológicos de interesse. Esta afirmação é feita com base nas seguintes observações feitas a partir da Tabela 4.5: i) as imagens DA 002, DA 009, DA 100 e DA 100(2) apresentam a mesma área média de poro, indicando maior uniformidade do tamanho de poro nestas amostras; ii) as maiores valores de porosidade foram encontrados para as imagens DA 009, DA 038 e DA 054; iii) de acordo aos valores do parâmetro irregularidade, as DA 038, DA 054 e DA 002, em ordem crescente, são aquelas que apresentam maior heterogeneidade de porosidade no eixo horizontal; iv) os valores maiores de coeficiente de correlação entre área dos poros e posição ao longo da espessura da membrana foram obtidos para as imagens DA 038, DA 054, DA 100 e DA 100(2), as quais realmente apresentam variação do tamanho de poro ao longo da espessura da membrana. Com relação ao coeficiente de correlação entre relação de aspecto dos poros e posição ao longo da espessura da membrana, é difícil estabelecer um padrão visto que não há mudanças significativas nesse aspecto de forma. Neste caso, os valores elevados dos coeficientes de correlação encontrados para as imagens DA 100 e DA 100(2) podem ser consequência somente do fato de que estas duas imagens apresentam uma única camada com poros ao longo da espessura.

Os resultados discutidos acima justificaram estudos adicionais de validação. Assim, além das imagens da Figura 4.7, foram analisados três conjuntos de micrografias de membranas contidos no artigo de Torras e Garcia-Valls (2004).

O primeiro conjunto corresponde a três micrografias de uma membrana de sintetizada pelos referidos autores, apresentadas na Figura 4.8. Para a análise destas imagens foram utilizados os níveis de cinza de corte de 80, 100 e 95 (para as imagens das Figuras 4.8a, b e c, respectivamente) e circularidade mínima de 0,1, sendo que os valores utilizados pelos autores para estes parâmetros não foram reportados em seu artigo. Adicionalmente, foi considerada uma divisão em sete grupos de simetria utilizados para a análise do grau de assimetria, que foi o mesmo utilizado pelos autores.

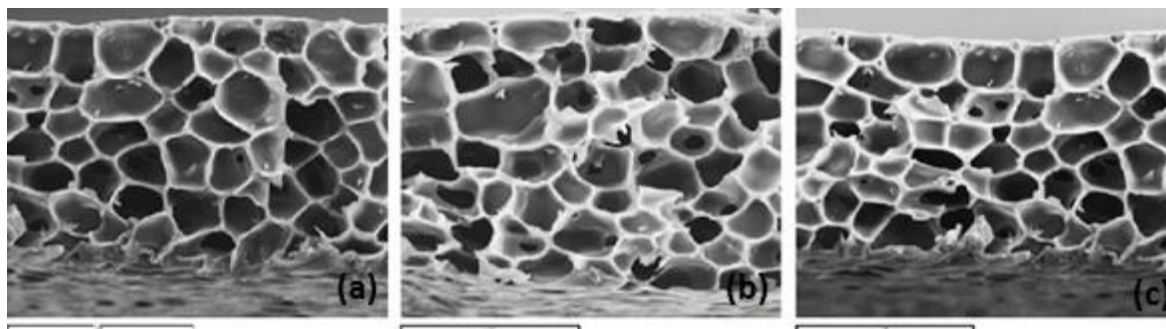


Figura 4.8: Imagens da seção transversal de uma mesma membrana. Extraído de Torras e Garcia-Valls (2004).

Tabela 4.6: Resultados da análise das imagens da Figura 4.8.

	<i>Imagem (a)</i>		<i>Imagem (b)</i>		<i>Imagem (c)</i>	
	<i>Artigo</i>	<i>Obtido</i>	<i>Artigo</i>	<i>Obtido</i>	<i>Artigo</i>	<i>Obtido</i>
<i>Grau de Assimetria (%)</i>	7	9	11	9	8	8
<i>Área Total Imagem (<math>\mu\text{m}^2</math>)</i>	9404	6863	7043	7585	9649	5599
<i>Nº poros</i>	62	57	62	57	63	53
<i>Irregularidade global</i>	0,0013	3,7	0,0015	2,27	0,0017	6,41
<i>Tamanho médio dos poros (<math>\mu\text{m}</math>)</i>	9,5917	12,699	7,8527	13,016	9,5032	11,653

Pela análise da Tabela 4.6, nota-se que os graus de assimetria obtidos foram muito próximos entre si, visto que se trata da mesma membrana; além disso, os valores foram baixos e semelhantes aos calculados no artigo. O número de poros detectados pelo programa desenvolvido variou muito pouco em relação ao artigo. As diferenças encontradas são provavelmente devido a diferenças do nível de cinza de corte, do tamanho da imagem analisada (na análise realizada, é necessário recortar a imagem) e à circularidade mínima escolhida para a contagem dos poros pelo IMAGEJ. Com relação ao parâmetro irregularidade, vale destacar que a definição apresentada por Torras e Garcia-Valls (2004) é referente à diagonal da membrana, enquanto nesse estudo foi trabalhada a irregularidade somente no eixo horizontal em valor percentual com base em cinco grupos de simetria.

O segundo conjunto de imagens analisado, apresentado por Torras e Garcia-Valls (2004), constou de seis micrografias de membranas de polissulfona com variações na espessura da camada de topo (Figura 4.9). Ressalta-se que não foram realizadas as análises de diâmetro de Feret e área médios, devido à impossibilidade de se fazer a leitura da barra de escala das imagens. Os níveis de cinza de corte utilizados para as imagens foram 60 (Figura 4.9a), 40 (Figura 4.9b), 40 (Figura 4.9c), 60 (Figura 4.9d), 50 (Figura 4.9e) e 50 (Figura 4.9f). Os resultados da análise destas, apresentando um comparativo com o grau de assimetria dos autores estão apresentados na Tabela 4.7.

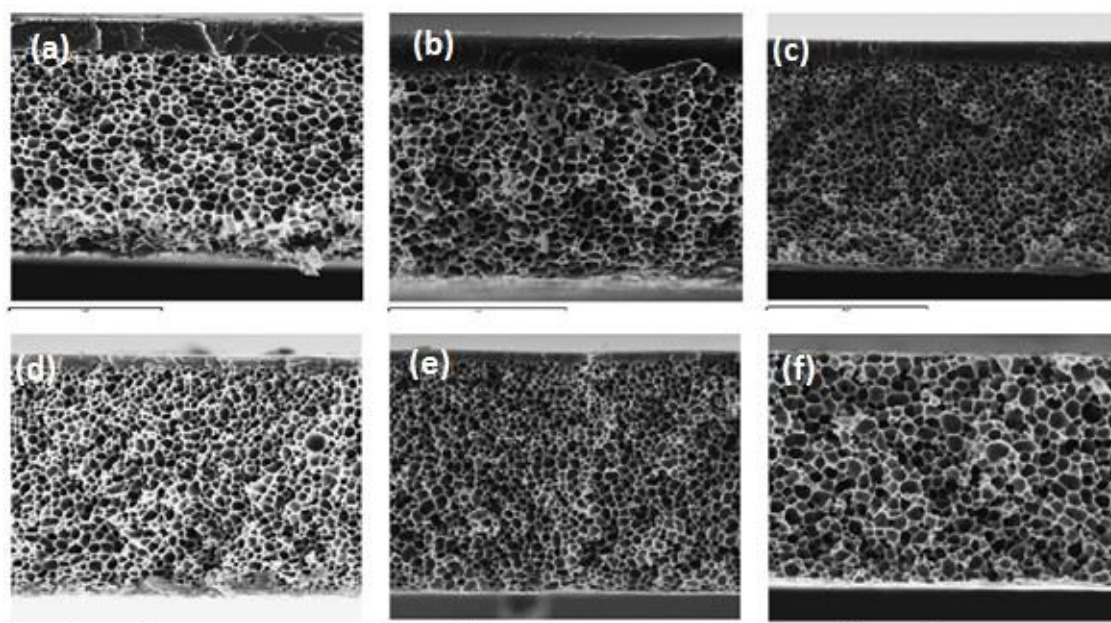


Figura 4.9: Micrografias de membranas de polissulfona com variação na espessura da camada de topo de Torras e Garcia-Valls (2004).

