

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO DE CARLOS
CAMPUS SOROCABA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DOS MATERIAIS

LETÍCIA VIEIRA SAVAZI

**RELAÇÃO ESTRUTURA-ATIVIDADE EM COMPÓSITOS À BASE DE COBRE:
CORRELAÇÃO ENTRE COMPOSIÇÃO E ATIVIDADE BACTERICIDA**

Sorocaba - SP
2026

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO DE CARLOS
CAMPUS SOROCABA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DOS MATERIAIS

LETÍCIA VIEIRA SAVAZI

**RELAÇÃO ESTRUTURA-ATIVIDADE EM COMPÓSITOS À BASE DE COBRE:
CORRELAÇÃO ENTRE COMPOSIÇÃO E ATIVIDADE BACTERICIDA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Materiais da Universidade Federal de São Carlos, UFSCar – Campus Sorocaba, como parte dos requisitos para obtenção do título de MESTRE EM CIÊNCIA DOS MATERIAIS.

Orientador: Prof. Dr. Vagner Romito de Mendonça

Agência Financiadora: CAPES

Sorocaba - SP
2026

Savazi, Letícia Vieira

Relação estrutura-atividade em compósitos à base de cobre: correlação entre composição e atividade bactericida / Letícia Vieira Savazi -- 2026.
104f.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de São Carlos, campus Sorocaba, Sorocaba

Orientador (a): Vagner Romito de Mendonça

Banca Examinadora: Vagner Romito de Mendonça,
André Esteves Nogueira, Cleocir José Dalmaschio

Bibliografia

1. Compósitos de cobre. 2. Síntese solvotérmica. 3.
Atividade bactericida. I. Savazi, Letícia Vieira. II. Título.

Ficha catalográfica desenvolvida pela Secretaria Geral de Informática
(SIn)

DADOS FORNECIDOS PELO AUTOR

Bibliotecário responsável: Maria Aparecida de Lourdes Mariano -
CRB/8 6979

Folha de Aprovação

Defesa de Dissertação de Mestrado da candidata Letícia Vieira Savazi, realizada em 04/02/2026.

Comissão Julgadora:

Prof. Dr. Vagner Romito de Mendonça (IFSP)

Prof. Dr. André Esteves Nogueira (ITA)

Prof. Dr. Cleocir José Dalmaschio (UFES)

AGRADECIMENTOS

Agradecimentos ao orientador Prof. Dr. Vagner Romito de Mendonça, pela orientação atenciosa e constante ao longo deste trabalho. À Dr.^a Jéssica Cristina de Almeida, que me acompanha desde a Iniciação Científica e teve papel fundamental na minha formação, sempre disposta a ensinar, orientar e incentivar. Ao técnico de laboratório Douglas Mendes da Silva Del Duque, pela pronta assistência e suporte técnico nas atividades experimentais, e a Ronald de Jesus Monteiro Fidencio, pelo auxílio direto na síntese de diversas amostras. Agradeço, igualmente, a todos os colegas do grupo de pesquisa, pelo convívio, apoio e contribuições.

Agradeço a Deus e a Nossa Senhora Aparecida, por me guiarem com fé e proteção ao longo da jornada. Aos meus pais, Giani Aparecida Vieira Savazi e Ricardo Angelo Savazi, pelo amor, apoio incondicional e por sempre acreditarem na importância dos estudos e da ciência. Ao meu companheiro Frantz Sagbvagare Vieira e aos meus amigos, por estarem ao meu lado com encorajamento, escuta e amizade.

À Prof.^a Dr.^a Elaine Cristina Paris e à doutoranda Vannyla Viktória Viana Vasconcelos, da Embrapa Instrumentação, pelo suporte nos testes bactericidas. Ao Prof. Dr. Jeferson Almeida Dias, da Universidade Estadual de Campinas (Unicamp), pelo auxílio na análise dos dados Refinamento Rietveld.

Às instituições UFSCar, Embrapa Instrumentação e IFSP, pelo apoio e pelas condições oferecidas para a realização desta pesquisa.

Por fim, agradeço ao Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Materiais (PPGCM). O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

“Toda vez que um artigo científico apresenta alguns dados, eles vêm acompanhados por uma margem de erro — um lembrete silencioso, mas insistente, de que nenhum conhecimento é completo ou perfeito. É uma calibração de nosso grau de confiança naquilo que pensamos conhecer.”

Carl Sagan

RESUMO

O fenômeno da resistência antimicrobiana impulsiona a investigação de novos materiais, sendo os compósitos à base de cobre promissores devido ao baixo custo e aos múltiplos mecanismos de ação bactericida. Este trabalho investigou a correlação entre parâmetros de síntese solvotérmica, composição estrutural e atividade antimicrobiana de materiais à base de cobre. Utilizou-se planejamento fatorial 2^3 para avaliar a influência da concentração de monoetanolamina (MEA) (0,05 e 0,075 M), da temperatura (120 e 150°C) e do tempo de reação (5 e 20 h). A caracterização estrutural foi realizada por difração de raios X com quantificação de fases via Refinamento Rietveld, e por HRTEM, enquanto a morfologia foi analisada por MEV-FEG e as propriedades ópticas por DRS. Considerando o caráter proporcional das fases, os dados foram tratados por Análise de Dados Composicionais, complementada por ANOVA e regressão linear. As proporções relativas de CuO, Cu₂O e Cu⁰ variaram amplamente entre as condições experimentais, com predominância de Cu₂O em todos os ensaios (>58,8%), enquanto CuO e Cu⁰ atingiram valores máximos de 34,6% e 33,3%, respectivamente. A ANOVA indicou que a concentração de MEA foi o principal fator associado à variação das fases, influenciando significativamente a formação de CuO e Cu⁰; para CuO, observou-se também efeito da interação entre MEA e temperatura, enquanto Cu₂O apresentou maior sensibilidade ao tempo de síntese. No caso do Cu⁰, verificou-se influência tanto da concentração de MEA quanto do tempo de reação. A caracterização morfológica revelou microesferas hierárquicas constituídas por agregados nanométricos. A análise por HRTEM indicou franjas de rede compatíveis com os planos cristalográficos de Cu₂O e CuO, bem como domínios atribuídos ao Cu⁰, confirmando a coexistência das fases identificadas por DRX. Na avaliação biológica, os halos bactericidas variaram de 0 a 2,88 mm e os bacteriostáticos de 0 a 7,77 mm, sendo estes mais frequentes e extensos. Observou-se correlação positiva moderada entre CuO e efeito bactericida ($\rho = 0,48$) e negativa com Cu⁰ ($\rho = -0,49$). As rotas de síntese apresentaram repetibilidade entre séries independentes, mantendo-se a fase majoritária em todos os ensaios, e os resultados indicam associação entre variação composicional e resposta biológica no sistema investigado.

Palavras-chave: Compósitos de Cobre. Atividade Bactericida. Síntese Solvotérmica. Planejamento Fatorial. Refinamento Rietveld.

ABSTRACT

The phenomenon of antimicrobial resistance drives research into new materials, with copper-based composites showing promise due to their low cost and multiple bactericidal mechanisms of action. This study investigated the correlation between solvothermal synthesis parameters, structural composition, and antimicrobial activity of copper-based materials. A 2³ factorial design was used to evaluate the influence of monoethanolamine (MEA) concentration (0.05 and 0.075 M), temperature (120 and 150°C), and reaction time (5 and 20 h). Structural characterization was performed by X-ray diffraction with phase quantification via Rietveld refinement and by HRTEM, while morphology was analyzed by SEM-FEG and optical properties by DRS. Considering the proportional nature of the phases, the data were treated by Compositional Data Analysis, complemented by ANOVA and linear regression. The relative proportions of CuO, Cu₂O, and Cu⁰ varied widely among the experimental conditions, with Cu₂O predominating in all tests (>58.8%), while CuO and Cu⁰ reached maximum values of 34.6% and 33.3%, respectively. ANOVA indicated that the MEA concentration was the main factor associated with phase variation, significantly influencing the formation of CuO and Cu⁰; for CuO, an interaction effect between MEA and temperature was also observed, while Cu₂O showed greater sensitivity to synthesis time. In the case of Cu⁰, both the MEA concentration and reaction time were found to have an influence. Morphological characterization revealed hierarchical microspheres consisting of nanometric aggregates. HRTEM analysis indicated lattice fringes compatible with the crystallographic planes of Cu₂O and CuO, as well as domains attributed to Cu⁰, confirming the coexistence of the phases identified by XRD. In the biological evaluation, the bactericidal halos ranged from 0 to 2.88 mm and the bacteriostatic halos from 0 to 7.77 mm, the latter being more frequent and extensive. A moderate positive correlation was observed between CuO and bactericidal effect ($\rho = 0.48$) and a negative correlation with Cu⁰ ($\rho = -0.49$). The synthesis routes showed repeatability between independent series, maintaining the majority phase in all tests, and the results indicate an association between compositional variation and biological response in the investigated system.

Keywords: Copper Composites. Bactericidal Activity. Solvothermal Synthesis. Factorial Design. Rietveld Refinement.

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 3.1 Representação Geométrica do Planejamento Fatorial 2^3	25
Figura 5.1 Difrátogramas das amostras dos grupos A e B preparadas com 0,05 M de MEA. .	47
Figura 5.2 Difrátogramas das amostras dos grupos A e B preparadas com 0,075 M de MEA.	49
Figura 5.3 Exemplo de refinamento Rietveld realizado no software GSAS-II para identificação e quantificação das fases cristalinas presentes na amostra.	52
Figura 5.4 Distribuição das frações de fases (Cu^0 , Cu_2O e CuO) nas amostras A e B obtidas a partir do refinamento Rietveld.....	54
Figura 5.5 Gráficos de diagnóstico dos resíduos dos modelos de ANOVA para as fases CuO , Cu_2O e Cu^0	58
Figura 5.6 Imagens de HRTEM da amostra 05-120-5 B evidenciando franjas de rede de Cu_2O e CuO , com identificação dos espaçamentos interplanares correspondentes.....	60
Figura 5.7 Imagens de HRTEM da amostra 075-120-20 B evidenciando franjas de rede de Cu^0 , Cu_2O e CuO , com identificação dos espaçamentos interplanares correspondentes.....	61
Figura 5.8 Micrografias de MEV-FEG das amostras sintetizadas com 0,05 M de MEA em diferentes temperaturas e tempos. Cada linha detalha uma condição experimental, com aumentos sucessivos da esquerda para a direita.	62
Figura 5.9 Micrografias de MEV-FEG das amostras sintetizadas com 0,075 M de MEA em diferentes temperaturas e tempos. Cada linha detalha uma condição experimental, com aumentos sucessivos da esquerda para a direita.	63
Figura 5.10 Diâmetros médios e distribuição de tamanho das partículas sintetizadas com 0,05 M de MEA sob diferentes condições de temperatura e tempo.	65
Figura 5.11 Diâmetros médios e distribuição de tamanho das partículas sintetizadas com 0,075 M de MEA sob diferentes condições de temperatura e tempo.	66
Figura 5.12 Espectros de infravermelho (FTIR) das amostras sintetizadas com 0,05 M de MEA.	69
Figura 5.13 Espectros de infravermelho (FTIR) das amostras sintetizadas com 0,075 M de MEA.	70

Figura 5.14 Gráficos de Tauc para a determinação do band gap óptico E_g das amostras sintetizadas.	73
Figura 5.15 Resultados do ensaio de difusão em ágar evidenciando os halos de inibição das amostras sintetizadas via planejamento fatorial 2^3	76
Figura 5.16 Médias dos tamanhos dos halos de inibição (mm) para as atividades bacteriostática e bactericida em função das condições de síntese e dos grupos de amostras A e B.	78
Figura 5.17 Matriz de correlação de Spearman entre as atividades antimicrobianas e as proporções das fases cristalinas de cobre transformadas por coordenadas de razão logarítmica centralizada (clr).	80

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 4.1 Fatores e níveis do planejamento fatorial 2^3	36
Tabela 4.2 Matriz de experimentos do planejamento fatorial 2^3	37
Tabela 4.3 Resumo da preparação das amostras por síntese solvotérmica em múltiplos lotes.	38
Tabela 5.1 Resultados quantitativos do Refinamento Rietveld para os conjuntos de amostra A e B.	53
Tabela 5.2 Valores médios dos diâmetros dos halos obtidos pelo ensaio de difusão em ágar..	77

LISTA DE ABREVIATURAS

ARL: Additive Log-Ratio

CLR: Centered Log-Ratio

CoDA: Análise de Dados Composicionais

Cu⁰: Cobre Metálico

Cu₂O: Óxido de Cobre (I) ou Óxido Cuproso

CuNPs: Nanopartículas de Cobre

CuO: Óxido de Cobre (II) ou Óxido Cúprico

CuONPs: Nanopartículas de Óxidos de Cobre

DRS: Espectroscopia de Reflectância Difusa

DRX: Difração de Raios X

EDS: Espectroscopia de Energia Dispersiva

FTIR: Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier

HRTEM: Microscopia Eletrônica de Transmissão de Alta Resolução

ICSD: Banco de Dados de Estruturas de Cristais Inorgânicos (Inorganic Crystal Structure Database)

ILR: Isometric Log-Ratio

MEA: Monoetanolamina

MET: Microscopia Eletrônica de Transmissão

MEV-FEG: Microscopia Eletrônica de Varredura com Emissão de Campo

MIR: Infravermelho Médio

ROS: Espécies Reativas de Oxigênio

RSM: Análise de Superfície de Resposta

SEI: Imagem por Elétrons Secundários

UFC: Unidade Formadora de Colônia

UV-Vis: Ultravioleta-Visível

XPS: Espectroscopia de Fotoelétrons por Raios X

SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS	4
RESUMO	6
ABSTRACT	7
ÍNDICE DE FIGURAS	8
ÍNDICE DE TABELAS.....	10
LISTA DE ABREVIATURAS.....	11
1. INTRODUÇÃO.....	14
2. OBJETIVOS	16
2.1. Objetivo Geral.....	16
2.2. Objetivos Específicos.....	16
3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	17
3.1. A evolução do uso medicinal do cobre até a pandemia de COVID-19.....	17
3.2. Óxidos de Cobre	20
3.3. Síntese solvotérmica de partículas à base de cobre.....	22
3.4. Influência da monoetanolamina na síntese de partículas de cobre	23
3.5. Planejamento fatorial na otimização da síntese de materiais.....	24
3.6. Refinamento Rietveld para quantificação de fases de compósitos	26
3.7. Análise Estatística de Dados Composicionais	30
4. METODOLOGIA	35
4.1. Materiais e Reagentes	35
4.2. Procedimentos de Síntese.....	35
4.2.1. Protocolo de Síntese do Óxido Cúprico de Referência.....	35
4.2.2. Síntese dos Compósitos via Planejamento Fatorial 2 ³	35
4.3. Métodos de Caracterização	39
4.3.1. Análise Estrutural por Difração de Raios X	39
4.3.2. Refinamento Rietveld	40