Tabela 4.7: Resultados da análise das imagens da Figura 4.9 nesse estudo, apresentando um comparativo com o grau de assimetria do artigo.

	<i>Imagem (a)</i>	<i>Imagem (b)</i>	<i>Imagem (c)</i>	<i>Imagem (d)</i>	<i>Imagem (e)</i>	<i>Imagem (f)</i>
<i>Porosidade (%)</i>	20,71	22,78	23,91	14,92	27,74	27,95
<i>Irregularidade (%)</i>	5	6	3	8	8	5
<i>Assimetria Obtida (%)</i>	25	27	36	23	12	9
<b><i>Assimetria Artigo (%)</i></b>	<b>16</b>	<b>17</b>	<b>18</b>	<b>12</b>	<b>8</b>	<b>5</b>

Analisando-se a Tabela 4.7, nota-se que, à medida que a espessura da camada de topo da membrana diminui, da Figura 4.9a até 4.9f, a porosidade tende a aumentar, com exceção da Figura 4.9d, que apresentou um valor que não segue esta tendência, provavelmente devido à escolha dos parâmetros de processamento/análise da imagem, como o tom de cinza de corte, o tamanho mínimo de partícula e a circularidade mínima. Os valores de irregularidade ao longo do eixo horizontal apresentaram-se baixos, como esperado pela análise visual das imagens. Apesar de os valores de grau de assimetria obtidos neste trabalho terem sido maiores que os reportados por Torras e Garcia-Valls (2004), nota-se que existe correlação entre os dois conjuntos de valores com tendências de variação similar.

O terceiro conjunto de micrografias testado nesta etapa consistiu das imagens de seis membranas de polissulfona com variações morfológicas devido a alterações na composição do banho de coagulação (Figura 4.10). A síntese das membranas e a obtenção das micrografias foram realizadas por Kool (1998), mas as imagens foram

apresentadas também por Torras e Garcia-Valls (2004). Os resultados da análise realizada por estes últimos encontram-se na Tabela 4.8, juntamente com aqueles obtidos no presente trabalho.

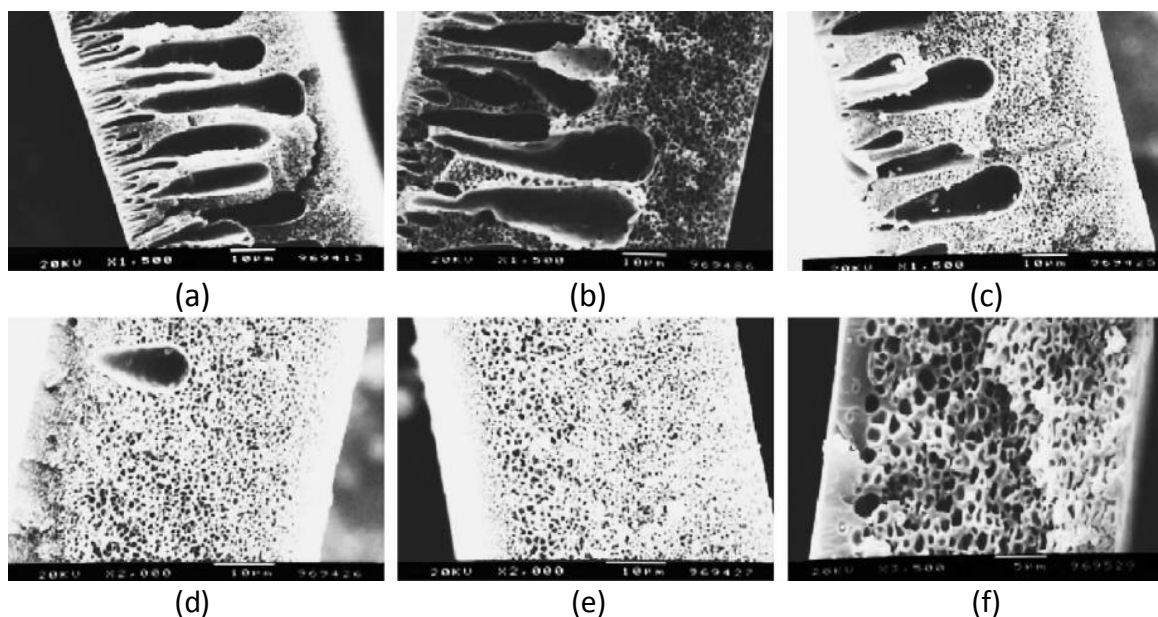


Figura 4.10: Micrografias de membranas de polissulfona fabricadas por Kool (1998). As imagens foram retiradas de Torras e Garcia-Valls (2004) e representam as variações morfológicas de membranas.

Tabela 4.8: Resultados obtidos na análise das membranas com variações morfológicas da Figura 4.10.

	<i>Imagem (a)</i>	<i>Imagem (b)</i>	<i>Imagem (c)</i>	<i>Imagem (d)</i>	<i>Imagem (e)</i>	<i>Imagem (f)</i>
Área média ( $\mu\text{m}^2$ )	17,089	11,45	3,162	0,854	0,734	0,444
Diâmetro Equivalente ( $\mu\text{m}$ )	4,665	3,818	2,006	1,043	0,967	0,752
Diâmetro de Feret ( $\mu\text{m}$ )	6,381	2,946	1,69	1,13	1,225	0,968
Porosidade (%)	29,24	46,64	33,85	15,30	12,66	13,13
Irregularidade (%)	29	11	4	20	9	16
Assimetria Obtida (%)	38	30	30	31	28	25
<b>Assimetria Artigo (%)</b>	<b>30</b>	<b>21</b>	<b>19</b>	<b>19</b>	<b>16</b>	<b>13</b>
<b>Tamanho Poro Artigo (<math>\mu\text{m}</math>)</b>	<b>2,167</b>	<b>1,589</b>	<b>1,49</b>	<b>0,841</b>	<b>0,465</b>	<b>0,503</b>

Na Tabela 4.8, analisando-se a linha das porosidades, observa-se que as maiores porosidades são referentes às Figuras 4.10a, 4.10b e 4.10c, o que está de acordo com o grande número de macrovazios presentes nestas imagens. Seguindo em ordem decrescente, tem-se a Figura 4.10d, que possui apenas um macrovazio, e depois as Figuras 4.10e e 4.10f, que não possuem macrovazios e apresentam valores de porosidade muito semelhantes.

Quanto ao grau de assimetria, foram obtidos valores que, de modo geral, coindiram com a sequência de aumento/diminuição do artigo, com exceção da Figura 4.10b. Além disso, as maiores irregularidades foram encontradas nas Figuras 4.10a e 4.10d, que possuem macrovazios maiores à direita.

Quanto ao tamanho de poro considerado pelo artigo, observa-se que tanto o diâmetro equivalente quanto o diâmetro de Feret médios foram maiores do que o calculado pelo artigo. Essas diferenças podem ter ocorrido devido à diferença na escolha do tom de cinza de corte e ao fato de ter sido necessário recortar e rotacionar as imagens para que a análise pela macro desenvolvida levasse em conta corretamente as direções vertical e horizontal definidas na Seção 4.2.

#### 4.4 Caracterização das membranas preparadas

Após analisar imagens de outros autores e comparar os parâmetros morfológicos calculados, procurou-se quantificar com a macro desenvolvida as micrografias das seções superficial e transversal de cada uma das membranas preparadas.

##### 4.4.1 Análise da camada de topo das membranas

As imagens obtidas com o MEV para a superfície de topo das membranas de poliétersulfona sintetizadas encontram-se na Figura 4.11. Não foi possível caracterizá-las quantitativamente, pois elas apresentaram poucos poros bem distribuídos que pudessem ser detectados pelo MEV e caracterizados pelo analisador de imagens.

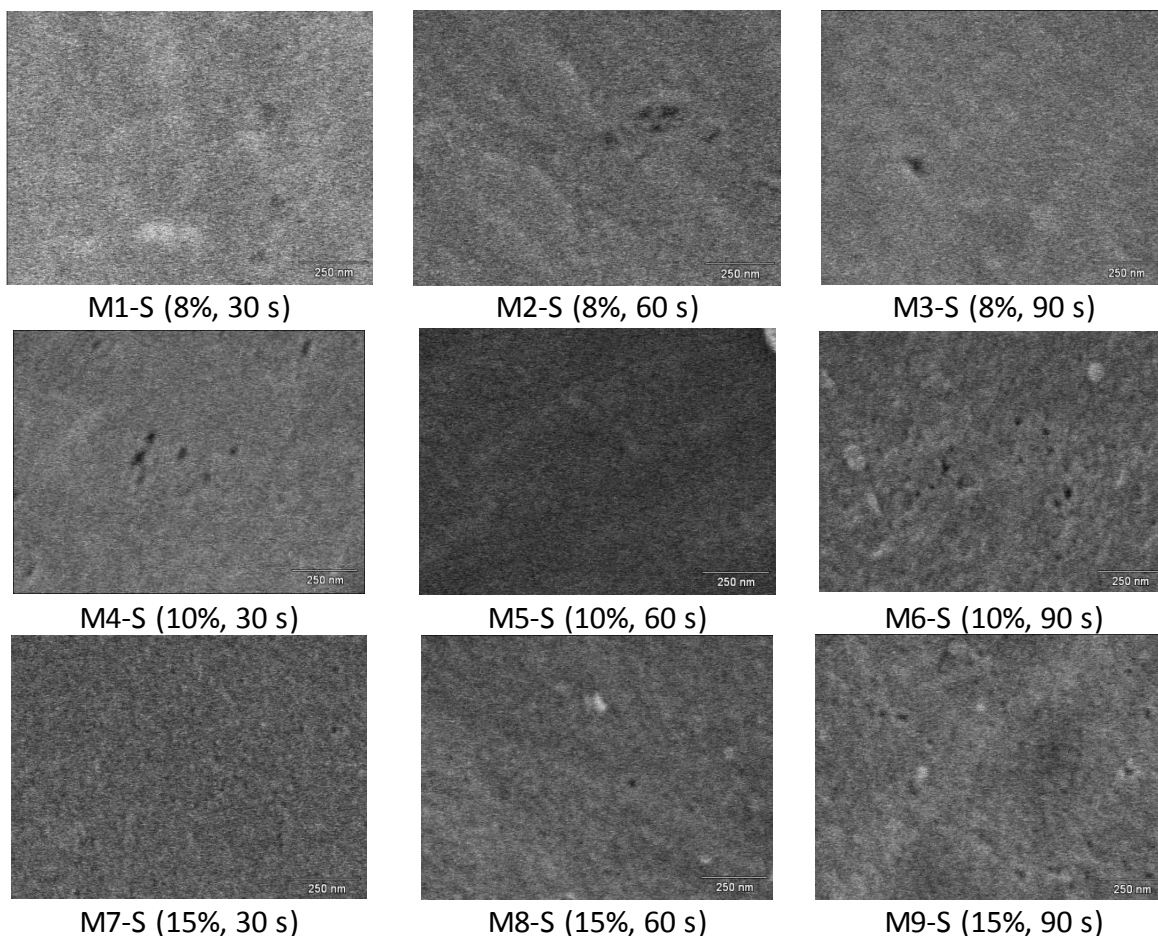


Figura 4.11: Micrografias obtidas com aumento de 100.000 vezes das superfícies de topo das membranas preparadas conforme referenciado na Tabela 3.1.

Os poucos poros visíveis nas imagens mostradas na Figura 4.11 foram de aproximadamente 0,1  $\mu\text{m}$  de diâmetro. Não sendo representativos, seria necessária a obtenção de imagens a partir de um microscópio de maior resolução para a caracterização da superfície de topo dessas membranas.

#### 4.4.2 Análise visual da seção transversal das membranas

As imagens das seções transversais das nove membranas preparadas encontram-se na Figura 4.12.

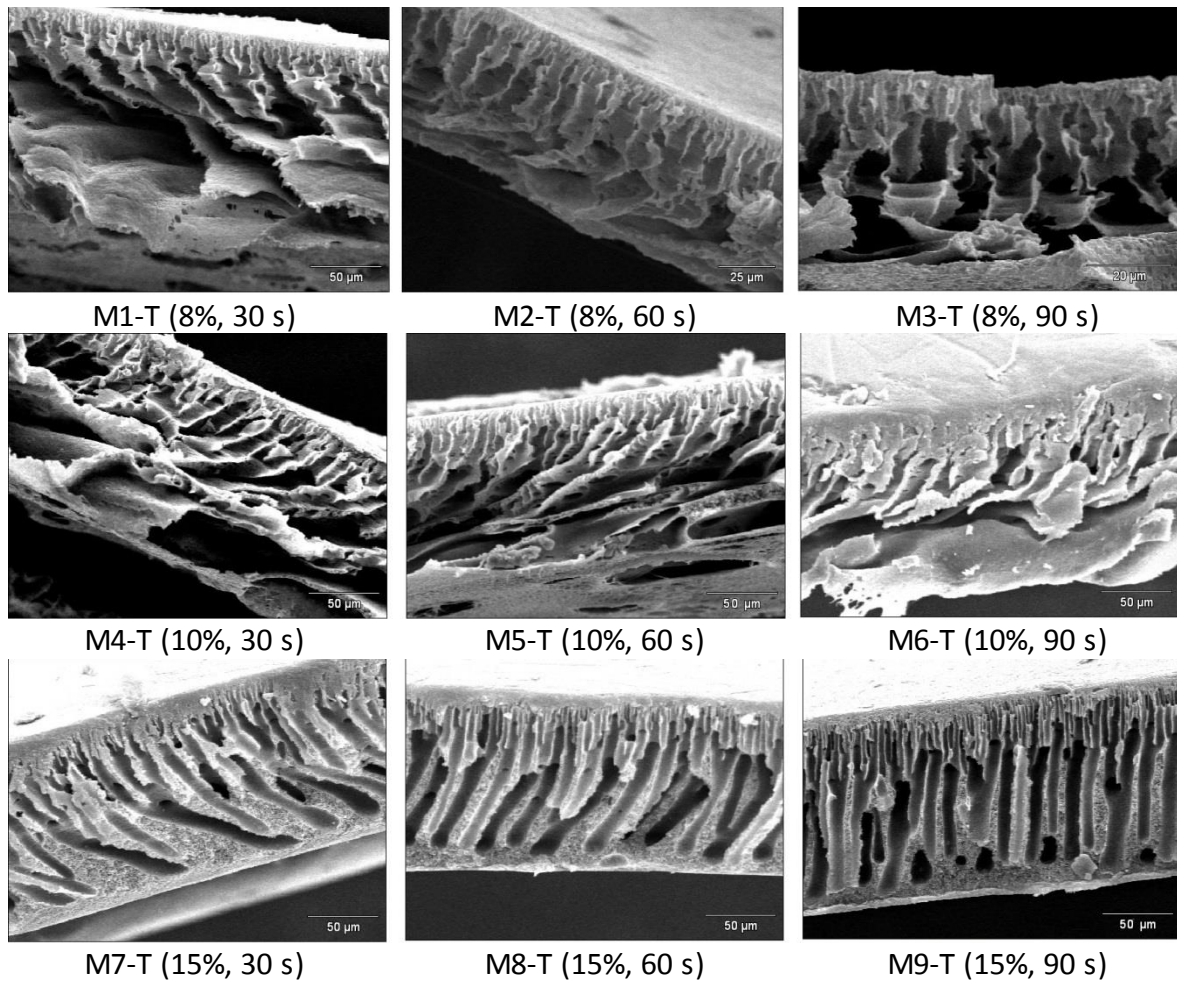


Figura 4.12: Micrografia das seções transversais das membranas de PES preparadas . Aumento de 500 vezes e energia de 20kV.

De maneira qualitativa, nota-se pelas imagens que, com o aumento da concentração de polímero na solução de espalhamento, os macrovazios tendem a ter uma área menor e são mais facilmente distinguidos uns dos outros. Ao mesmo tempo, com uma espessura maior da parede polimérica, é mais fácil identificar os pequenos poros da membrana. Isso se deve a uma taxa de transferência de massa mais lenta entre solvente e não-solvente durante o processo de precipitação no banho de não-solvente, com uma tendência à passagem da morfologia *finger-like* para uma morfologia *sponge-like*. Observa-se também que nas condições de preparação testadas, não foi possível obter uma morfologia esponjosa. Isto poderia ser atribuído à grande miscibilidade entre solvente e não-solvente. Porém, nota-se a tendência a tal mudança na imagem da membrana M9-T (Figura 4.12), na qual podem ser identificados alguns pequenos poros circulares no fundo da membrana.