4.3.3. Análise Morfológica por Microscopia Eletrônica de Varredura com Emissão de Campo	40
4.3.4. Análise por Microscopia Eletrônica de Transmissão de Alta Resolução.....	41
4.3.5. Análise por Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier...41	
4.3.6. Análise por Espectroscopia de Reflectância Difusa	42
4.3.7. Avaliação da Atividade Bactericida	42
4.3.8. Análise Estatística dos Dados	43
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	46
5.1. Análise Estrutural e Quantificação de Fases.....	46
5.1.1. Difração de Raios X.....	46
5.1.2. Refinamento Rietveld	52
5.1.3. Análise Estatística dos Dados de Rietveld.....	56
5.1.4. Análise Microestrutural por HRTEM	59
5.2. Análise Morfológica e Química Complementar	61
5.2.1. Análise Morfológica por MEV-FEG.....	61
5.2.2. Análise Quantitativa da Distribuição de Tamanho de Partículas.....	65
5.2.3. Análise Vibracional por FTIR.....	68
5.2.4. Análise das Propriedades Ópticas por DRS.....	71
5.3. Avaliação do Potencial Antimicrobiano dos Compósitos de Cobre	75
5.3.1. Análise da Atividade Bactericida dos Compósitos	75
5.3.2. Relação entre Composição de Fases e Atividade Antibacteriana	79
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS	82
7. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS.....	83
REFERÊNCIAS	84
APÊNDICE A - Código de análise em R	101

1. INTRODUÇÃO

O fenômeno da resistência antimicrobiana constitui um desafio para os sistemas de saúde em escala mundial, o que impulsiona a investigação de novos materiais com atividade bactericida (Zhai et al., 2025). Neste contexto, os compósitos e nanocompósitos à base de cobre são objeto de interesse científico devido à sua eficácia e ao seu custo relativamente baixo. A atividade desses materiais depende de sua composição e envolve múltiplos mecanismos associados às fases metálica (Cu^0), de óxido cuproso (Cu_2O) e de óxido cúprico (CuO). Cada fase contribui por meio de diferentes mecanismos, como a liberação de íons $\text{Cu}^+/\text{Cu}^{2+}$ e a geração de espécies reativas de oxigênio (ROS) (Gudkov et al., 2024; Harikumar; Aravind, 2016; Longano et al., 2011). A compreensão da correlação entre a proporção dessas fases e a eficácia antibacteriana resultante é, portanto, necessária para o desenvolvimento de materiais com desempenho otimizado.

A síntese de compósitos requer o controle sobre os parâmetros do processo. A rota solvotérmica é um método empregado para este fim, pois a reação em sistema fechado e sob pressão garante maior controle sobre a cristalinidade do material e a uniformidade do produto. Variáveis como temperatura, tempo de reação e a natureza do solvente influenciam a cinética de nucleação e crescimento, sendo fatores de grande impacto nas características finais do material (Chen et al., 2013; Gawande et al., 2016; Heydari et al., 2025).

Para modular o ambiente reacional na síntese solvotérmica de compostos de cobre, a monoetanolamina (MEA) tem sido reportada como um agente multifuncional. Sua atuação abrange a função de solvente e agente complexante até a de um redutor, capaz de promover a conversão de íons Cu^{2+} a estados de oxidação inferiores (Badillo-Ávila et al., 2018; Feng et al., 2022). Apesar do conhecimento de seu potencial, a literatura carece de um estudo que quantifique a influência combinada dos parâmetros de processo na presença de MEA.

Este trabalho propõe uma investigação da síntese solvotérmica de compósitos de cobre, utilizando um planejamento fatorial 2^3 para avaliar o impacto da temperatura, do tempo de reação e da concentração de monoetanolamina (MEA). A hipótese central sustenta que, por meio dessa abordagem metodológica, é possível modelar a relação entre as variáveis de processo e as características dos compósitos, permitindo identificar as condições que favorecem a formação das fases cristalinas associadas a uma maior eficácia bactericida. Diante disso, o objetivo geral deste estudo é estabelecer a correlação entre os parâmetros de síntese, a composição estrutural e a atividade bactericida dos materiais obtidos. Para tal, os materiais sintetizados via planejamento experimental são caracterizados por um conjunto de técnicas,

incluindo difração de raios X (DRX), microscopia eletrônica de varredura (MEV-FEG), espectroscopia no infravermelho (FTIR) e de refletância difusa (DRS), com a quantificação das frações em massa das fases cristalinas realizada pelo Refinamento Rietveld. A eficácia antimicrobiana frente à bactéria *Staphylococcus aureus* é correlacionada à composição das fases utilizando ferramentas da Análise de Dados Composicionais (CoDA) e coeficientes de correlação de Spearman. A estrutura desta pesquisa compreende, inicialmente, a fundamentação teórica sobre o histórico medicinal do cobre, as propriedades de seus óxidos, os princípios da síntese solvotérmica e os fundamentos do planejamento fatorial e do refinamento Rietveld. Em seguida, a metodologia detalha os protocolos experimentais e as técnicas analíticas empregadas. A seção de resultados apresenta a caracterização estrutural, morfológica e óptica, discutindo a relação entre a composição de fases e o potencial antimicrobiano observado. O trabalho se encerra com as considerações finais, que sintetizam os principais achados.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

Estudar compósitos contendo diferentes proporções das fases Cu, Cu₂O e CuO, sintetizados por método solvotérmico com MEA, visando estabelecer relações entre a composição cristalina, a estrutura do material e sua atividade bactericida.

2.2. Objetivos Específicos

Com vistas a alcançar o objetivo geral deste estudo, delineiam-se os seguintes objetivos específicos:

- I. Investigar a influência dos parâmetros de síntese (temperatura, tempo e concentração de monoetanolamina) sobre a composição química e a cristalinidade dos produtos, a partir de um planejamento fatorial completo 2³.
- II. Caracterizar as fases cristalinas presentes nas amostras e realizar o refinamento estrutural, com o propósito de quantificar a fração em massa de cada fase (Cu, Cu₂O e CuO).
- III. Avaliar a atividade antimicrobiana dos compósitos sintetizados frente à bactéria Gram-positiva *Staphylococcus aureus*, por intermédio de ensaios microbiológicos.
- IV. Analisar a correlação entre os parâmetros de síntese, a distribuição relativa das fases Cu, Cu₂O e CuO, e a atividade bactericida do material, por meio de abordagens estatísticas, de modo a compreender como a variação na composição cristalina influencia o desempenho antimicrobiano.

3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1. A evolução do uso medicinal do cobre até a pandemia de COVID-19

O cobre possui uma longa história de uso medicinal, sendo reconhecido por suas propriedades curativas e profiláticas por diversas civilizações. Essa longa trajetória demonstra um entendimento empírico das capacidades antimicrobianas do metal, que foi gradualmente validado e expandido pelo conhecimento científico moderno (Dakhore et al., 2024; Yu et al., 2024).

As primeiras aplicações medicinais do cobre foram registradas por diversas civilizações que, de forma independente, reconheceram suas qualidades terapêuticas. Os primeiros registros documentados do uso medicinal do cobre remontam ao Egito Antigo, entre 2600 e 2200 a.C., onde os textos médicos prescreviam o metal para a esterilização de água potável e o tratamento de feridas, visando prevenir infecções (Grass; Rensing; Solioz, 2011). Na Grécia Antiga, Hipócrates, por volta de 400 a.C., também descreveu o uso do cobre para tratar ulcerações. Preparações como pó de óxido cúprico (CuO) e sulfato de cobre (CuSO₄) eram aplicadas em feridas, enquanto misturas de mel e óxido cuproso (Cu₂O) serviam como antissépticos (Bisht et al., 2022; Gemi-Iordanou et al., 2014). Posteriormente, civilizações como a romana e a asteca incorporaram o cobre e seus compostos em seus arsenais terapêuticos para tratar uma gama de enfermidades, incluindo cefaleias, queimaduras, infecções de ouvido e parasitoses intestinais, além de sua aplicação em práticas de higiene geral (Borkow; Gabbay, 2009; Govind et al., 2021; Ramos-Zúñiga; Bruna; Pérez-Donoso, 2023).

Após um longo período, o potencial medicinal do cobre foi revisitado sob uma ótica mais científica no século XIX. Em 1832, foi constatado por meio de uma observação epidemiológica de trabalhadores que atuavam em fundições de cobre pareciam apresentar certa imunidade à cólera durante as epidemias (Browne, 1883). Essa percepção impulsionou o uso de diversas formulações inorgânicas de cobre para o tratamento de condições como adenite crônica, escrofulose, sífilis, eczema e neuralgia facial (Božić Cvijan; Korać Jačić; Bajčetić, 2023). Contudo, o advento e a comercialização em larga escala de antibióticos, a partir da década de 1930, provocaram um declínio no interesse e na pesquisa de antimicrobianos baseados em metais (Payerchin, 2023). O cobre foi relegado a um segundo plano, e sua importância como nutriente essencial para a saúde humana só foi confirmada após 1960, quando estudos demonstraram que a suplementação com cobre poderia reverter quadros de anemia, neutropenia e defeitos ósseos em crianças desnutridas que não respondiam à terapia com ferro (Aslam et al., 2018; Cordano, 1998; Raha et al., 2020).

No final do século XX, a emergência da resistência a múltiplos fármacos em patógenos bacterianos reacendeu o interesse científico nas propriedades antimicrobianas do cobre, conhecidas desde a antiguidade. Essa redescoberta impulsionou a pesquisa moderna a elucidar os complexos mecanismos pelos quais o cobre exerce sua atividade biocida (Ballo et al., 2016; Mertens et al., 2022).

Em 1973, pesquisadores dos Laboratórios Battelle Columbus realizaram uma revisão abrangente da literatura sobre as propriedades bacteriostáticas e sanitizantes do cobre e de suas ligas metálicas. Os estudos demonstraram que, mesmo em pequenas quantidades, o cobre possui a capacidade de inibir e controlar uma ampla variedade de microrganismos, incluindo fungos, algas, vírus e bactérias (Dick; Johnston; Wray, 1973; Liu et al., 2014). Posteriormente, um artigo investigou os mecanismos antimicrobianos do cobre, evidenciando que tais mecanismos são complexos e multifacetados, ocorrendo tanto no interior das células quanto nos espaços intersticiais entre elas (Thurman; Gerba; Bitton, 1989).

Fundamentalmente, a ação antimicrobiana do cobre se dá por duas vias principais. A primeira envolve a indução de estresse oxidativo através da geração de espécies reativas de oxigênio (ROS). Em níveis elevados, o cobre intracelular participa de reações redox semelhantes às de Fenton e Haber-Weiss, nas quais o Cu(I)/Cu(II) interage com peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e outras moléculas oxidantes para formar radicais altamente reativos, como o radical hidroxila ($\cdot OH$) e o ânion superóxido ($O_2^{\cdot -}$) (Komarnicka et al., 2022; Salah; Parkin; Allan, 2021). Estes radicais oxidativos promovem peroxidação lipídica, oxidação de proteínas e danos ao DNA, comprometendo funções celulares essenciais (Ermini; Voliani, 2021; Husain; Mahmood, 2019; Vo et al., 2024).

A toxicidade do cobre mediada por ROS não se restringe a condições aeróbicas. Estudos demonstraram que a inibição do crescimento bacteriano pelo cobre pode ser ainda mais forte em ambientes anaeróbicos do que em aeróbicos, sugerindo que múltiplos mecanismos de toxicidade operam simultaneamente (Ramos-Zúñiga; Bruna; Pérez-Donoso, 2023). O cobre pode gerar ROS mesmo na ausência de oxigênio molecular (O_2), via reações do tipo Fenton utilizando peróxidos endógenos. Os radicais hidroxila formados nesse contexto são altamente reativos e apresentam baixa especificidade, atacando de maneira indiscriminada praticamente todos os componentes celulares (Tan et al., 2017; Zuily et al., 2022). Este aspecto possui relevância do ponto de vista experimental, uma vez que o cobre pode impor forte pressão seletiva sobre populações microbianas, dificultando o surgimento de resistência baseada em mutações em um único alvo molecular (Ramos-Zúñiga; Bruna; Pérez-Donoso, 2023).

O segundo mecanismo de ação antimicrobiana do cobre envolve dano direto à membrana plasmática de microrganismos. Quando superfícies metálicas de cobre ou soluções contendo íons $\text{Cu}^+/\text{Cu}^{2+}$ entram em contato com células bacterianas, observa-se uma perda rápida da integridade da membrana, frequentemente em questão de minutos (Grass; Rensing; Solioz, 2011; Vincent et al., 2018). Ensaio baseado em *Live/Dead staining* (SYBR Green e iodeto de propídio) demonstram aumento significativo da permeabilidade da membrana logo após curtos períodos de exposição ao cobre metálico (Salah; Parkin; Allan, 2021).

Esse dano à membrana está associado a processos de oxidação não enzimática dos ácidos graxos insaturados presentes nos fosfolipídios da membrana celular. O cobre atua como catalisador de reações redox que promovem a geração ROS, desencadeando a peroxidação de ácidos graxos poli-insaturados e a formação de peróxidos lipídicos e aldeídos reativos (Hong et al., 2012; Zhao et al., 2025). Esses produtos oxidativos provocam alterações estruturais na bicamada lipídica, incluindo distorções conformacionais das cadeias de carbono, aumento da rigidez da membrana e formação de ligações cruzadas entre lipídios e proteínas (Yadav et al., 2019).