Com um aumento do tempo de evaporação antes da imersão, observa-se também, uma tendência dos macrovazios se apresentarem na forma de canais menos inclinados e mais finos ao longo da espessura. O efeito da diminuição da inclinação é mais notável na concentração de 15% de poliétersulfona. A inclinação dos macrovazios de membranas que são rapidamente inseridas no banho pode estar relacionada à força exercida pelo líquido durante a imersão. Quando o tempo de evaporação é maior, a estrutura da membrana acaba se formando antes mesmo da imersão no banho pela evaporação de solvente e pela transferência de massa entre solvente da solução espalhada e não-solvente (água) presente no ar atmosférico sob a forma de umidade.

Nas amostras M3-T e M6-T, feitas com concentração da solução polimérica de 8% e 10% e tempo de espalhamento de 90 s, pode-se observar a presença de “fiapos”, que são resultantes, possivelmente, do processo de quebra com nitrogênio líquido, que foi dificultado já que tais membranas se apresentam flexíveis. Estes rasgos acabaram dificultando a distinção dos macrovazios na etapa de processamento das imagens.

Antes de discutir a etapa de processamento/análise das imagens das membranas produzidas, vale a pena lembrar que foi preparada apenas uma membrana para cada combinação de concentração e tempo de evaporação. Ainda, foi analisada apenas uma amostra de cada membrana. Para cada amostra, cinco imagens foram capturadas da seção transversal, das quais duas foram analisadas. Com vista em uma análise quantitativa mais acurada, um número maior de membranas deveria ser preparado e mais amostras deveriam ser analisadas de cada membrana. Porém, tal procedimento não foi realizado pela priorização do desenvolvimento de um programa automatizado para a análise das imagens.

#### 4.4.3 *Análise quantitativa da seção transversal das membranas*

Como discutido anteriormente, um parâmetro muito influente na quantificação foi a escolha do tom de cinza de corte no tratamento das imagens. No caso da seção transversal das membranas, com assimetrias e macrovazios, foi difícil estabelecer um padrão que pudesse ser considerado como correto para a escolha de tom de cinza de corte. Vários níveis de cinza foram testados para cada imagem e, com base em uma comparação visual, foi escolhido o mais adequado.

Porém, na análise estatística posterior de um experimento fatorial, a influência desses níveis de cinza foi grande. Com algumas alterações nesse parâmetro do tratamento da imagem, alguns dados que não se mostravam estatisticamente conclusivos pelo teste de Tukey na análise de variância (ANOVA), passaram a demonstrar uma relação estatisticamente conclusiva. Portanto, vale a pena ressaltar a limitação do resultado da quantificação pelo fato de não ter sido desenvolvido e definido um critério único para a escolha do tom de cinza de corte no tratamento da imagem, inclusive pelos diferentes níveis de qualidade das imagens.

Utilizou-se para todas as imagens a detecção de partículas com tamanho maior que  $0,01 \mu\text{m}^2$  e circularidade maior que 0,01, para que pontos de defeito não fossem detectados como sendo poros. O cálculo da assimetria foi feito com base em sete grupos de simetria e o cálculo da irregularidade com base em cinco grupos de simetria. Os valores de tom de cinza de corte adotados para as amostras encontram-se na Tabela 4.9. Foram analisadas duas imagens de cada tipo de membrana preparada neste trabalho. O resultado do processamento das imagens da Figura 4.12 é apresentado na Figura 4.13.

Tabela 4.9: Valores de tons de cinza de corte utilizados para as imagens obtidas para as nove membrans preparadas.

<i>Tom de Cinza de Corte</i>		<i>Tempo de Evaporação (s)</i>					
		30		60		90	
<i>Concentração da Solução Polimérica (%)</i>	8	104	130	86	74	72	102
	10	78	48	78	70	140	120
	15	120	116	124	110	70	68

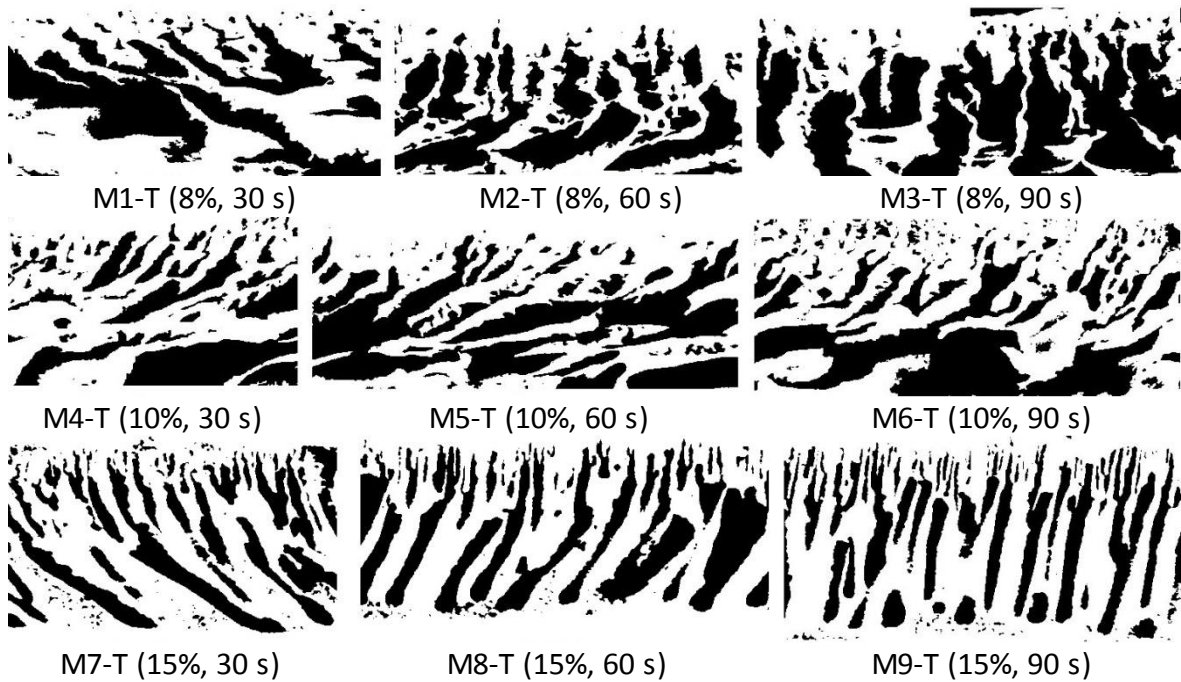


Figura 4.13: Imagens processadas das membranas preparadas pela técnica de inversão de fases por imersão-precipitação com diferentes combinações de concentração da solução polimérica e tempo de evaporação.

Os resultados do teste de Tukey a 5% de significância para cada parâmetro morfológico são apresentados nas Tabelas 4.10 (diâmetro de Feret médio), 4.11 (área média do poro), 4.12 (relação de aspecto média), 4.13 (assimetria), 4.14 e 4.15 (porosidade), 4.16 e 4.17 (irregularidade), 4.18 (coeficiente de correlação de Pearson entre a área do poro e a posição do poro no eixo y) e 4.19 (coeficiente de correlação de Pearson entre a relação de aspecto do poro e a posição do poro no eixo y). As médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem entre si a 5% de probabilidade, de acordo com o teste.

Tabela 4.10: Médias e grupos pelo teste de Tukey para o parâmetro morfológico diâmetro de Feret médio das imagens de seção transversal das membranas de PES preparadas.