Embora esse processo seja frequentemente mais pronunciado em bactérias gram-negativas, devido à maior proporção de ácidos graxos insaturados em suas membranas e à vulnerabilidade da membrana externa, evidências recentes indicam que mecanismos semelhantes também contribuem para a inativação de bactérias gram-positivas, ainda que com diferenças na cinética e nos alvos moleculares predominantes (Hong et al., 2012; San et al., 2015). A degradação oxidativa da membrana resulta na perda progressiva da função de barreira seletivamente permeável, levando ao vazamento de íons e metabólitos essenciais, como potássio (K^+) e aminoácidos (Seixas et al., 2022). Esse desequilíbrio osmótico e metabólico contribui para a desidratação celular, colapso do potencial de membrana e, em conjunto com outros danos oxidativos intracelulares, culmina na morte bacteriana (Xie et al., 2024). Este fenômeno, conhecido como "morte por contato" (*contact killing*), resulta na eliminação dos patógenos em superfícies de cobre (Chang et al., 2021; Mathews et al., 2013; Vincent et al., 2018).

A relevância dessas propriedades tornou-se ainda mais evidente durante a pandemia de COVID-19. A infecção pelo SARS-CoV-2, para além dos conhecidos sintomas respiratórios, demonstrou causar significativas complicações gastrointestinais (Bourgonje et al., 2020). O vírus invade as células do revestimento intestinal (enterócitos) utilizando receptores ACE2, causando inflamação e danos que levam à má absorção de nutrientes. Notavelmente, essa condição afeta a absorção de micronutrientes essenciais como o cobre (Cu) e o zinco (Zn), cuja

deficiência pode comprometer a resposta imune e agravar o quadro da doença (Francis et al., 2022; Rani et al., 2021).

Neste cenário, o cobre atua de várias formas contra o SARS-CoV-2. Além de ser um elemento crucial para o fortalecimento do sistema imunológico, ele aplica diretamente seus mecanismos virucidas. Estudos demonstraram a eficácia da "morte por contato", com o SARS-CoV-2 sendo completamente inativado em superfícies de cobre em apenas 4 horas, em contraste com as 48 a 72 horas de sobrevivência em aço inoxidável ou plástico (Cortes; Zuñiga, 2020; Ramos-Zuñiga; Bruna; Pérez-Donoso, 2023; Román et al., 2022; Tortella et al., 2022). Essa ação é atribuída ao dano direto causado ao envelope viral e à degradação de seu material genético (RNA), impedindo que o vírus continue infeccioso (Raha et al., 2020).

A vanguarda da pesquisa atual é marcada pela associação entre o cobre e a nanotecnologia. O desenvolvimento de nanopartículas de cobre (CuNPs) e de seus óxidos (como CuONPs), que se destacam pela versatilidade e baixo custo, demonstrou uma alta eficácia antimicrobiana. Isso se deve à sua elevada razão superfície-volume, que potencializa a liberação de íons e a reatividade (Rakshit et al., 2025). Essa inovação encontrou aplicação direta no combate à pandemia, com a incorporação de CuNPs em equipamentos de proteção individual (EPIs), como máscaras e tecidos, que se mostraram capazes de neutralizar mais de 99,9% do vírus em minutos de contato (Román et al., 2022).

3.2. Óxidos de Cobre

Os óxidos de cobre e seus sistemas de múltiplas fases constituem uma classe de materiais com um amplo espectro de aplicações, em grande parte devido à habilidade do cobre em apresentar diferentes estados de oxidação, especialmente Cu (0), Cu (I) e Cu (II). O óxido de cobre (II) (CuO) e o óxido de cobre (I) (Cu₂O) correspondem às fases de cobre mais estudadas em função de suas características estruturais e propriedades físico-químicas.

O CuO é um semicondutor do tipo p caracterizado por uma banda proibida (*band gap*) relativamente estreita, variando entre 1,2 e 1,7 eV. Essa faixa de *band gap* permite a absorção de luz em praticamente todo o espectro visível, conferindo ao material sua cor preta característica (Korell et al., 2024; Yang et al., 2016). Trata-se de um semicondutor de *band gap* indireto, o que significa que a transição de elétrons entre a banda de valência e a banda de condução requer a participação de um fônon para conservação do momento (Akter et al., 2021; Saleem et al., 2022).

O CuO apresenta uma estrutura monoclínica termodinamicamente estável, pertencente ao grupo espacial $C2/c$. Essa forma, conhecida como tenorita, é a mais comum tanto na natureza quanto nas sínteses convencionais. Na célula unitária da tenorita, cada átomo de cobre está coordenado a quatro átomos de oxigênio em uma geometria quadrado-planar, enquanto cada oxigênio está ligado a quatro átomos de cobre em um arranjo aproximadamente tetraédrico (Gherasim et al., 2022; Mohammed Ali et al., 2022). Além da tenorita, existe também uma forma polimórfica cúbica do CuO, pertencente ao grupo espacial $Fm-3m$. No entanto, essa fase cúbica é metaestável, não ocorre naturalmente nem em condições convencionais de síntese, tendo sido observada apenas em soluções sólidas com outros óxidos cúbicos, ele se acomoda temporariamente mantendo a estrutura cúbica da matriz hospedeira (Cao et al., 2018; Schmahl; Eikerling, 1968).

Por sua vez, o Cu_2O , conhecido como cuprita, é o óxido de cobre com menor grau de oxidação, apresentando o cobre no estado +1. Esse material cristaliza em uma estrutura cúbica de simetria $Pn3m$, na qual os átomos de cobre possuem coordenação bidimensional (2-coordenada) com geometria tetraédrica (Živković et al., 2022). Sua cor característica varia do vermelho ao marrom-avermelhado, resultado da configuração eletrônica d^{10} , que limita as transições eletrônicas $d-d$. Em comparação com o CuO, o Cu_2O apresenta um *band gap* direto mais amplo, variando entre 2,1 e 2,6 eV (McWilliams et al., 2019; Yan et al., 2014).

Nesse tipo de semicondutor, a transição de elétrons da banda de valência para a banda de condução ocorre sem necessidade de mudança no momento, favorecendo processos ópticos mais eficientes (Nilius; Goniakowski; Noguera, 2024). As propriedades eletrônicas e ópticas do Cu_2O , como sua elevada mobilidade de portadores de carga, são influenciadas por fatores como morfologia e grau de cristalinidade que podem ser controlados por meio de diferentes métodos de síntese. Devido ao seu *band gap* relativamente largo, o Cu_2O é transparente à luz infravermelha e vermelha, mas absorve fortemente as regiões verde, azul e violeta do espectro (Al-Saeedi et al., 2021; Gupta et al., 2018; Rakshit et al., 2025). Nos últimos anos, tem-se avançado no desenvolvimento de compósitos multifásicos, como Cu/Cu_2O , Cu_2O/CuO e $Cu/Cu_2O/CuO$, que visam combinar as propriedades individuais das fases constituintes (Ali et al., 2022; Lam et al., 2022; Li et al., 2024b).

Este conjunto de propriedades, abrangendo desde as fases individuais até os compósitos, viabiliza o uso dos óxidos de cobre em inúmeras frentes tecnológicas. Na remediação ambiental, são utilizados como fotocatalisadores para a degradação de poluentes orgânicos, como corantes e antibióticos em águas residuais, e para a redução de dióxido de carbono (CO_2) (Akter et al., 2021; Ali et al., 2022). Em eletrônica, esses materiais se destacam em sensores de gás,

especialmente para a detecção de dióxido de nitrogênio (NO_2), e como componentes para células solares e dispositivos de armazenamento de energia, como supercapacitores (Li et al., 2024b). Além disso, a capacidade de atuar contra uma ampla variedade de bactérias Gram-positivas e Gram-negativas faz com que esses materiais se destaquem como possíveis substitutos aos antibióticos convencionais (Chakraborty et al., 2022).

3.3. Síntese solvotérmica de partículas à base de cobre

A fabricação desses materiais é viabilizada por uma diversidade de rotas de síntese. Métodos como precipitação, hidrotérmico, sol-gel e combustão permitem um controle mais preciso sobre a fase, o tamanho e a morfologia das partículas (Gherasim et al., 2022). Uma tendência é a adoção de métodos de síntese verde (*green synthesis*), que empregam extratos biológicos (de plantas, algas ou bactérias) como agentes redutores e estabilizadores, configurando uma abordagem que utiliza reagentes de fontes renováveis e minimiza a geração de subprodutos tóxicos (Akintelu et al., 2020; Chakraborty et al., 2022; Waris et al., 2021). Ademais, destaca-se também a síntese solvotérmica, que permite o controle da morfologia e do tamanho das partículas, resultando em modificações nas propriedades dos materiais finais (Li et al., 2024b; Sasmal; Nayak, 2023; Stephen et al., 2025).

A síntese solvotérmica é um processo químico realizado em um sistema fechado, tipicamente uma autoclave de aço inoxidável revestida de teflon. Essa rota emprega solventes orgânicos ou misturas solvente-água, conduzidas sob condições de temperatura e pressão moderadamente superiores às condições ambientes (Caguana et al., 2025; Dias et al., 2022). Essa técnica permite a formação de materiais com alta cristalinidade e pureza, diretamente da solução. Além disso, fornece controle sobre a morfologia das partículas (Belew; Assege, 2025; Jaji et al., 2021).

A síntese do óxido de cobre (II) (CuO) por rota solvotérmica envolve, de modo geral, a dissolução de um sal precursor em um solvente, formando inicialmente uma solução homogênea (Belew; Assege, 2025). Em seguida, o precursor dissolve-se e sofre hidrólise no meio solvente, formando uma solução supersaturada de íons de cobre. Quando o produto de solubilidade é excedido, ocorre a nucleação homogênea, resultando na formação de núcleos cristalinos de óxido de cobre. O crescimento subsequente desses núcleos é controlado pela difusão dos reagentes até a superfície das partículas (Jin et al., 2023). O uso de solventes orgânicos, como etanol, é comum na rota solvotérmica, pois permite maior controle sobre a

nucleação e crescimento dos cristais, além de possibilitar síntese a temperaturas relativamente baixas (Karalkeviciene et al., 2022; Nguyen et al., 2024).

Na síntese solvotérmica de materiais à base de cobre, a seleção do precursor influi nas propriedades do produto. Entre seis precursores mais empregados na literatura, destacam-se o nitrato de cobre $[\text{Cu}(\text{NO}_3)_2]$, o sulfato de cobre (CuSO_4) e o acetato de cobre $[\text{Cu}(\text{CH}_3\text{COO})_2]$ (Jin et al., 2023; Mishra et al., 2018; Sun et al., 2024). Contudo, visto que esses precursores fornecem o metal no estado de oxidação +2, a obtenção do óxido de cobre (I) (Cu_2O) requer um ajuste no potencial redox do sistema. Assim, é necessária a inclusão de um agente redutor capaz de promover a conversão parcial dos íons Cu^{2+} para Cu^+ , frequentemente realizada por meio de redutores orgânicos, como glicose ou ácido ascórbico, amplamente utilizados em sínteses em solução e em processos solvotérmicos (Harishchandra et al., 2020; Ma et al., 2023; Mohammed; Nasir, 2025).

3.4. Influência da monoetanolamina na síntese de partículas de cobre

No âmbito da síntese de óxidos de cobre, especialmente para a obtenção de fases específicas como o óxido cuproso (Cu_2O) a partir de precursores de óxido cúprico (CuO), a seleção de agentes químicos que desempenham múltiplas funções é de suma importância. A monoetanolamina (MEA) ($\text{CH}_2(\text{NH}_2)\text{CH}_2\text{OH}$), um aminoálcool de baixo custo, a qual apresenta uma estrutura bifuncional, contendo os grupos amino ($-\text{NH}_2$) e hidroxila ($-\text{OH}$). Essa estrutura permite que ela atue simultaneamente como um agente complexante, estabilizando íons metálicos em solução e controlando a cinética de nucleação, e como um agente redutor, facilitando a modulação controlada dos estados de oxidação de precursores metálicos sob condições térmicas ou solvotérmicas (Badillo-Ávila et al., 2018; Feng et al., 2022). Em condições ambiente, a MEA apresenta-se como um líquido claro, incolor, viscoso e higroscópico. Quando adicionada a uma solução contendo íons Cu^{2+} provenientes do precursor, a MEA não promove a redução imediata do cobre. Em razão da presença dos grupos funcionais amina ($-\text{NH}_2$) e hidroxila ($-\text{OH}$), a MEA atua como um ligante quelante bidentado, capaz de coordenar concomitantemente ao cátion metálico. Dessa forma, a MEA sequestra os íons Cu^{2+} livres, formando um complexo de coordenação estável, tipicamente o bis(etanolamina)cobre(II), caracterizado por coloração azul intensa (Davies; Patel, 1968; Zha et al., 2025).

Com o aquecimento do sistema, a energia térmica ativa o potencial redox da MEA. O grupo hidroxila da molécula sofre oxidação, liberando elétrons que são capturados, promovendo a redução de Cu^{2+} a Cu^+ (Badillo-Ávila et al., 2018; Gouedard et al., 2012). Em

paralelo, a MEA oxida-se, frequentemente via desidrogenação, formando intermediários orgânicos (por exemplo, glicina) ou produtos de degradação, como acetaldeído, além da liberação de amônia (NH_3) (Feng et al., 2022). O complexo contendo Cu(I), termodinamicamente menos estável, tende a nuclear e reorganizar-se, especialmente na presença de água e oxigênio dissolvido, levando à formação da fase cristalina da cuprita (Cu_2O). Caso a temperatura elevada seja mantida ou o tempo de reação prolongado, a MEA continua a atuar como fonte de elétrons. Nessa etapa, o Cu_2O passa a desempenhar o papel de fase intermediária. A interação da MEA com a superfície das partículas favorece a remoção adicional de oxigênio ou a transferência de novos elétrons ao Cu^+ , culminando na redução completa para cobre metálico (Cu^0) (Gouedard et al., 2012).

É importante destacar que o mecanismo de redução do CuO a Cu_2O na presença de MEA não se baseia exclusivamente na ação direta da molécula intacta, mas está fortemente associado à sua decomposição térmica. Esse processo ocorre a temperaturas relativamente baixas (a partir de aproximadamente $260\text{ }^\circ\text{C}$), mesmo em atmosfera aberta, e resulta na geração *in situ* de espécies orgânicas redutoras (Badillo-Ávila et al., 2018; Wei et al., 2019). Um estudo de 2018, verificou que a degradação da MEA, catalisada por íons de cobre, produz aldeídos e diversos ácidos carboxílicos, como os ácidos glicólico, fórmico, oxálico e acético. Esses compostos, bem como os carboxilatos de cobre formados, contribuem para a redução do Cu(II) presente no CuO a Cu(I), favorecendo a estabilização da fase Cu_2O . Este processo deve ser distinguido daquele que leva à redução completa para cobre metálico (Cu^0), que ocorre em temperaturas mais elevadas e é caracterizado pela liberação de amônia (Badillo-Ávila et al., 2018).

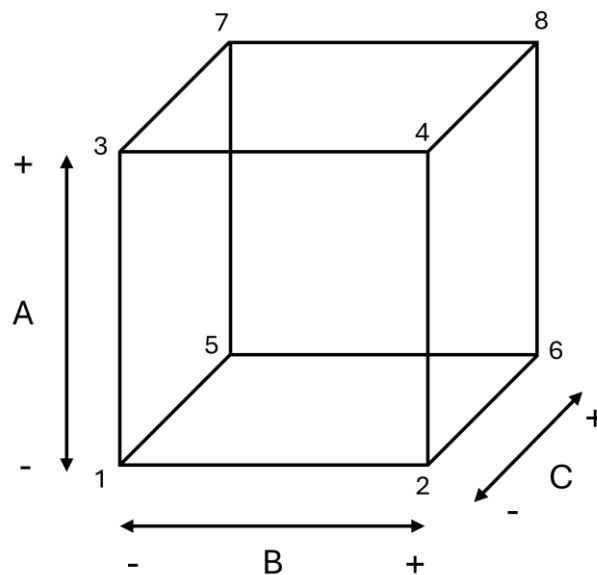
3.5. Planejamento fatorial na otimização da síntese de materiais

O controle das propriedades físico-químicas dos óxidos de cobre, como tamanho de cristalito, morfologia e *band gap*, depende diretamente das condições adotadas durante a síntese, tornando a otimização desse processo um ponto que merece atenção. Diante da complexidade envolvida, sobretudo pela interação entre múltiplas variáveis experimentais, recorre-se ao Planejamento Fatorial (DoE) como ferramenta para definição das condições ideais (Elazazy et al., 2018). O fundamento matemático do Planejamento Fatorial repousa sobre a construção de modelos de regressão linear múltipla, onde as variáveis independentes são manipuladas de forma a garantir a ortogonalidade da matriz de planejamento. Diferentemente da abordagem tradicional que trabalha com um fator por vez, que limita a compreensão das interações entre os fatores e exige um número elevado de ensaios, o planejamento fatorial permite a variação

simultânea dos parâmetros, ampliando a capacidade de análise e reduzindo o esforço experimental (Ücker et al., 2023).

Em um experimento fatorial completo 2^k , a variável resposta y é modulada como uma função de k fatores, cada um assumindo dois níveis discretos. A codificação desses níveis em valores normalizados +1 (nível alto) e -1 (nível baixo), Figura 3.1, configura-se como uma transformação matemática usada para auxiliar no cálculo dos coeficientes e garantir que a média dos níveis de cada fator seja zero e sua variância seja unitária. Essa padronização permite que o modelo seja interpretado de forma adimensional, facilitando a comparação entre a magnitude dos efeitos de diferentes naturezas físicas ou químicas.

Figura 3.1 Representação Geométrica do Planejamento Fatorial 2^3 .



Fonte: Elaboração da autora.

As combinações desses níveis são organizadas em uma matriz de experimentos, e os resultados obtidos para a variável de resposta são então analisados para quantificar o efeito de cada fator, bem como o efeito de suas interações (La Porta; Taft, 2021). O objetivo final é gerar um modelo matemático empírico, geralmente polinomial, que descreve a relação entre os fatores e a resposta. A significância estatística de cada efeito é avaliada por meio de ferramentas como a Análise de Variância (ANOVA) e gráficos de Pareto (Babinski et al., 2025; Gurba-Bryśkiewicz et al., 2023).

A aplicação do Planejamento Fatorial em pesquisa geralmente segue uma abordagem sequencial. Inicialmente, pode ser realizada uma fase de triagem (*screening*), especialmente

quando há muitos fatores potencialmente influentes. Para esta etapa, utilizam-se frequentemente planejamentos fatoriais fracionários (designados como 2^{k-p}), que são frações escolhidas de um planejamento completo (2^k) e permitem identificar os fatores mais significativos com um número reduzido de ensaios (Jankovic; Chaudhary; Goia, 2021). Uma vez que os principais fatores são identificados, o foco se volta para a otimização da resposta (Müller et al., 2020).

Para a fase de otimização, empregam-se as Metodologias de Superfície de Resposta (RSM). Ao contrário dos planejamentos de triagem, os modelos de RSM incorporam termos quadráticos, o que lhes permite descrever curvaturas na superfície de resposta e, assim, localizar as condições ótimas (um ponto de máximo ou mínimo) (Tangsiri; Nezamzadeh-Ejhieh, 2020). Dentre os desenhos de RSM mais consolidados estão o Planejamento Composto Central (CCD), que aumenta um planejamento fatorial 2^k com pontos centrais e axiais, e o Planejamento de Box-Behnken (BBD), um planejamento incompleto de três níveis que evita a realização de experimentos em condições extremas (os vértices do espaço experimental) (Bhamidimarri et al., 2024; Tavares Luiz et al., 2021).

3.6. Refinamento Rietveld para quantificação de fases de compósitos

A avaliação quantitativa do impacto das variações nos parâmetros de síntese (fatores) permite investigar como essas condições influenciam a composição do material obtido, em especial a proporção relativa entre as fases cristalinas presentes. Para essa finalidade, utiliza-se o refinamento Rietveld, uma técnica estabelecida para a análise de padrões de difração de raios X de materiais policristalinos (Evans; Evans, 2021; Hadjadj; Chihi, 2022). Desenvolvido por Hugo Rietveld, com a publicação de seu artigo seminal em 1969, o método revolucionou a caracterização de compostos policristalinos ao possibilitar o refinamento de estruturas cristalinas e a análise quantitativa de fases utilizando todo o padrão de difração. Antes da introdução desta técnica, a análise de difração de pó era severamente limitada pelo chamado "problema do pó", isto é, a superposição de reflexões que ocorre quando três dimensões do espaço recíproco são colapsadas em dados unidimensionais (Runčevski; Brown, 2021). O método de Rietveld representou um avanço pois, diferentemente de outras técnicas contemporâneas, conseguia lidar de modo confiável com reflexões que se sobrepunham significativamente (McCusker et al., 1999; Rietveld, 1969; Runčevski; Brown, 2021).

O mecanismo do método Rietveld baseia-se no ajuste de um modelo cristalográfico teórico, a partir de um modelo estrutural, ao padrão de difração experimentalmente medido.

Este ajuste é realizado através de um processo iterativo de minimização por quadrados mínimos, que refina simultaneamente uma série de parâmetros até que a diferença entre o padrão calculado e o observado seja minimizada (Biwer et al., 2025). O modelo proposto por Rietveld inclui diversos parâmetros, cada um com um papel na caracterização estrutural. Estes parâmetros podem ser organizados em três principais categorias: parâmetros estruturais, parâmetros de perfil de difração e parâmetros de intensidade (Akhtar et al., 2019; Al-Mahmud et al., 2024; Runčevski; Brown, 2021).

Os parâmetros estruturais estão relacionados às coordenadas atômicas (x , y e z) que definem a posição dos átomos na célula unitária. Incluem também os parâmetros de rede (a , b , c , α , β , γ), que variam conforme a família e o sistema cristalino, podendo corresponder de um a seis parâmetros independentes. Em amostras contendo múltiplas fases, é necessário refinar os parâmetros de rede de cada fase presente (Rietveld, 1969). Os fatores de ocupação indicam a fração de cada sítio cristalográfico ocupada por determinados átomos, sendo especialmente relevantes em estruturas que apresentam ocupação parcial ou desordem cristalina. Já os parâmetros de deslocamento atômico descrevem o movimento térmico dos átomos em torno de suas posições de equilíbrio, podendo ser tratados de forma isotrópica ou anisotrópica, de acordo com a simetria do cristal (Young, 1993).

Os parâmetros de perfil controlam a forma dos picos de difração e englobam funções matemáticas que descrevem tanto a largura quanto o formato de cada reflexão. Entre os modelos de perfil mais utilizados destacam-se as funções Gaussiana, Lorentziana, Voigt, pseudo-Voigt e Pearson VII. A escolha adequada da função de perfil é importante para garantir um bom ajuste, especialmente em baixos ângulos, onde a assimetria dos picos tende a ser mais pronunciada (Thompson; Cox; Hastings, 1987; Young; Wiles, 1982). Os parâmetros de assimetria representam o desvio dos picos em relação à simetria ideal, sendo particularmente importantes na região de baixo ângulo 2θ (Finger; Cox; Jephcoat, 1994). A linha de base (*background*) é ajustada por meio de funções polinomiais ou funções específicas do instrumento, a fim de descrever o ruído de fundo contínuo do difratograma (McCusker et al., 1999).

O fator de escala é o parâmetro responsável por normalizar a intensidade do padrão calculado em relação ao padrão experimental. Em sistemas com múltiplas fases, cada uma delas apresenta um fator de escala próprio, cuja razão relativa permite determinar sua proporção quantitativa em cada amostra (Hill; Howard, 1987). Essa característica confere ao método grande relevância para a análise quantitativa de fases, possibilitando a determinação dos percentuais em massa dos diferentes componentes cristalinos presentes na amostra. Além disso, o método permite a quantificação simultânea de todas as fases sem a necessidade de padrões

internos, utilizando exclusivamente os dados cristalográficos conhecidos, fornecendo assim um valor que é empregado como variável de resposta no modelo de planejamento fatorial (Hassanzadeh-Tabrizi, 2023; Nadja; Abdelkader, 2025; Rowles, 2021).

Embora o método de Rietveld seja uma técnica consolidada, sua aplicação exige atenção a uma série de desafios metodológicos que podem comprometer a confiabilidade dos resultados (Rowles, 2021). Entre os principais fatores destacam-se a orientação preferencial dos cristalitos e a microabsorção diferencial de raios X entre as fases presentes na amostra (Bish; Howard, 1988).

A orientação preferencial ocorre quando os cristalitos não se encontram distribuídos aleatoriamente no volume irradiado, levando à super ou sub-representação de determinadas famílias de planos cristalográficos nas intensidades difratadas. Esse efeito é relevante sobretudo em materiais com morfologia anisotrópica, como minerais lamelares ou aciculares, e pode introduzir desvios significativos na determinação das frações de fase caso não seja devidamente tratado (Dollase, 1986; Lopresti et al., 2022; Young, 1993). Modelos matemáticos incorporados aos refinamentos de Rietveld, como o modelo de March–Dollase ou expansões em harmônicos esféricos, permitem a correção parcial desse efeito; contudo, a eficácia dessas abordagens depende da adequação do modelo à natureza da textura presente e da qualidade dos dados experimentais (Dollase, 1986; Lopresti et al., 2022; Von Dreele, 1997).

A microabsorção diferencial, por sua vez, torna-se relevante em sistemas de múltiplas fases nos quais estas coexistem com coeficientes de absorção de raios X significativamente distintos, especialmente quando o tamanho médio das partículas é comparável ao comprimento de penetração da radiação. Nessas condições, a intensidade difratada de cada fase deixa de ser diretamente proporcional à sua fração em massa, resultando em erros sistemáticos na quantificação (Bish; Post, 1993; Brindley, 1945). Embora existam modelos teóricos e implementações computacionais capazes de estimar e corrigir esse efeito, sua aplicação nem sempre é trivial e frequentemente requer informações adicionais sobre o tamanho de partícula e as propriedades de absorção das fases envolvidas (Harano et al., 2020; Scarlett; Madsen, 2006; Taylor; Matulis, 1991).

Nesse contexto, a preparação adequada da amostra constitui uma etapa fundamental para a mitigação desses fenômenos. Procedimentos como a redução do tamanho de partícula, o uso de métodos de carregamento que minimizem a indução de textura (por exemplo, *back-loading* ou capilares giratórios), a adição de diluentes inertes e a escolha apropriada da radiação incidente podem reduzir tanto a orientação preferencial quanto os efeitos de microabsorção (Dinnebier; Billinge, 2008; Rowles, 2021; Scarlett; Madsen, 2006). No entanto, em sistemas

fortemente texturizados ou com elevado contraste de absorção entre fases, a preparação da amostra, embora necessária, pode não ser suficiente, tornando indispensável a combinação de estratégias experimentais e correções modelares durante o refinamento (Bish; Howard, 1988; Young, 1993). Assim, a aplicação do método de Rietveld requer não apenas ferramentas computacionais adequadas, mas também um planejamento experimental cuidadoso e uma avaliação das limitações inerentes ao sistema analisado.

A qualidade de um refinamento pelo método de Rietveld é avaliada por meio de diversos indicadores estatísticos derivados do método dos mínimos quadrados. Entre esses indicadores, o R_{wp} (*weighted profile R-factor*) é o mais amplamente utilizado e reconhecido pela comunidade cristalográfica, pois está diretamente relacionado à função objetivo minimizada durante o refinamento. Esse fator leva em consideração os pesos estatísticos associados a cada ponto experimental, geralmente definidos como o inverso da variância das intensidades medidas (Meinerzhagen et al., 2024; Rowles, 2021; Toby, 2024). Dessa forma, valores menores de R_{wp} indicam um melhor ajuste entre os dados observados e calculados. Na prática, valores de R_{wp} abaixo de aproximadamente 20% são frequentemente considerados indicativos de um ajuste aceitável, enquanto valores inferiores a 10% são usualmente associados a refinamentos de alta qualidade, embora tais limites não sejam universais e dependam fortemente da qualidade dos dados experimentais e da complexidade do modelo refinado (Rowles, 2021; Tamura et al., 2022).