<i>Diâmetro de Feret Médio (<math>\mu\text{m}</math>)</i>		<i>Tempo de Evaporação (s)</i>					
		30		60		90	
<i>Concentração da Solução Polimérica (%)</i>	8	17,269	aA	7,291	aB	3,922	bB
	10	13,984	abA	10,442	aA	8,807	abA
	15	9,244	bA	12,387	aA	11,541	aA
<i>Diferença mínima significativa</i>		5,480					



Com o aumento do tempo de evaporação, espera-se que a membrana se torne mais densa, ou seja, que apresente poros menores e em maior número. A análise do diâmetro de Feret médio pela Tabela 4.10 mostrou resultados estatisticamente iguais para as concentrações de 10% e 15%. Porém, para a concentração de 8%, verifica-se claramente a tendência de redução do tamanho do poro. Quanto à relação com a concentração, o resultado não se mostrou conclusivo, pois o diâmetro de Feret médio aumentou, manteve-se igual e diminuiu, respectivamente, nos tempos de evaporação de 30 s, 60 s e 90 s. Isso pode ter se devido à imprecisão na detecção dos poros da amostra M3-T (8%, 90 s), visto que tal membrana se mostrou muito flexível e em muitas partes acabou sendo rasgada ao invés de quebrada corretamente em nitrogênio líquido. Além disso, como a afinidade entre o DMAc e a água é alta, a troca entre solvente e não-solvente ocorre muito rapidamente, considerando a elevada umidade relativa do ar quando da preparação das membranas.

Tabela 4.11: Médias e grupos pelo teste de Tukey para o parâmetro morfológico área média do poro das imagens de seção transversal das membranas de PES preparadas.

Área Média do Poro ( $\mu\text{m}^2$ )		Tempo de Evaporação (s)					
		30		60		90	
Concentração da Solução Polimérica (%)	8	265,866	aA	129,869	aB	20,470	aC
	10	121,970	bA	146,601	aA	79,269	aA
	15	51,342	cA	89,094	aA	65,038	aA
Diferença mínima significativa		69,368					

A área média do poro diminuiu com o aumento da concentração em 30 s de tempo de evaporação, mas mostrou-se estatisticamente igual nos outros dois tempos, como pode ser observado na Tabela 4.11. Em relação ao tempo de evaporação, nota-se uma redução na área dos poros somente para a concentração de 8%, enquanto, nas outras concentrações, as médias são muito próximas. Na literatura, encontra-se que a diminuição dos poros ocorre com o aumento da concentração, visto que a taxa de transferência de massa entre solvente e não-solvente torna-se menor. Um maior tempo de evaporação apresentaria o mesmo efeito sobre a taxa de transferência de massa. Assim haveria menor tendência de formação de macrovazios, com uma morfologia esponjosa de poros menores e em maior número.

Tabela 4.12: Médias e grupos pelo teste de Tukey para o parâmetro morfológico relação de aspecto média das imagens de seção transversal das membranas de PES preparadas.

Relação de Aspecto Média		Tempo de Evaporação (s)					
		30		60		90	
Concentração da Solução Polimérica (%)	8	2,531	aA	1,888	bB	2,256	bAB
	10	2,467	aA	2,404	aA	2,241	bA
	15	2,341	aB	2,519	aAB	2,865	aA
Diferença mínima significativa		0,461					

Pela análise da Tabela 4.12, notou-se o aumento da relação de aspecto com a concentração para 60 s e 90 s como aumento da concentração, enquanto tal efeito não foi decisivo para 30 s. Esse resultado pode ser esperado visto que não houve de fato uma

mudança significativa da morfologia *finger-like* (maior relação de aspecto) para *sponge-like* (poros mais circulares e menor relação de aspecto). Nessas concentrações estudadas, houve mudança principalmente no formato do macrovazio, pois eles mantiveram sua altura, mas se mostraram menos largos. Isso pode ter resultado em um menor eixo mínimo por poro e, portanto, em uma maior relação de aspecto.

A influência do tempo de evaporação na relação de aspecto média não foi conclusiva. A 8% de concentração, a relação de aspecto diminuiu com o aumento do tempo, sendo que a última média pode ser inserida nos dois grupos. A 10%, as médias são estatisticamente iguais. Mas a 15%, pode-se considerar um aumento na relação de aspecto com o tempo.

Tabela 4.13: Médias e grupos pelo teste de Tukey para o parâmetro morfológico assimetria das imagens de seção transversal das membranas de PES preparadas.

Assimetria (%)		Tempo de Evaporação (s)					
		30		60		90	
Concentração da Solução Polimérica (%)	8	25,4	aB	42,7	aA	28,8	aB
	10	27,1	aB	48,6	aA	32,4	aB
	15	23,4	aA	20,7	bA	24,1	aA
Diferença mínima significativa		13,3					

Com o aumento da concentração da solução de espalhamento, as médias foram estatisticamente iguais para 30 s e 90 s, enquanto houve uma redução da assimetria no tempo de 60 s, como observado na Tabela 4.13. De modo geral, com o aumento da concentração, espera-se uma redução da assimetria pela tendência à formação de um menor número de macrovazios e poros mais circulares. A partir dos resultados obtidos neste trabalho, não foi possível estabelecer uma conclusão sobre a relação da assimetria com o tempo de evaporação.

Para os casos de porosidade e irregularidade, a interação entre as variáveis concentração e tempo não foi identificada como significativa. Então, são apresentados somente os testes de comparação de média para cada um destes parâmetros por separado. Nas Tabelas 4.14 e 4.16, constam os valores médios obtidos nas diferentes imagens das amostras. Nas Tabelas 4.15 e 4.17, são apresentadas as influências de cada um dos fatores (concentração da solução de espalhamento e tempo de evaporação) separadamente sobre o parâmetro morfológico especificado.

Tabela 4.14: Médias do parâmetro morfológico porosidade das imagens de seção transversal das membranas de PES preparadas.

Concentração da Solução Polimérica (%)	Porosidade (%)		
	Tempo de Evaporação (s)		
	30	60	90
8	54,1	51,7	50,5
10	42,5	43,5	41,7
15	33,8	40,4	37,5

Tabela 4.15: Médias e grupos para os fatores concentração e tempo de evaporação separadamente para o parâmetro morfológico porosidade das imagens de seção transversal das membranas de PES preparadas.

<i>Porosidade (%)</i>					
<i>Médias do fator concentração</i>			<i>Médias do fator tempo de evaporação</i>		
8%	52,1	a	30 s	43,5	a
10%	42,5	b	60 s	45,2	a
15%	37,2	c	90 s	43,2	a
<i>Diferença mínima significativa = 4,1</i>					

Nota-se, pela Tabela 4.15, uma clara redução da porosidade média com o aumento da concentração de polímero, que gera uma tendência à formação de membranas mais densas. Entretanto, o tempo de evaporação não mostrou influência estatisticamente significativa sobre a porosidade.

Tabela 4.16: Médias do parâmetro morfológico irregularidade das imagens de seção transversal das membranas de PES preparadas.

<i>Concentração da Solução Polimérica (%)</i>	<i>Irregularidade (%)</i>		
	<i>Tempo de Evaporação (s)</i>		
	30	60	90
8	5,9	8,4	9,3
10	12,5	7,2	7,5
15	9,0	5,1	5,8

Tabela 4.17: Médias e grupos para os fatores concentração e tempo de evaporação separadamente para o parâmetro morfológico irregularidade das imagens de seção transversal das membranas de PES preparadas.

<i>Irregularidade (%)</i>					
<i>Médias do fator concentração</i>			<i>Médias do fator tempo de evaporação</i>		
8%	7,9	a	30 s	9,1	a
10%	9,1	a	60 s	6,9	a
15%	6,7	a	90 s	7,5	a
<i>Diferença mínima significativa = 7,1</i>					

A irregularidade manteve-se baixa e estatisticamente igual, como apresentado nas Tabelas 4.16 e 4.17, respectivamente, independente das mudanças de concentração da solução de espalhamento e do tempo de evaporação antes do banho de coagulação.

O coeficiente de correlação linear de Pearson entre a posição do poro ao longo da espessura da membrana (centroide do poro) e a relação de aspecto/área apresentaram valores muito próximos de zero, como pode ser observado nas Tabelas 4.18 e 4.19, respectivamente. Assim, pode-se concluir que nem a relação de aspecto nem a área dos poros apresentaram um aumento ou diminuição linearmente proporcional à posição do

poro na espessura da membrana. Seria necessário outro tipo de análise de interação entre a posição do poro e os parâmetros morfológicos especificados.