O R_p (*profile R-factor*), por sua vez, é um fator de perfil não ponderado que mede a discrepância absoluta entre os perfis observado e calculado, sem levar em conta as incertezas estatísticas dos dados experimentais (Rowles, 2021). Por essa razão, R_p é considerado menos informativo do ponto de vista estatístico e, isoladamente, não constitui um critério robusto para a avaliação da qualidade global do refinamento (Toby, 2006). Ainda assim, pode ser útil como um indicador complementar, especialmente quando comparado a R_{wp} (Liang et al., 2023; Seema; Rohilla, 2019).

O R_{exp} (*expected R-factor*) representa o valor estatisticamente esperado de R_{wp} , considerando o nível de ruído presente nos dados experimentais e o número de observações e parâmetros refinados (Tzvetanova et al., 2020). Em termos estatísticos, R_{exp} define o limite inferior teoricamente alcançável para R_{wp} , assumindo que o modelo descreva perfeitamente os dados dentro das incertezas experimentais (Toby, 2006). Assim, a comparação entre R_{wp} e R_{exp} fornece uma medida mais significativa da qualidade do ajuste do que a análise isolada de cada fator (Liang et al., 2023; Seema; Rohilla, 2019).

A partir dessa relação, define-se o χ^2 reduzido (*goodness of fit*) como o quadrado da razão entre R_{wp} e R_{exp} , isto é, $\chi^2 = (R_{wp}/R_{exp})^2$. Esse parâmetro expressa a qualidade global do refinamento e indica o quanto o modelo explica os dados experimentais em relação ao que seria estatisticamente esperado (Toby, 2006). Em condições ideais, nas quais os erros experimentais são corretamente estimados e seguem uma distribuição estatística adequada, valores de χ^2 próximos de 1 indicam que o modelo descreve os dados dentro do limite imposto pelo ruído experimental. Valores de χ^2 significativamente maiores que 1 podem indicar deficiências no modelo estrutural, erros sistemáticos nos dados ou subestimação das incertezas experimentais (Livadiotis, 2025). Em aplicações práticas, refinamentos com χ^2 inferiores a aproximadamente 2 são frequentemente considerados satisfatórios, embora esse critério deva ser interpretado com cautela (Bruno; Sommer, 2023; Toby, 2024; Zhao et al., 2018).

A literatura enfatiza que nenhum desses indicadores estatísticos deve ser avaliado de forma isolada. Valores baixos de R_{wp} ou χ^2 não garantem, por si só, a correção física ou química do modelo refinado (Toby, 2006; Wang, 2015). Assim, a avaliação da qualidade de um refinamento Rietveld deve sempre ser complementada pela inspeção visual do ajuste, pela análise dos resíduos (diferença entre intensidades observadas e calculadas) e pela verificação da coerência cristalográfica e química dos parâmetros refinados (Harano et al., 2020; Kis; Kovács; Czigány, 2024; Toby, 2006).

3.7. Análise Estatística de Dados Composicionais

A investigação experimental de sistemas de síntese envolvendo múltiplos parâmetros operacionais requer ferramentas estatísticas capazes de avaliar simultaneamente efeitos principais e interações entre fatores. Nesse contexto, os planejamentos fatoriais completos do tipo 2^k são utilizados na metodologia científica, por permitirem a análise simultânea de k fatores avaliados em dois níveis cada, com número reduzido de experimentos e facilitam a interpretação dos efeitos estimados (Andrade, 2024; Jan; Shieh, 2016). Conforme descrito por Montgomery, esse tipo de planejamento possibilita não apenas a identificação de fatores estatisticamente significativos, mas também a avaliação de interações, frequentemente negligenciadas em abordagens univariadas, mas essenciais em processos físico-químicos complexos (Montgomery, 2020).

A análise de variância (ANOVA) constitui o método estatístico clássico associado a planejamentos fatoriais. Matematicamente, a ANOVA baseia-se na decomposição da variabilidade total observada em uma variável resposta Y em componentes atribuíveis aos

fatores experimentais e ao erro aleatório (Montgomery, 2020). O teste F empregado na ANOVA compara a variância explicada pelos fatores com a variância residual, permitindo inferir se os efeitos observados são estatisticamente significativos (Montgomery, 2020; Muller, 2009).

Entretanto, a validade da aplicação direta da ANOVA depende do atendimento a pressupostos fundamentais, incluindo normalidade dos resíduos, homocedasticidade e independência das observações (Delacre et al., 2019). Além disso, um aspecto frequentemente negligenciado diz respeito à natureza geométrica dos dados analisados. Em alguns estudos, há a presença de dados composicionais, isto é, descrições quantitativas de partes de um todo, onde a informação relevante está nas proporções e não nos valores absolutos, sendo que a soma de todas as partes é sempre uma constante (como 100% ou 1) (Greenacre, 2021; Zhang et al., 2024).

Formalmente, um vetor composicional pode ser definido como $x = (x_1, x_2, \dots, x_D)$, com $x_i > 0$ e $\sum_{i=1}^D x_i = \kappa$, onde κ é uma constante arbitrária, frequentemente igual a 1 ou 100. O espaço amostral dessas composições não é o espaço euclidiano \mathbb{R}^D , mas o simplex S^D , dotado de uma geometria própria (Aitchison, 1982). Conforme demonstrado por Aitchison, a aplicação direta de operações estatísticas usuais nesse espaço conduz a interpretações incorretas, incluindo a geração de correlações espúrias decorrentes exclusivamente da restrição de fechamento (Aitchison, 1982, 1986).

A principal implicação prática dessa característica é que as componentes de uma composição não são estatisticamente independentes. Um aumento na proporção de uma fase implica, necessariamente, a redução proporcional de pelo menos uma das demais, mesmo que não exista relação direta entre elas (Aitchison, 1982; Greenacre, 2021). Dessa forma, análises estatísticas que tratam cada componente isoladamente violam a estrutura intrínseca dos dados e podem levar a conclusões equivocadas (Aitchison, 1982; Pawlowsky-Glahn; Egozcue; Tolosana-Delgado, 2015).

A Análise de Dados Composicionais (Compositional Data Analysis, CoDA) foi desenvolvida para lidar com esse tipo de problema, fundamentando-se na ideia de que a informação relevante em uma composição reside nas relações relativas entre seus componentes, e não em seus valores absolutos (Aitchison, 1982). O fundamento matemático da CoDA baseia-se em transformações *log-ratio*, que permitem mapear o simplex para o espaço real, preservando a geometria apropriada dos dados (Aitchison, 1986; Greenacre et al., 2023; Pospiech; Tolosana-Delgado; Van den Boogaart, 2021).

Na análise de dados composicionais, três transformações de *log-ratio* são mais utilizadas: aditiva (*alr*), centrada (*clr*) e isométrica (*ilr*). A transformação *alr* define coordenadas dividindo as primeiras $D - 1$ partes pela última. Contudo, por não ser uma transformação ortogonal, ela não preserva distâncias euclidianas, o que pode comprometer a interpretação geométrica dos resultados. Enquanto a *clr* realiza a divisão de cada parte pela média geométrica de todos os componentes (Oh et al., 2024; Zhao et al., 2021).

Essa transformação mapeia os vetores do espaço composicional S^D , isto é, vetores cujas componentes representam proporções ou frações de um todo, para um subespaço $U \subset \mathbb{R}^D$, preservando sua estrutura geométrica e projetando a composição em um subespaço de dimensão $D - 1$ (Aitchison, 1986). Ela é definida como o logaritmo de cada componente dividido pela média geométrica do vetor. Essa transformação possui duas propriedades importantes: é isomórfica, pois existe uma função inversa que permite recuperar o vetor original, e é isométrica, pois preserva a distância entre vetores, garantindo que a geometria do espaço composicional seja mantida (Egozcue et al., 2003). Dessa forma, o *clr* permite trabalhar com dados composicionais usando operações comuns, sem perder informações nem distorcer as relações entre os componentes (Aitchison, 1986; Hawinkel et al., 2020).

A aplicação de transformações *log-ratio* requer que todas as componentes da composição sejam estritamente positivas. Contudo, em dados experimentais reais, a ocorrência de valores zero é comum (Aitchison, 1986; Rasmussen et al., 2020). Esses zeros podem ter diferentes naturezas: podem ser estruturais, quando uma fase é fisicamente impossível; amostrais, quando não é observada em uma amostra específica; ou associados a limites de detecção analítica. Independentemente da origem, a presença de zeros inviabiliza diretamente o cálculo de logaritmos e, portanto, exige tratamento específico (Dumuid et al., 2020; Greenacre, 2021; Martín-Fernández; Barceló-Vidal; Pawlowsky-Glahn, 2003).

Em resposta a esse problema, foram desenvolvidos métodos formais de substituição de zeros em dados composicionais, com destaque para os métodos multiplicativos, nos quais os zeros são substituídos por pequenas quantidades positivas e a massa composicional introduzida é redistribuída proporcionalmente entre os componentes não nulos, preservando a soma total da composição (Martín-Fernández et al., 2015; Palarea-Albaladejo; Martín-Fernández, 2015; Rasmussen et al., 2020; Zhao et al., 2021). Após a substituição dos zeros e a aplicação da transformação *clr*, os dados tornam-se apropriados para a aplicação de métodos estatísticos clássicos, desde que as restrições geométricas impostas pela transformação sejam devidamente consideradas (Greenacre et al., 2023).

Além da análise dos dados composicionais, a relação entre a composição relativa dos componentes e variáveis resposta de interesse pode ser investigada por meio de modelos de regressão (Li; Li; Chen, 2023). Quando a variável ou variáveis explicativas correspondem a coordenadas obtidas por meio da transformação *log-ratio* centrada, a restrição de soma zero impõe uma dependência linear entre elas (Greenacre, 2021). Como consequência, a inclusão simultânea de todas as coordenadas *clr* em um modelo de regressão resulta em singularidade da matriz de projeto (Aitchison, 1986).

Por essa razão, a interpretação dos coeficientes de regressão em modelos baseados em *clr* deve ser feita investigada por meio de razões logarítmicas entre pares de fases, as quais preservam a natureza relativa dos dados composicionais e permitem a aplicação de modelos estatísticos definidos no espaço real (Combettes; Müller, 2021; Oh et al., 2024). Essa abordagem possibilita a avaliação de associações entre contrastes composicionais específicos e as variáveis resposta, sem violar as propriedades geométricas dos dados (Van den Boogaart et al., 2021).

Assim, os coeficientes estimados devem ser interpretados como descritores de tendências associativas entre proporções relativas de fases, e não como efeitos absolutos ou independentes de componentes individuais, uma vez que a informação em dados composicionais reside nas relações entre as partes (Aitchison, 1982). Transformações como a *ilr* também poderiam ser empregadas para contornar essa limitação, uma vez que geram coordenadas ortonormais e estatisticamente independentes no espaço real (Egozcue et al., 2003; Oh et al., 2024; Reimann et al., 2017).

Em estudos experimentais, é frequente a necessidade de avaliar associações entre variáveis que não atendem aos pressupostos dos métodos paramétricos clássicos, como normalidade das distribuições ou homogeneidade de variâncias (Rajh-Weber; Huber; Arendasy, 2025; Schober; Vetter, 2020). Nessas situações, utilizam-se métodos não paramétricos, uma vez que estas técnicas prescindem de parâmetros específicos sobre a forma da distribuição dos dados (Hung; Bounsanga; Voss, 2017; Miot, 2018).

Entre esses métodos, o coeficiente de correlação de Spearman avalia associações monotônicas entre variáveis a partir da ordenação dos valores observados, em vez de seus valores absolutos (Arsov et al., 2019; Schober; Boer; Schwarte, 2018). Matematicamente, o coeficiente de Spearman corresponde à correlação de Pearson calculada sobre os postos das observações, sendo sensível à direção e à intensidade de relações monotônicas, independentemente de sua linearidade. Essa característica torna o método particularmente

adequado frente a assimetrias, presença de valores extremos e empates nos dados (Arends; Perrone, 2025; Schober; Vetter, 2020).

A literatura estatística descreve a aplicação de métodos não paramétricos em cenários onde os pressupostos da inferência paramétrica não são atendidos (Chung, 2016; Vrbin, 2022; Whitley; Ball, 2002). Conseqüentemente, a seleção da abordagem estatística deve resultar de uma análise conjunta da natureza dos dados, das restrições matemáticas das variáveis e dos objetivos específicos da investigação (Heinze; Wallisch; Dunkler, 2018; Kim et al., 2017; Mishra et al., 2019).

A integração de ferramentas de planejamento experimental, técnicas de análise de dados composicionais e métodos estatísticos paramétricos e não paramétricos pode ser utilizada na análise de sistemas complexos, caracterizados pela presença simultânea de múltiplos fatores e múltiplas respostas (Aitchison, 1982; Alenazi, 2023; Bennett et al., 2025; Kashlak; Myroshnychenko; Spektor, 2023). Essa estratégia possibilita a extração de informações importantes a partir dos dados experimentais, ao mesmo tempo em que considera as restrições estruturais inerentes aos dados e os pressupostos estatísticos associados a cada método analítico (Abegaz et al., 2025; Vrbin, 2022).

4. METODOLOGIA

4.1. Materiais e Reagentes

Todos os reagentes químicos empregados foram de grau analítico (P.A.) e utilizados conforme recebidos, sem qualquer procedimento adicional de purificação. Foram utilizados: acetato de cobre (II) monohidratado, $\text{Cu}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (Êxodo Científica); monoetanolamina, $\text{CH}_2(\text{NH}_2)\text{CH}_2\text{OH}$ (Química Contemporânea Ltda); e álcool etílico, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$, com pureza de 99,5% (Química Contemporânea Ltda).