Tabela 4.18: Coeficiente de correlação de Pearson entre a área do poro e sua posição ao longo da espessura da membrana das imagens de seção transversal das membranas de PES preparadas.

		<i>Correlação de Pearson Área vs. Espessura Membrana</i>			
		<i>Concentração (%)</i>			
		<i>8</i>	<i>10</i>	<i>15</i>	
<i>Tempo de evaporação (s)</i>	<i>30</i>	0,117	0,151	0,094	Média $\mu$
		0,053	0,065	0,090	Desvio Padrão $\sigma$
	<i>60</i>	0,193	0,180	-0,001	Média $\mu$
		0,013	0,098	0,006	Desvio Padrão $\sigma$
	<i>90</i>	0,180	0,165	-0,100	Média $\mu$
		0,018	0,018	0,028	Desvio Padrão $\sigma$

Tabela 4.19: Coeficiente de correlação de Pearson entre a relação de aspecto do poro e sua posição ao longo da espessura da membrana das imagens de seção transversal das membranas de PES preparadas.

		<i>Correlação de Pearson Relação de Aspecto vs. Espessura Membrana</i>			
		<i>Concentração (%)</i>			
		<i>8</i>	<i>10</i>	<i>15</i>	
<i>Tempo de evaporação (s)</i>	<i>30</i>	0,071	0,072	-0,072	Média $\mu$
		0,159	0,080	0,116	Desvio Padrão $\sigma$
	<i>60</i>	0,122	0,320	-0,182	Média $\mu$
		0,172	0,056	0,087	Desvio Padrão $\sigma$
	<i>90</i>	-0,001	0,229	-0,283	Média $\mu$
		0,100	0,086	0,060	Desvio Padrão $\sigma$

Vale ressaltar que a formação de membranas pelo processo de inversão de fases é um processo complexo que envolve muitos parâmetros, sendo que apenas alguns foram avaliados neste trabalho; por exemplo, a afinidade entre polímero e solvente e a afinidade entre solvente e não-solvente, o grau de cristalinidade e de polimerização do polímero também exercem influência na morfologia da membrana e alguns resultados podem parecer não condizentes com o esperado justamente pela influência destes outros parâmetros.

## 5 Conclusões e Sugestões para Trabalhos Futuros

A etapa de tratamento das imagens para a quantificação é dependente do operador, pois, até o momento, não foi desenvolvido um método padronizado na escolha do tom de cinza de corte. Como mostrado nesse trabalho, tal parâmetro é ajustado até encontrar similaridade visual entre a imagem original e a transformada em preto e branco. O método da amostragem prejudica a eficiência de uma análise de imagens automática e se aplica melhor à superfície de topo da membrana, com poros mais circulares e mais distinguíveis do que no caso da seção transversal com macrovazios. Portanto, a escolha do tom de cinza de corte ainda é uma limitação da análise de imagens.

Vale destacar também que a análise de micrografias oferece apenas resultados de uma parte da amostra da membrana. Para uma representação da membrana como um todo, seriam necessárias diversas micrografias para uma reconstrução da membrana em em três dimensões.

De um modo geral, os resultados das análises quantitativas dos parâmetros morfológicos das imagens de artigos apresentaram uma correlação com os valores reportados pelos autores, com tendências de variação similares.

As condições de preparo das membranas, tais como a concentração da solução de espalhamento e o tempo de evaporação antes da imersão, influenciam na morfologia das membranas. Para os parâmetros avaliados, as variações realizadas na concentração influenciaram na tendência à mudança da morfologia das membranas em maior grau do que os tempos de evaporação adotados.

Pela análise quantitativa, a influência de variações da concentração da solução polimérica se apresentou inconclusiva relativamente ao diâmetro de Feret do poro, assim como à assimetria e à irregularidade da membrana. Porém, com o aumento da concentração, puderam ser observados, a 95% de confiabilidade pelo teste de Tukey, os efeitos esperados de redução da porosidade da membrana, de redução da área média do poro, de aumento da relação de aspecto média do poro e da diminuição do grau de assimetria da membrana.

Variações no fator tempo de evaporação antes do banho de imersão não conduziram a resultados quantitativos conclusivos para a relação de aspecto média do poro, a assimetria, a porosidade e a irregularidade da membrana. Também com confiabilidade estatística de 95%, notou-se uma redução do diâmetro de Feret médio e da área média do poro, como esperado.

A partir de uma avaliação dos coeficientes de correlação de Pearson da área do poro e da relação de aspecto do poro em relação à sua posição no eixo perpendicular à seção de topo da membrana, para esse caso estudado, não se pode estabelecer uma relação linear entre tais parâmetros morfológicos.

Observou-se que a influência do operador também é uma condição de variabilidade no preparo de membranas em laboratório, pois, devido à não automatização de procedimentos, como a velocidade de espalhamento, os tempos de evaporação antes da imersão são variáveis. Ainda, o método de imersão da solução espalhada no banho pode resultar em aplicações de força diferentes ao longo da membrana, cuja resposta está relacionada com a viscosidade da solução, alterado seus aspectos morfológicos.

Para trabalhos futuros, seria recomendável o preparo de mais de uma membrana para cada combinação de concentração e tempo de evaporação, assim como a obtenção de micrografias de mais de uma amostra pra cada uma dessas membranas. Com essa repetibilidade, o erro associado ao operador poderia ser minimizado. Além disso, pode-se estudar o número de amostras mínimas necessárias para a validação da quantificação dos parâmetros na análise da influência das condições de preparo da membrana.

## Referências

ABDULLAH, S. Z.; BÉRUBÉ, P. R.; HORNE, D. J. SEM imaging of membranes: Importance of sample preparation and imaging parameters. **Journal of Membrane Science**, v. 463, n. 0, p. 113-125, 2014. ISSN 0376-7388. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0376738814002348> >.

CALVO, J. I. et al. Comparison of liquid–liquid displacement porosimetry and scanning electron microscopy image analysis to characterise ultrafiltration track-etched membranes. **Journal of Membrane Science**, v. 239, n. 2, p. 189-197, 2004. ISSN 0376-7388. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0376738804002509> >.

GHIGGI, F. F. Preparo e caracterização de membranas de ultrafiltração de polietersulfona/ftaloil-quitosana com propriedade *antifouling*. 2004. Mestrado em engenharia química. Programa de Pós-Graduação da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

C CARVALHO, R. B. D.; BORGES, C. P.; NOBREGA, R. Formação de membranas planas celulósicas por espalhamento duplo para os processos de nanofiltração e osmose inversa. **Polímeros**, v. 11, p. 65-75, 2001. ISSN 0104-1428.

HOŁDA, A. K. et al. Study of polymer concentration and evaporation time as phase inversion parameters for polysulfone-based SRNF membranes. **Journal of Membrane Science**, v. 442, n. 0, p. 196-205, 2013. ISSN 0376-7388. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0376738813002974> >.

KOOLS, W.F.C. Membrane formation by phase inversion in multicomponent polymer systems. Tese de Doutorado, 1998. ISBN 90-365-10961.

MADAENI, S. S.; BAKHTIARI, L. Thermodynamic-based predictions of membrane morphology in water/dimethylsulfoxide/polyethersulfone systems. **Polymer**, v. 53, n. 20, p. 4481-4488, 2012. ISSN 0032-3861. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0032386112005721> >.

MADAENI, S. S.; RAHIMPOUR, A. Effect of type of solvent and non-solvents on morphology and performance of polysulfone and polyethersulfone ultrafiltration membranes for milk concentration. **Polymers for Advanced Technologies**, v. 16, n. 10, p. 717-724, 2005. ISSN 1099-1581. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1002/pat.647> >.

RESEARCH SERVICES BRANCH. National Institute of Mental Health. National Institute of Neurological Disorders and Stroke. Disponível em: < <http://rsb.info.nih.gov/ij/macros/CustomTabStatFromResults.txt> >. Acesso em 1 de setembro de 2014.

SADRZADEH, M.; BHATTACHARJEE, S. Rational design of phase inversion membranes by tailoring thermodynamics and kinetics of casting solution using polymer additives. **Journal of Membrane Science**, v. 441, n. 0, p. 31-44, 2013. ISSN 0376-7388. Disponível em: <  
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0376738813002895> >.