4.2. Procedimentos de Síntese

4.2.1. Protocolo de Síntese do Óxido Cúprico de Referência

A síntese do óxido cúprico (CuO) puro, utilizada como material de referência, foi conduzida pelo método solvotérmico, com base em uma adaptação de um protocolo descrito na literatura (Nogueira et al., 2016). Em um procedimento padrão, uma solução precursora de $0,05 \text{ mol.L}^{-1}$ (M) foi preparada pela dissolução de 1,1 g de $\text{Cu}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ em 110 mL de álcool etílico. A solução foi transferida para um recipiente de Teflon com volume nominal de 110 mL, preenchendo-o integralmente, e, em seguida, inserida em um reator de aço inoxidável de alta pressão. O sistema foi hermeticamente selado e submetido a tratamento térmico a 110°C durante 20 horas. Após o término da reação, o reator foi deixado resfriar naturalmente até a temperatura ambiente. O produto sólido, de coloração escura, foi então recuperado e submetido a três etapas consecutivas de centrifugação a 4500 rpm por 5 minutos cada. O material foi então seco em estufa a 60°C por um período de 12 horas. Finalmente, o pó seco foi desagregado e homogeneizado em um almofariz de ágata.

4.2.2. Síntese dos Compósitos via Planejamento Fatorial 2^3

A influência dos parâmetros de síntese na composição dos materiais foi investigada por meio de um planejamento fatorial completo 2^3 . O primeiro fator analisado foi a concentração de MEA, com níveis de 0,05 M (inferior) e 0,075 M (superior). Essas concentrações foram selecionadas com base em estudos prévios do grupo de pesquisa, que indicaram que, nessas condições, ocorre a formação de misturas de fases entre cobre metálico (Cu^0) e óxido cuproso (Cu_2O).

O segundo fator corresponde à temperatura de reação, definida em 120 °C no nível inferior e 150 °C no nível superior. A escolha desses valores considerou tanto o rendimento obtido em experimentos anteriores quanto as limitações operacionais do sistema experimental.

O terceiro fator avaliado foi o tempo de reação, estabelecido em 5 h para o nível inferior e 20 h para o nível superior. Esses extremos foram selecionados com base em resultados anteriores, nos quais o tempo de reação apresentou menor influência sobre a composição final, permitindo assim explorar variações amplas.

A combinação dos três fatores em dois níveis resultou em um total de oito experimentos. Os valores adotados para cada condição experimental estão apresentados na Tabela 4.1.

Tabela 4.1 Fatores e níveis do planejamento fatorial 2^3 .

Fator	Nível Baixo (-1)	Nível Alto (+1)
Concentração (MEA)	0,05 M	0,075 M
Temperatura	120°C	150°C
Tempo	5 h	20 h

Fonte: Elaboração da autora.

O procedimento de síntese adotado para os oito ensaios experimentais foi baseado em um protocolo geral. Inicialmente, preparou-se uma solução $0,05 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ do sal precursor de cobre em 110 mL de etanol. Em seguida, adicionou-se a quantidade de MEA utilizando uma micropipeta mecânica monocanal de volume variável (Kasvi, 1000–10000 μL), de modo a alcançar concentrações de MEA na solução de $0,05 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ (0,05 M) ou $0,075 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ (0,075 M). A solução foi transferida para um reator solvotérmico de 110 mL e submetida ao tratamento térmico sob as condições de temperatura e tempo definidas na matriz experimental (Tabela 4.1). O procedimento de recuperação do material seguiu o protocolo descrito na Seção 4.2.1.

Cada condição do planejamento fatorial foi avaliada em duas replicatas experimentais independentes, designadas como A e B. Em virtude do baixo rendimento de determinadas sínteses, algumas amostras, sobretudo do conjunto B, foram obtidas pela combinação de múltiplos lotes, a fim de assegurar quantidade suficiente de material para análises posteriores. As amostras foram codificadas conforme o padrão: [concentração de MEA (M)] – [temperatura (°C)] – [tempo de reação (h)], acrescido da identificação A ou B, correspondente à primeira e à segunda série de sínteses, respectivamente. A nomenclatura completa está apresentada na Tabela 4.2.

Tabela 4.2 Matriz de experimentos do planejamento fatorial 2³.

Ensaio	Amostra [C-T-t]	Fator 1 (Concentração de MEA)	Fator 2 (Temperatura)	Fator 3 (Tempo)
1	05-120-20 A	-1	-1	+1
2	05-150-20 A	-1	+1	+1
3	075-120-20 A	+1	-1	+1
4	075-150-20 A	+1	+1	+1
5	05-120-5 A	-1	-1	-1
6	05-150-5 A	-1	+1	-1
7	075-120-5 A	+1	-1	-1
8	075-150-5 A	+1	+1	-1
9	05-120-20 B	-1	-1	+1
10	05-150-20 B	-1	+1	+1
11	075-120-20 B	+1	-1	+1
12	075-150-20 B	+1	+1	+1
13	05-120-5 B	-1	-1	-1
14	05-150-5 B	-1	+1	-1
15	075-120-5 B	+1	-1	-1
16	075-150-5 B	+1	+1	-1

Fonte: Elaboração da autora.

Devido ao baixo rendimento típico do processo solvotérmico, cada condição foi replicada em múltiplos lotes independentes, cujos produtos foram combinados para obter massa total adequada (>200 mg) às análises subsequentes. Assim, a massa teórica máxima de CuO foi estimada a partir da quantidade de precursor empregada na síntese, considerando a relação estequiométrica de 1 mol de Cu²⁺ para 1 mol de CuO. Com base na massa molar do acetato de cobre (II) monohidratado (199,65 g·mol⁻¹) e do CuO (79,55 g·mol⁻¹), a quantidade de 1,1 g de precursor corresponde a uma massa teórica aproximada de 438 mg de CuO. A Tabela 4.3 apresenta, para cada amostra, o número de sínteses realizadas, a massa total obtida, a massa média por síntese e o rendimento percentual calculado em relação ao valor teórico.

Tabela 4.3 Resumo da preparação das amostras por síntese solvotérmica em múltiplos lotes.

Amostra	Massa total (mg)	Nº de sínteses	Massa média (mg)	Rendimento Real Médio (%)
05-120-20 A	241	1	241	55,02
05-150-20 A	241	1	241	55,02
075-120-20 A	257	1	257	58,67
075-150-20 A	225	1	225	51,37
05-120-5 A	341	2	170,5	38,93
05-150-5 A	226	1	226	51,59
075-120-5 A	251	2	125,5	28,65
075-150-5 A	358	2	179	40,87
05-120-20 B	402	2	201	45,89
05-150-20 B	246	2	123	28,08
075-120-20 B	326	2	163	37,21
075-150-20 B	313	4	78,3	17,88
05-120-5 B	245	3	81,7	18,65
05-150-5 B	236	2	117,5	26,82
075-120-5 B	217	6	36,2	8,26
075-150-5 B	257	3	85,7	19,57

Fonte: Elaboração da autora.

Os rendimentos obtidos nas diferentes condições experimentais foram inferiores aos valores teóricos, variando aproximadamente entre 8% e 59%. Na literatura, sínteses de óxidos de cobre por rotas em solução frequentemente apresentam forte dependência das condições operacionais, como temperatura, tempo de reação e composição do meio reacional, o que pode resultar em variações significativas no rendimento do produto (Outokesh et al., 2011). Uma revisão publicada em 2025 ressalta que, mesmo sob condições nominalmente idênticas, os resultados da síntese podem divergir, devido à sensibilidade do processo a parâmetros locais, tais como qualidade do solvente, pureza do precursor, distribuição de temperatura e pequenas variações de pressão no interior do autoclave (Belew; Assege, 2025). Um estudo de 2015, aponta que os mecanismos de nucleação e crescimento em condições solvotérmicas ou

hidrotermais explicam por que reações idênticas não ocorrem de forma exatamente uniforme. O processo de nucleação em soluções superaquecidas é estocástico, sendo sensível a pequenas flutuações locais de concentração, temperatura e pressão. Diferenças mínimas nos estágios iniciais de formação de núcleos cristalinos podem gerar trajetórias distintas de crescimento, impactando tanto a quantidade de sólido formado quanto a distribuição de fases (Li; Wu; Wu, 2015). Além disso, a formação de fases concorrentes e a complexação de íons Cu^{2+} por ligantes presentes na solução podem reduzir a quantidade de óxido precipitado.

4.3. Métodos de Caracterização

4.3.1. Análise Estrutural por Difração de Raios X

A investigação da estrutura cristalina e a quantificação das fases presentes nos materiais sintetizados foram conduzidas por meio de difração de raios X em um difratômetro Shimadzu XRD-6000, configurado na geometria Bragg-Brentano (θ - 2θ) e equipado com um tubo de raios X com ânodo de cobre (radiação $\text{CuK}\alpha$, $\lambda = 1,5406 \text{ \AA}$). O equipamento foi operado a 30 kV e 30 mA. Os difratogramas foram coletados em um intervalo de 2θ de 25° a 80° , utilizando um modo de varredura com passo de 0.02° e um tempo de aquisição de 1 segundo por passo. As amostras foram previamente acondicionadas em um porta-amostra de vidro para garantir uma superfície plana e homogênea durante a análise.

O tratamento dos difratogramas foi realizado no *software* OriginPro 2026. Inicialmente, os sinais foram suavizados por meio da rotina “Signal Processing”, utilizando o método de Savitzky–Golay, com janela de 50 pontos, a fim de reduzir ruídos de alta frequência sem distorcer o perfil dos picos. Em seguida, empregou-se a ferramenta “Peaks and Baseline”, por meio do módulo “Peak Analyzer”, com a opção “Goal: Fit Peaks”. O modo de linha de base foi definido como “User Defined”, não sendo realizada subtração automática do fundo. Os picos foram inseridos manualmente e o ajuste foi conduzido até a obtenção dos parâmetros de posição angular (x , correspondente a 2θ) e largura à meia altura (w , correspondente ao FWHM).

Os valores de 2θ e FWHM obtidos para cada reflexão foram posteriormente exportados para planilha eletrônica, na qual foram registrados, no mínimo, quatro picos por amostra. A partir desses dados, calculou-se o tamanho médio de cristalito empregando a equação de Scherrer: $D = (K\lambda)/(\beta \cos(\theta))$, em que D corresponde ao tamanho de cristalito, K é o fator de forma (adotado como 0,94), λ é o comprimento de onda da radiação incidente, β é a largura do pico à meia altura (em radianos) e θ é o ângulo de Bragg. Para cada amostra, foi determinado o tamanho de cristalito individual associado a cada pico analisado, bem como o valor médio

correspondente. Os resultados obtidos por esse procedimento referem-se ao tamanho do domínio coerente de difração, isto é, à dimensão média dos cristalitos em escala nanométrica.

4.3.2. Refinamento Rietveld

A quantificação das frações de massa das fases cristalinas em cada amostra foi realizada por meio do método de Rietveld, uma técnica de análise de perfil completo que ajusta o modelo teórico ao difratograma experimental. Para esta análise, foi utilizado o *software* GSAS-II (Toby; Von Dreele, 2013). O processo de refinamento foi iniciado utilizando os dados de difração de raios X obtidos experimentalmente e os modelos cristalográficos de referência de cada fase, obtidos do banco de dados Inorganic Crystal Structure Database (ICSD). Os parâmetros do modelo foram refinados iterativamente através do algoritmo de mínimos quadrados para minimizar a diferença entre os perfis calculado e observado. Os parâmetros ajustados incluíram: uma função polinomial de Chebyshev para descrever o fundo de radiação (*background*); os parâmetros da função de perfil Pseudo-Voigt, que modelaram a forma e a largura dos picos de difração; os parâmetros de rede de cada fase; e os fatores de escala. A fração de massa de cada fase foi então calculada a partir dos fatores de escala refinados, do volume da célula unitária e da massa proveniente da fórmula química. A qualidade e a confiabilidade de cada refinamento foram aferidas pelos indicadores estatísticos de ajuste, como o R_{wp} (*R-weighted pattern*) e o χ^2 (chi-quadrado ou *goodness-of-fit*), considerando-se desejáveis valores de χ^2 próximos de 1 e R_{wp} inferiores a 10% (Young, 1995).

4.3.3. Análise Morfológica por Microscopia Eletrônica de Varredura com Emissão de Campo

A análise da morfologia, da distribuição de tamanho de partículas e do estado de aglomeração dos materiais foi realizada por meio de Microscópio Eletrônico de Varredura com Emissão de Campo (MEV-FEG). As amostras foram recobertas previamente com uma fina camada de platina. As imagens foram obtidas utilizando um microscópio JSM-6701F (JEOL), operando a uma tensão de aceleração de 4,0 kV e com detector de elétrons secundários (SEI). A distância de trabalho foi de 2,7 a 3,0 mm, com aumento de 1000x a 100.000x. As micrografias adquiridas possibilitaram a avaliação qualitativa da forma e da distribuição das partículas, bem como a identificação de eventuais aglomerados, contribuindo para a correlação entre as condições de síntese e as características morfológicas dos materiais obtidos. Para a análise quantitativa do tamanho médio de partícula, as imagens foram processadas no *software* ImageJ,

por meio da segmentação das partículas e mensuração direta do diâmetro projetado. A partir dessas medições, foi possível construir histogramas de distribuição de tamanhos.

4.3.4. Análise por Microscopia Eletrônica de Transmissão de Alta Resolução

As análises de microscopia eletrônica de transmissão de alta resolução (HRTEM) foram realizadas em um microscópio Thermo Fischer TALOS F200X, operando a 200 kV. As amostras foram preparadas por dispersão do material em isopropanol, seguida da deposição de gotas da suspensão sobre grades de níquel e carbono (400 mesh). As micrografias de HRTEM foram analisadas no *software* ImageJ após calibração da escala espacial. Regiões contendo franjas de rede bem definidas foram selecionadas e duplicadas para processamento digital. Foi aplicada a Transformada Rápida de Fourier (FFT) para obtenção do padrão no espaço recíproco.

Um dos máximos de difração (excetuando o feixe transmitido central) foi selecionado por máscara circular, seguido de filtragem no domínio da frequência e aplicação da transformada inversa (Inverse FFT), com o objetivo de isolar a periodicidade associada a um conjunto específico de planos cristalográficos. Após ajuste de contraste, foram traçadas linhas perpendiculares às franjas de rede, e os perfis de intensidade foram obtidos por meio da ferramenta “Plot Profile”. O espaçamento interplanar (d) foi determinado a partir da periodicidade média entre máximos sucessivos. A atribuição dos planos cristalográficos (hkl) foi realizada por comparação dos valores experimentais de d com dados cristalográficos de referência da fase correspondente.

4.3.5. Análise por Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier

A identificação dos grupos funcionais presentes na superfície dos materiais e a decomposição dos reagentes precursores foram investigadas por Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR). Os espectros foram registrados em um Espectrômetro de Infravermelho Médio Vertex 70, da marca Bruker, utilizando o módulo de Reflectância Total Atenuada (ATR) na região do infravermelho médio (4000 a 400 cm^{-1}). O acessório empregado foi o A225/Q Platinum ATR com múltiplos cristais de diamante. As medições foram realizadas com resolução de 4 cm^{-1} e uma média de 32 varreduras por espectro. O caminho óptico estava ajustado para o compartimento de amostra RT-DLaTGS, utilizando filtros de alta e baixa frequência e o detector padrão de infravermelho médio (MIR).

4.3.6. Análise por Espectroscopia de Reflectância Difusa

As propriedades ópticas dos compósitos foram avaliadas por espectroscopia de reflectância difusa na região do ultravioleta-visível (UV-Vis). As análises foram realizadas em espectrofotômetro da marca Shimadzu, modelo UV-2600, os dados foram adquiridos no *software* UVProbe 2.7 e esfera de integração ISR-2600 Plus para medidas de transmitância e reflectância difusa de amostras sólidas e filmes. Os espectros foram coletados na faixa de comprimento de onda de 200 a 830 nm. Os dados de reflectância foram convertidos em uma função proporcional à absorbância utilizando a transformação de Kubelka-Munk, para posterior determinação do *band gap* óptico dos materiais semicondutores. Por fim, os dados foram analisados utilizando a equação de Tauc para transições diretas.

4.3.7. Avaliação da Atividade Bactericida

A atividade antibacteriana dos compostos foi conduzida como objetivo avaliar a atividade bactericida das amostras em estudo frente à *Staphylococcus aureus* utilizando o método de difusão em disco. Para tanto, 50 mg de cada amostra foram dispersos em 1 mL de água destilada, sendo a suspensão homogeneizada por agitação em vórtex por 1 a 2 minutos. Discos de papel filtro de 6 mm de diâmetro foram previamente esterilizados em autoclave a 121 °C por 15 minutos e mantidos em estufa em condições assépticas até a utilização. Paralelamente, o meio de cultura ágar (caldo nutritivo) foi esterilizado em autoclave nas mesmas condições, resfriado e distribuído em placas de Petri estéreis, permitindo sua solidificação em ambiente asséptico.

A cepa de *S. aureus* foi cultivada em caldo nutritivo por 24 horas, sendo a suspensão bacteriana ajustada para 0,5 na escala de McFarland, equivalente a aproximadamente $1,5 \cdot 10^8$ UFC/mL. Em seguida, 100 µL foram espalhados uniformemente sobre a superfície do ágar com auxílio de haste, assegurando inoculação homogênea. Em seguida, os discos de papel filtro foram posicionados nas placas em triplicata, e 100 µL da solução da amostra foram aplicados sobre o centro de cada disco. As placas foram incubadas a 37 °C por 24 horas em estufa.

Após a incubação, as placas foram observadas e fotografadas; os diâmetros dos halos foram então mensurados com paquímetro digital (Universal Digital 200 mm, Zaas), registrando-se as inibições totais e parciais. Os resultados obtidos foram comparados a um controle negativo constituído por discos de papel sem aplicação de amostra, a fim de avaliar a eficácia bactericida das soluções testadas. O experimento foi realizado em triplicata para

garantir repetibilidade, embora se reconheça que a formação dos halos possa apresentar irregularidades devido à natureza dos microrganismos e às características das amostras.

4.3.8. Análise Estatística dos Dados

Os dados experimentais analisados neste trabalho foram obtidos a partir de um planejamento fatorial completo do tipo 2^3 , envolvendo três fatores de síntese: concentração de monoetanolamina (MEA), temperatura e tempo de reação, cada um avaliado em dois níveis. Para cada combinação experimental foram realizadas duas repetições, totalizando 16 amostras. As variáveis resposta incluíram a proporção relativa das fases cristalinas CuO, Cu₂O e Cu metálico (Cu⁰), determinadas por refinamento Rietveld, bem como os diâmetros dos halos de inibição parcial (HR) e total (HI), utilizados como indicadores experimentais da atividade antibacteriana.

As análises estatísticas foram realizadas no ambiente R, utilizando os pacotes *readxl* para importação dos dados, *compositions* e *zCompositions* para análise de dados composicionais, e *corrplot* para visualização gráfica. Inicialmente, os dados foram inspecionados quanto à sua estrutura e distribuição por meio de funções descritivas básicas, com especial atenção às proporções das fases cristalinas (Palarea-Albaladejo; Martín-Fernández, 2015; Van Den Boogaart; Tolosana-Delgado; Bren, 2005; Wei; Simko, 2024; Wickham; Bryan, 2015).

As proporções de CuO, Cu₂O e Cu⁰ constituem dados composicionais, uma vez que representam partes de um todo constante, somando 100% em cada amostra. Esse tipo de dado está sujeito à restrição de fechamento, o que inviabiliza a aplicação direta de métodos estatísticos clássicos baseados na geometria euclidiana, como a análise de variância tradicional, devido à introdução de correlações espúrias e à violação da independência entre variáveis. Dessa forma, a análise das fases cristalinas foi conduzida sob o arcabouço da Análise de Dados Composicionais (CoDA), conforme proposto por Aitchison e desenvolvido em trabalhos posteriores (Aitchison, 1982; Pawlowsky-Glahn; Egozcue; Tolosana-Delgado, 2015).

Os dados de fases apresentaram valores nulos em algumas amostras, especialmente associados à ausência de Cu metálico. Como transformações do tipo *log-ratio* não são definidas na presença de zeros, foi necessário aplicar um procedimento formal de substituição antes da transformação composicional. Para isso, utilizou-se o método multiplicativo de substituição de zeros, implementado pela função *cmultRepl* do pacote *zCompositions* com a opção *method = "CZM"*.

Esse procedimento assume que contagens nulas decorrem de limitações amostrais ou de probabilidades de ocorrência muito baixas, e não necessariamente da ausência real do componente. A substituição dos zeros é realizada por valores pequenos definidos como uma fração de um limite superior associado à menor probabilidade estimada para cada parte. Em seguida, as partes não nulas são ajustadas multiplicativamente, de forma a preservar a estrutura composicional dos dados e manter constante a soma total (Martín-Fernández et al., 2015; Palarea-Albaladejo; Martín-Fernández, 2015).

Após a substituição dos zeros, os dados foram convertidos em objetos composicionais e submetidos à transformação *log-ratio* centrada (*clr*). Essa transformação projeta as composições do simplex para o espaço real, permitindo a aplicação de métodos estatísticos clássicos. As coordenadas *clr* obtidas representam desvios logarítmicos das proporções individuais em relação à média geométrica da composição, mantendo a informação relativa entre as fases.

Para avaliar a influência dos parâmetros de síntese sobre a composição das fases cristalinas, foram ajustados modelos de análise de variância (ANOVA) separados para cada coordenada *clr* correspondente às fases CuO, Cu₂O e Cu⁰. Os modelos incluíram os efeitos principais da concentração de MEA, temperatura e tempo, bem como todas as interações possíveis entre esses fatores. A significância estatística dos efeitos foi avaliada por meio do teste F, adotando-se nível de significância de 5% (< 0.05).

A adequação dos modelos foi avaliada por meio da inspeção gráfica dos resíduos, incluindo gráficos de resíduos *versus* valores ajustados e gráficos de probabilidade normal, bem como pela aplicação do teste de Shapiro–Wilk aos resíduos de cada modelo. Esses procedimentos permitiram verificar o atendimento aproximado aos pressupostos de normalidade e homocedasticidade, dentro das limitações impostas pelo tamanho amostral reduzido.

Inicialmente, a relação entre a composição das fases cristalinas e a atividade antibacteriana foi investigada por meio de modelos de regressão linear múltipla considerando simultaneamente as coordenadas *clr* das fases CuO, Cu₂O e Cu⁰. No entanto, devido à restrição de soma zero inerente à transformação *clr*, observou-se singularidade no ajuste dos modelos, resultante da dependência linear entre as variáveis explicativas. Diante dessa limitação, a análise foi reformulada utilizando uma abordagem baseada em razões logarítmicas entre pares de fases, especificamente a razão $\log(\text{CuO}/\text{Cu}^0)$, empregada como variável explicativa em modelos de regressão linear simples para os halos antibacterianos.

Ademais, a relação entre os halos bacteriostático (inibição parcial) e bactericida (inibição total) foi avaliada por meio do coeficiente de correlação de Spearman, um método não paramétrico para dados que não atendem necessariamente aos pressupostos de normalidade. Também foi construída uma matriz de correlação de Spearman envolvendo os halos antibacterianos e as coordenadas *clr* das fases cristalinas, permitindo explorar associações monotônicas entre a composição do material e a atividade biológica, com interpretação restrita ao caráter exploratório dessas correlações em dados composicionais. A matriz de correlação foi visualizada graficamente utilizando uma escala de cores divergente.

Embora a abordagem estatística adotada tenha sido pensada para ser a mais adequada para o tratamento de dados composicionais e para a investigação exploratória das relações entre parâmetros de síntese, composição de fases e atividade antibacteriana, algumas limitações devem ser reconhecidas. O número reduzido de amostras limita o poder estatístico das análises, especialmente para a detecção de efeitos de interação de ordem superior, e os resultados obtidos devem ser interpretados como evidências associativas, não permitindo inferências causais diretas. O código utilizado para a análise estatística está disponível no Apêndice A.

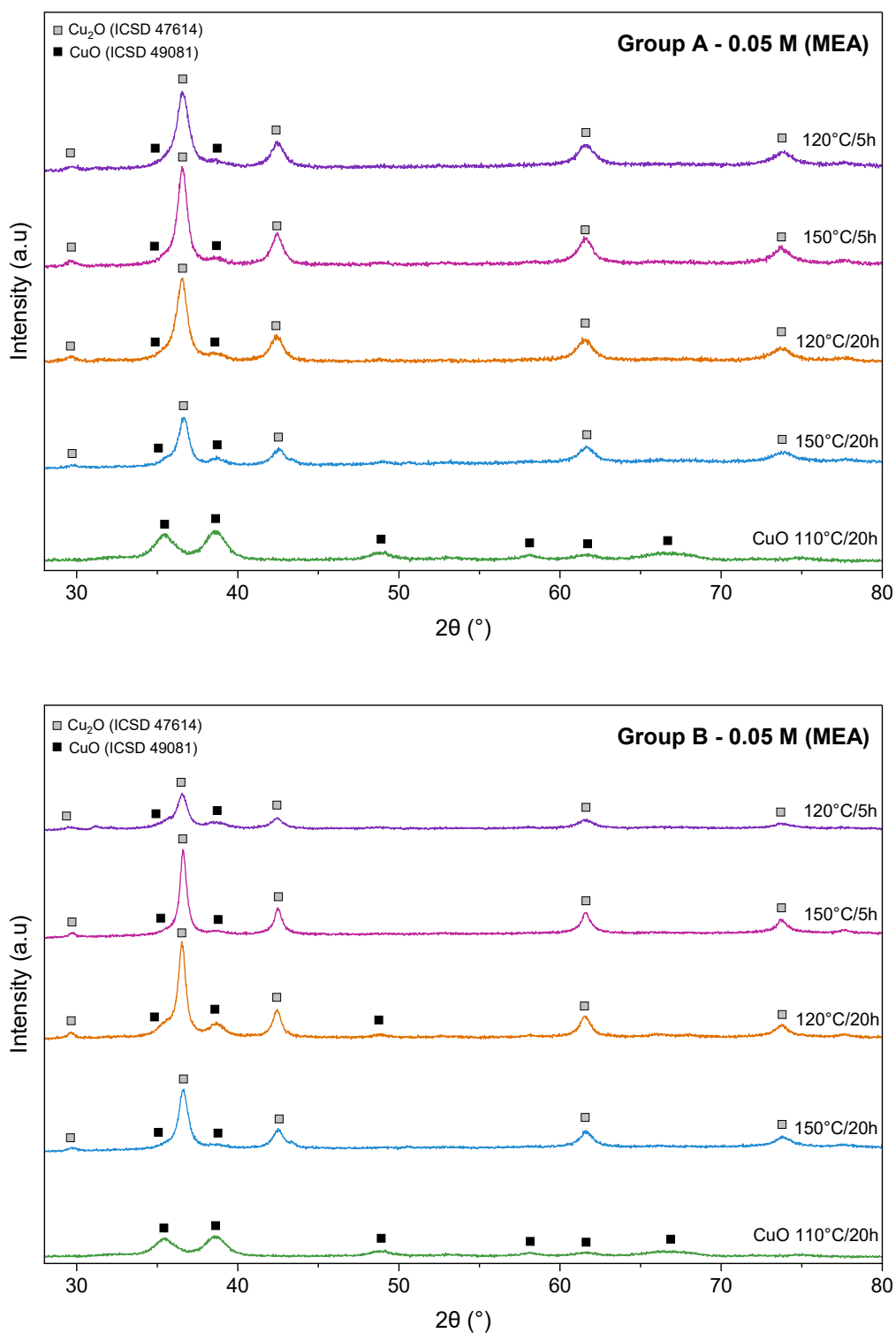
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Análise Estrutural e Quantificação de Fases

5.1.1. Difração de Raios X

A principal variável de resposta investigada neste trabalho foi a composição cristalina dos materiais sintetizados, a qual foi determinada por meio da técnica de difração de raios X (DRX). A Figura 5.1 apresenta os difratogramas obtidos para o primeiro conjunto de amostras (Grupo A), preparado com concentração de monoetanolamina de 0,05 M, bem como para o segundo conjunto de amostras (Grupo B), igualmente sintetizado com concentração de monoetanolamina de 0,05 M. Os grupos A e B correspondem a duas séries independentes de sínteses realizadas sob as mesmas condições nominais, com o objetivo de avaliar a repetibilidade do procedimento solvotérmico. Para fins de comparação, também é apresentado o difratograma da amostra controle de CuO, sintetizada de acordo com procedimentos previamente descritos na literatura (Nogueira et al., 2016).