SHE, F. H.; TUNG, K. L.; KONG, L. X. Calculation of effective pore diameters in porous filtration membranes with image analysis. **Robotics and Computer-Integrated Manufacturing**, v. 24, n. 3, p. 427-434, 2008. ISSN 0736-5845. Disponível em: <  
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0736584507000555> >.

TORRAS, C.; GARCIA-VALLS, R. Quantification of membrane morphology by interpretation of scanning electron microscopy images. **Journal of Membrane Science**, v. 233, n. 1-2, p. 119-127, 2004. ISSN 0376-7388. Disponível em: <  
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S037673880400050X> >.

TORRAS, C.; PUIG, D.; ÁNGEL GARCÍA, M. A new method to quantify parameters of membrane morphology from electron microscopy micrographs by texture recognition. **Chemical Engineering Science**, v. 66, n. 20, p. 4582-4594, 2011. ISSN 0009-2509. Disponível em: <  
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0009250911003897> >.

VAN DE WITTE, P. et al. Phase separation processes in polymer solutions in relation to membrane formation. **Journal of Membrane Science**, v. 117, n. 1-2, p. 1-31, 1996. ISSN 0376-7388. Disponível em: <  
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0376738896000889> >.

WANG, L.; WANG, X. Study of membrane morphology by microscopic image analysis and membrane structure parameter model. **Journal of Membrane Science**, v. 283, n. 1-2, p. 109-115, 2006. ISSN 0376-7388. Disponível em: <  
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0376738806004066> >.

ZHANG, Z. et al. Effect of zero shear viscosity of the casting solution on the morphology and permeability of polysulfone membrane prepared via the phase-inversion process. **Desalination**, v. 260, n. 1-3, p. 43-50, 2010. ISSN 0011-9164. Disponível em: <  
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0011916410003000> >.

ZIEL, R.; HAUS, A.; TULKE, A. Quantification of the pore size distribution (porosity profiles) in microfiltration membranes by SEM, TEM and computer image analysis. **Journal of Membrane Science**, v. 323, n. 2, p. 241-246, 2008. ISSN 0376-7388. Disponível em: <  
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S037673880800481X> >.



## Apêndices

### IA) Função desenvolvida para o cálculo da porosidade

```
//função porosidade: cálculo de pixels pretos/pixels totais
function calculoPorosidadePercent () {
    areaimagem=0; h=0;w=0; porosity=0;
    h=getHeight(); //em pixels
    w=getWidth(); //em pixels
    toScaled(w,h);
    areaimagem=h*w;
    porosity=100*TheTotalArea/areaimagem;
    return porosity;
}
```

### IB) Funções desenvolvidas para o cálculo da assimetria e da irregularidade

```
//cálculo simetria da membrana
function calculoAssimetria(){
    g=7; //número de grupos de simetria. Tem que ser múltiplo da altura total de pixels.
    alturaTotal=getHeight();
    larguraTotal=getWidth(); //numero de pixels.
    altura=alturaTotal/g; //altura de cada grupo
    farray=newArray(g);
    hinicial=0; hfinal=0;
    grauAssimetria=0;
    F=0;
    desvio=newArray(g);
    for (i=0;i<g;i++) { //cálculo do fator de cada grupo de simetria
        hinicial=altura*i;
        hfinal=altura*(i+1);
        countBlack = 0; countWhite=0;
        for (x = 0; x < larguraTotal; x++) {
            for(y =hinicial; y <hfinal; y++) {
                v = getPixel(x, y);
                if (v ==255) countBlack++;
                else if(v==0) countWhite++;
                else print("Erro na contagem dos pixels!");}
            }
        farray[i]=countBlack;
        F=F+countBlack;
    }
    for(i=0;i<g;i++) {
        desvio[i]=F/g-farray[i];
        grauAssimetria= grauAssimetria+abs((desvio[i])*100/F*(g-2)/(g-1));}
    return grauAssimetria;
}
```

```
//cálculo irregularidade da membrana
function calculoIrregularidade(){
    g=5; //número de grupos de simetria. Tem que ser múltiplo da altura total de pixels.
```

```

alturaTotal=getHeight();
larguraTotal=getWidth(); //numero de pixels.
largura=larguraTotal/g; //altura de cada grupo
farray=newArray(g);
xinicial=0; xfinal=0;
graulrregularidade=0;
F=0;
desvio=newArray(g);
for (i=0;i<g;i++) { //cálculo do fator de cada grupo de simetria
    xinicial=largura*i;
    xfinal=largura*(i+1);
    countBlack = 0; countWhite=0;
    for (y = 0; y < alturaTotal; y++) {
        for(x =xinicial; x <xfinal; x++) {
            v = getPixel(x, y);
            if (v ==255) countBlack++;
            else if(v==0) countWhite++;
            else print("Erro na contagem dos pixels!");}
        }
    farray[i]=countBlack;
    F=F+countBlack;
}
for(i=0;i<g;i++) {
    desvio[i]=F/g-farray[i];
    graulrregularidade= graulrregularidade+abs((desvio[i])*100/F*(g-2)/(g-1));}
return graulrregularidade;
}

```

### IC) Função desenvolvida para o cálculo do coeficiente de correlação de Pearson

```

// função cálculo coeficiente de correlação de Pearson
function Pearson(kind1,kind2) {
    r=-2;
    numerador=0;
    denominador=0;
    varx=0;
    vary=0;
    xmedio=sumColumnTab(kind1)/nResults();
    ymedio=sumColumnTab(kind2)/nResults();
    for (a=0; a<nResults(); a++) {
        x=getResult(kind1,a);
        y=getResult(kind2,a);
        numerador= numerador+ (x-xmedio)*(y-ymedio);
        varx=varx+(x-xmedio)*(x-xmedio);
        vary=vary+(y-ymedio)*(y-ymedio);
        denominador=sqrt(varx*vary);
        r=numerador/denominador;}
    return r;
}

```

## Anexos

### IA) Funções utilizadas para avaliação da área total de poros

Fonte: Research Services Branch -

<http://rsb.info.nih.gov/ij/macros/CustomTabStatFromResults.txt>

```
// ----- tab functions -----//

// function making stats from ImageJ Results Table values
function makeStatFromResults () {
    sumObject=0;TheTotalArea=0;meanObject=0; pearson=-2;
    // extraction from data from the Result Table:
    if (nResults() > 0 && isOpen("Results")) {
        if (columnLabelList ("Label") >=0) {label=getResultLabel (0);} else
{label="unknown";}
        if (columnLabelList ("Area") >= 0) {sumObject=sumColumnTab ("Area"); } else {exit
("No \"Area\" measurements in this Result Table");}
        if (columnLabelList ("Feret") >= 0) {sumFeret=sumColumnTab ("Feret"); } else {exit
("No \"Feret\" measurements in this Result Table");}
        if (columnLabelList ("AR") >= 0) {sumRA=sumColumnTab ("AR"); } else {exit ("No
\"AR\" measurements in this Result Table");}
        } else {exit ("No result table");}
    // Stat calculations:
    TheTotalArea = sumObject;
    if (nResults() != 0) meanObject = TheTotalArea/nResults();
    if (nResults() != 0) meanFeret=sumFeret/nResults();
    if (nResults() != 0) meanRA=sumRA/nResults(); }

// function getting the sum of the value from the column name contained in kind
function sumColumnTab (kind) {
    sum=0;
    if (columnLabelList (kind) >=0) {
        for (a=0; a<nResults(); a++) {
            sum=sum+getResult(kind,a); }
    return sum; }

// function returning the number of the column which name is contained in kind. return -
1 if doesn't exists
function columnLabelList (kind) {
    columnNumber=-1;
    if (nResults() > 0 && isOpen("Results")) {
        selectWindow("Results");
        results = getInfo();
        lines = split(results, "\n");
        headings = lines[0];
        titlesofcolumns = split(headings, "\t");
        for (a=0; a<titlesofcolumns.length; a++) {
            if (titlesofcolumns[a] == kind) columnNumber=a; } }
    return columnNumber; }
```

## IB) Macro completa para a criação de uma nova tabela de resultados com valores médios e soma total dos parâmetros área e perímetro

Fonte: Research Services Branch -

<http://rsb.info.nih.gov/ij/macros/CustomTabStatFromResults.txt>

```
// tab variables
var windowTabName="Stat Results
Table",nameOfStatTab="["+windowTabName+"]",label="",undoErase="";
// stat variables
var nbPerim=0,TheTotalArea=0,meanPerim=0,meanObject=0;

var xx = requires138x(); // check version at install time
function requires138x() {requires("1.38x"); return 0;}

macro "Get Demo Results" {
  // from DrawRandomDots author: Wayne Rasband
  // http://rsb.info.nih.gov/ij/macros/DrawRandomDots.txt
  setForegroundColor(0, 0, 0);
  windowTabName="Stat Results Table";nameOfStatTab="["+windowTabName+"]";
  setBatchMode(true);
  for (a=0; a<10; a++) {
    imageName= "Random Dot-"+(a+1);
    newImage("im", "8-bit White", 256, 256, 1); rename (imageName);
    dotSize = 25; width = getWidth(); height = getHeight();
    for (i=0; i<25; i++) {
      x = random()*width-dotSize/2;
      y = random()*height-dotSize/2;
      makeOval(x, y, dotSize, dotSize);
      run("Fill");    }
    run("Select None");
    run("Make Binary");
    run("Watershed");
    run("Set Measurements...", "area perimeter display redirect=None
decimal=2");
    run("Analyze Particles...", "size=0-Infinity circularity=0.00-1.00 show=Nothing
display clear include record ");
    close ();
    makeStatFromResults ();
    if (a==0) TabWindow (0); else TabWindow (1); } }

macro "Get stats from image analysis Results Table" {
  if (! isOpen("Results")) {exit ("No Results table")}
  undoErase = ""; windowTabName="Stat Results
Table";nameOfStatTab="["+windowTabName+"]";
  printChoice = "Add to the current table";
  if (isOpen(windowTabName)) {
    Dialog.create("Print table user choice:");
    Dialog.addMessage("Print the stats into a new tab or add them to the current
\"Stat from Results\" table?");
```

```

        Dialog.addChoice("Choice:", newArray("Add to the current table","New
table"),printChoice);
        Dialog.show();
        printChoice=Dialog.getChoice();
        if (printChoice == "Add to the current table") {addLine=1;} else {addLine=0;}
    } else {addLine=0;}
    makeStatFromResults ();
    TabWindow (addLine);  }

macro "-" {}
macro "Remove last table line" {rmLastLine ();}
macro "Undo remove last table line [z]" {undormLastLine ();}
macro "-" {}
macro "Save a \"Stat Results Table\" table window as Excel type file" {
    if (! isOpen(windowTabName)) {exit ("No Stat Results Table")}
    saveChoicePath="Ask for the file destination";
    imageFolder =getDirectory("image");
    if (imageFolder != "") {
        Dialog.create("Save user choice:");
        Dialog.addMessage("Save the tab file into the same repertory of the active
image\nor ask the path throught a dialog box?");
        Dialog.addChoice("Choice:", newArray("Save to the image path","Ask for the
file destination"),saveChoicePath);
        Dialog.show();
        saveChoicePath=Dialog.getChoice();  }
    // save the tab window asking the path to the user
    if (saveChoicePath=="Ask for the file destination") {
        imageFolder ="";
        saveTab (imageFolder);  }
    // save the tab window to the path to the active image
    if (saveChoicePath=="Save to the image path") {
        saveTab (imageFolder);  }  }

macro "Open a \"Stat Results Table\" table file saved as Excel type file" {
    requires("1.39d");
    path = File.openDialog("Select a File");
    name = File.getName(path);
    if (endsWith(name, ".xls")) {name=substring(name, 0, indexOf(name, ".xls"));} else
{exit ("This file doesn't seem to be an Excel type file.");}
    openTab (path,name);
}

// ----- tab functions -----//

// function making stats from ImageJ Results Table values
function makeStatFromResults () {
    sumObject=0;sumPerim=0;TheTotalArea=0;meanObject=0;meanPerim=0;
    // extraction from data from the Result Table:
    if (nResults() > 0 && isOpen("Results")) {

```

```

        if (columnLabelList ("Label") >=0) {label=getResultLabel (0);} else
{label="unknown";}
        if (columnLabelList ("Area") >= 0) {sumObject=sumColumnTab ("Area"); } else
{exit ("No \"Area\" measurements in this Result Table");}
        if (columnLabelList ("Perim.") >= 0) {sumPerim=sumColumnTab ("Perim."); }
else {exit ("No \"Perim.\" measurements in this Result Table");}
        } else {exit ("No result table");}
        // Stat calculations:
        TheTotalArea = sumObject;
        if (nResults() != 0) meanObject = TheTotalArea/nResults();
        if (nResults() != 0) meanPerim=sumPerim/nResults(); }

// function getting the sum of the value from the column name contained in kind
function sumColumnTab (kind) {
    sum=0;
    if (columnLabelList (kind) >=0) {
        for (a=0; a<nResults(); a++) {
            sum=sum+getResult(kind,a);}
        return sum; }

// function returning the number of the column which name is contained in kind.
return -1 if doesn't exists
function columnLabelList (kind) {
    columnNumber=-1;
    if (nResults() > 0 && isOpen("Results")) {
        selectWindow("Results");
        results = getInfo();
        lines = split(results, "\n");
        headings = lines[0];
        titlesofcolumns = split(headings, "\t");
        for (a=0; a<titlesofcolumns.length; a++) {if (titlesofcolumns[a] == kind)
columnNumber=a;} }
    return columnNumber; }

// function building/managing a table window
function TabWindow (addLine) {
    undoErase = "";
    if (! isOpen(windowTabName)) {
        run("New... ", "name="+nameOfStatTab+" type=Table");
        print(nameOfStatTab, "\\Headings:Slice Name\tCount Objects\tTotal
Area\tAverage Size\tMean Perim."); }
    if (addLine == 0) {print(nameOfStatTab, "\\Clear");}
    print(nameOfStatTab, label+ "\t" + nResults() + "\t" + TheTotalArea + "\t" +
d2s(meanObject,2) + "\t" + d2s(meanPerim,2));}

// function removing the last line of the tab
function rmLastLine () {
    if ( isOpen (windowTabName)) {
        selectWindow (windowTabName);
        tabContent = getInfo();

```

```

linesInTab = split(tabContent, "\n");
if (linesInTab[linesInTab.length-1] > 0) {
    print(nameOfStatTab, "\\Clear");
    resteLines="";
    for (i=1; i < (linesInTab.length -1); i++) {
        resteLines=resteLines+linesInTab[i] +"\n";    }
    if (linesInTab.length > 2) print (nameOfStatTab,resteLines);
    if (linesInTab.length > 1) undoErase=linesInTab[linesInTab.length-1];}}  }

// function restoring the last erased line in the table
function undormLastLine () {
    if (undoErase != "") print(nameOfStatTab,undoErase);
    undoErase="";  }

// saving a tab as excel type file
function saveTab (path) {
    if (isOpen(windowTabName)) {
        if (path == "") {
            selectWindow (windowTabName);
            run("Input/Output...", "jpeg=75 gif=-1 file=.xls");
            saveAs("Text");    }
        if (path != "") {
            selectWindow(windowTabName);
            saveAs("Text", path+windowTabName+".xls");    } } }

function openTab (path,name) {
    undoErase="";windowTabName=name;
    lines=split(File.openAsString(path), "\n");
    if (lines.length < 2) { exit ("This file doesn't seem to contain data");}
    headings = lines[0];
    titlesOfColumns = split(headings, "\t");
    nameOfStatTab="["+windowTabName+"]";
    if (isOpen(windowTabName)) {selectWindow(windowTabName) ;run("Close");}
    firstLine="";
    for (i=0; i < (titlesOfColumns.length); i++) {
        firstLine=firstLine+ titlesOfColumns [i];
        if ( i < (titlesOfColumns.length)-1) {firstLine=firstLine+ "\t";}    }
    toPrint="";
    for (i=1; i < (lines.length); i++) {
        toPrint=toPrint+lines[i]+"\n";    }
    run("New... ", "name="+nameOfStatTab+" type=Table");
    print(nameOfStatTab, "\\Headings:"+firstLine+"");
    print(nameOfStatTab,toPrint);    }

```