Figura 5.1 Difratogramas das amostras dos grupos A e B preparadas com 0,05 M de MEA.



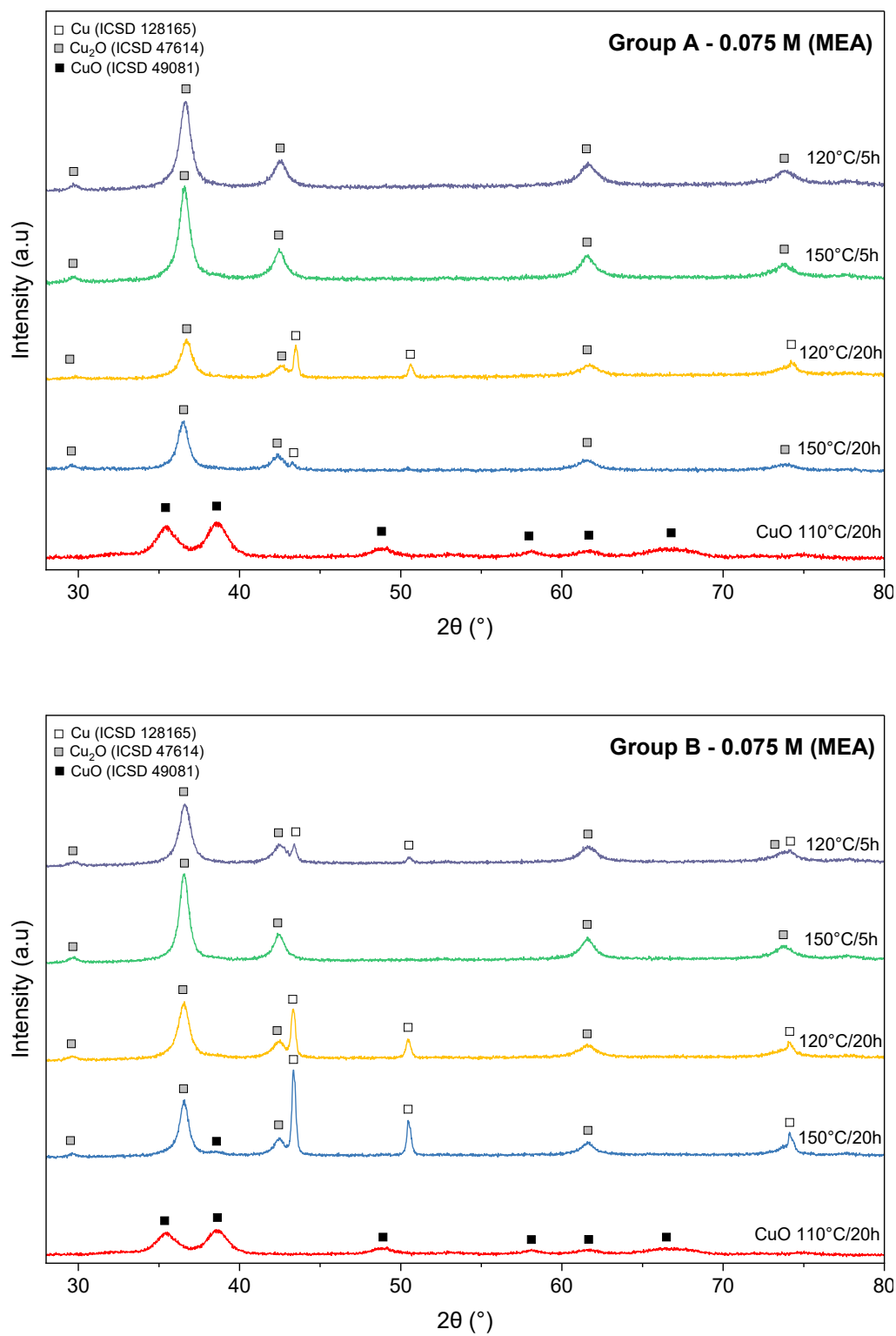
Fonte: Elaboração da autora.

Ao analisar os resultados obtidos para a concentração de 0,05 M de MEA, observa-se que os perfis de difração referentes a cada par de amostras apresentam coerência entre si. Os picos de difração surgem nos mesmos ângulos 2θ , confirmando a formação das mesmas fases cristalinas, Cu_2O (ICSD 47614) e CuO (ICSD 49081), em ambas as séries de experimentos. A razão entre as intensidades dos picos característicos de Cu_2O , localizados em 29.61° , 36.48° , 42.38° , 61.47° e 77.51° , e aqueles atribuídos ao CuO , localizados em 35.53° , 38.74° , 48.78° , 58.34° , 61.56° , 66.25° e 68.08° , mantém-se semelhante entre as duplicatas (Budi et al., 2022; Shaw et al., 2022).

Observa-se que o Cu_2O constitui a fase majoritária em todas as condições analisadas. A fase CuO manifesta-se por meio de picos de menor intensidade, ou como ombros localizados próximos a $35,5^\circ$ e $38,7^\circ$, ao lado do pico principal associado ao óxido cuproso. Sob uma perspectiva estritamente observacional, os dados indicam que o aumento do tempo de reação não foi suficiente para promover a eliminação da fase CuO nem a sua conversão completa em outras fases cristalinas na concentração molar considerada.

Nesse contexto, ao aumentar a concentração de MEA na solução para uma concentração de 0,075 M, observa-se uma modificação no sistema, conforme ilustrado na Figura 5.2.

Figura 5.2 Difratogramas das amostras dos grupos A e B preparadas com 0,075 M de MEA.



Fonte: Elaboração da autora.

A principal diferença observada é o surgimento da fase cúbica do cobre metálico, Cu^0 (ICSD 128165), identificada pelo conjunto de picos de difração localizados em 43.34° , 50.48° , 74.15° (Shkvarina et al., 2023). Nas amostras submetidas a 5 h de tratamento térmico, o Cu_2O permanece como a fase cristalina predominante, indicando que, nesse intervalo, o sistema não evolui significativamente para estados de oxidação mais próximos de zero. Entretanto, ao se estender o tempo de reação para 20 h, observa-se o aparecimento de um pico bem definido em torno de 43° , atribuído às reflexões características do cobre metálico (Cu^0). Esse pico é corroborado pela presença de outras reflexões menos intensas, localizadas aproximadamente em 50° e 74° , reforçando a formação da fase metálica.

A análise comparativa entre os grupos experimentais mostra que, no Grupo B, especificamente na condição de 150°C por 20 h, a reflexão em 43° associada ao Cu^0 apresenta um aumento expressivo de intensidade relativa em relação às amostras do Grupo A e às condições de menor tempo de tratamento. Apesar dos parâmetros experimentais serem idênticos, essa diferença entre as séries A e B, sintetizadas em lotes independentes, é compatível com a variabilidade esperada entre réplicas em sistemas solvotérmicos. Pequenas variações locais nos processos de nucleação e crescimento da fase metálica podem gerar diferenças na intensidade relativa dos picos, sem indicar a introdução de um novo fator experimental ou comprometer a repetibilidade do sistema.

Diferentemente do que foi observado nas amostras sintetizadas com 0,05 M de MEA, o aumento do tempo de reação de 5 h para 20 h nesta condição provoca uma alteração perceptível no padrão de difração, marcada pelo surgimento e intensificação dos picos associados ao cobre metálico. A variação de intensidade entre os grupos A e B, preparados como réplicas independentes, permanece dentro da faixa esperada para repetições do mesmo procedimento. A fase CuO , por sua vez, permanece apenas de forma residual, sendo detectada como traços sutis em uma das amostras.

Por fim, a partir do ajuste individual dos picos e da determinação da largura à meia altura (FWHM), foram estimados os tamanhos médios de cristalito pela equação de Scherrer. Para cada amostra, foram considerados no mínimo quatro reflexões, e o valor final corresponde à média aritmética dos domínios calculados. De modo geral, os tamanhos médios de cristalito situaram-se entre aproximadamente 6 e 13 nm, confirmando que todos os materiais apresentam organização cristalina na escala nanométrica. No entanto, variações são observadas quando os resultados são analisados em função das condições de síntese.

A análise dos dados indica que o tempo de síntese exerce um efeito positivo significativo sobre o tamanho médio de cristalito. Para amostras com 20 h, as médias de tamanho foram 8,89

nm para o Grupo A e 10,66 nm para o Grupo B, enquanto para 5 h as médias foram menores, 7,82 nm e 8,51 nm, respectivamente. Isso mostra que o aumento do tempo de 5 h para 20 h promove um crescimento médio de aproximadamente 1,07 nm no Grupo A e 2,15 nm no Grupo B, sugerindo que tempos mais longos favorecem a cristalização.

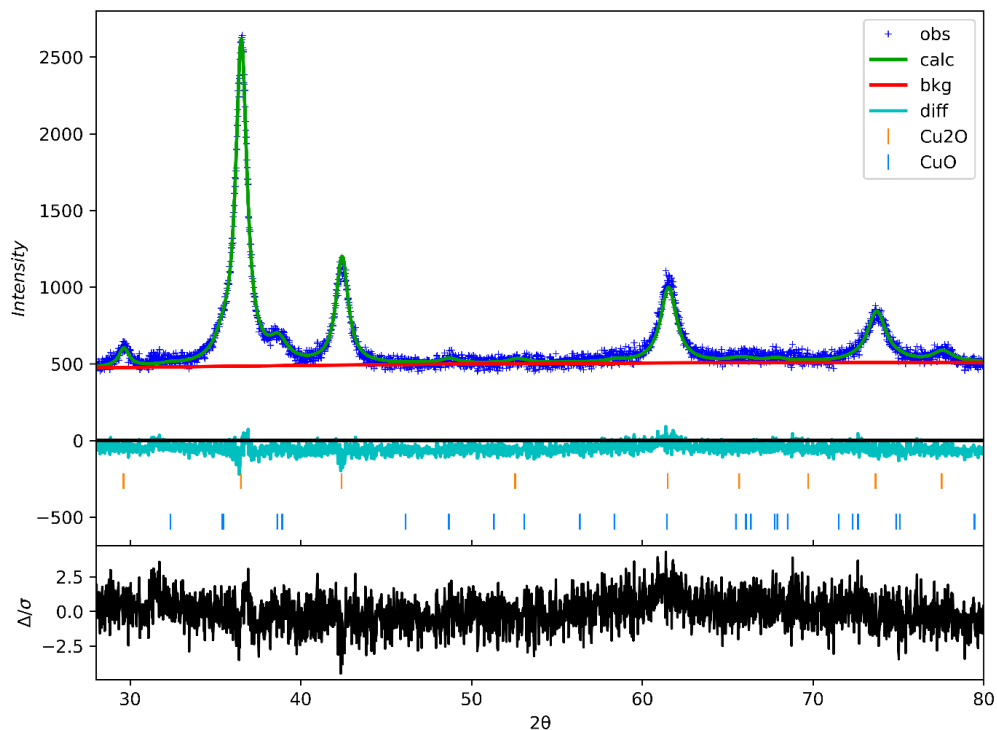
A concentração de MEA também apresentou efeito positivo sobre o tamanho dos cristalitos. Para 0,05 M, os tamanhos médios foram 7,42 nm (Grupo A) e 8,26 nm (Grupo B), enquanto para 0,075 M os valores aumentaram para 9,30 nm e 10,91 nm, respectivamente. Esse aumento corresponde a cerca de 1,88 nm no Grupo A e 2,65 nm no Grupo B, indicando que a maior concentração de MEA potencializa o crescimento de cristalitos. Quanto à temperatura, os efeitos foram mais sutis e dependentes do grupo: em 120°C, os tamanhos médios foram 8,67 nm (A) e 9,36 nm (B), e em 150°C, 8,05 nm (A) e 9,82 nm (B), mostrando uma ligeira diminuição no Grupo A (~0,61 nm) e aumento no Grupo B (~0,46 nm).

Esses resultados estão em concordância com a literatura, pois o aumento na concentração dos precursores costuma levar à formação de cristalitos de maior tamanho (Elovikov et al., 2024). De maneira semelhante, o fator tempo indica que períodos de síntese mais longos favorecem o crescimento médio dos cristalitos, permitindo que o desenvolvimento cristalino continue após a nucleação inicial (Kavitha et al., 2015). Além disso, o aumento da temperatura de síntese geralmente resulta em cristalitos maiores, devido ao aumento da energia térmica disponível para o crescimento cristalino (Kovács et al., 2022). Neste estudo, como a variação da temperatura apresenta uma baixa amplitude, a pequena variação observada pode ser explicada, uma vez que pequenas variações de temperatura podem não fornecer energia suficiente para mudanças substanciais (Vijayakumar et al., 2015).

5.1.2. Refinamento Rietveld

Após a identificação qualitativa das fases cristalinas por meio de Difração de Raios X (DRX), aplicou-se o método de refinamento Rietveld para quantificar, em termos de fração em massa (%), a proporção de cada fase presente (CuO , Cu_2O e Cu^0). A Figura 5.3 ilustra um exemplo de refinamento realizado no *software* GSAS-II, evidenciando tanto as fases identificadas quanto a qualidade do ajuste entre os dados experimentais (curva azul) e o modelo teórico (curva verde).

Figura 5.3 Exemplo de refinamento Rietveld realizado no software GSAS-II para identificação e quantificação das fases cristalinas presentes na amostra.



Fonte: Elaboração própria a partir de dados obtidos com o software GSAS-II (Toby; Von Dreele, 2013).

Esse procedimento foi aplicado a todas as 16 amostras caracterizadas por DRX, cujos resultados quantitativos encontram-se na Tabela 5.1.

Tabela 5.1 Resultados quantitativos do Refinamento Rietveld para os conjuntos de amostra A e B.

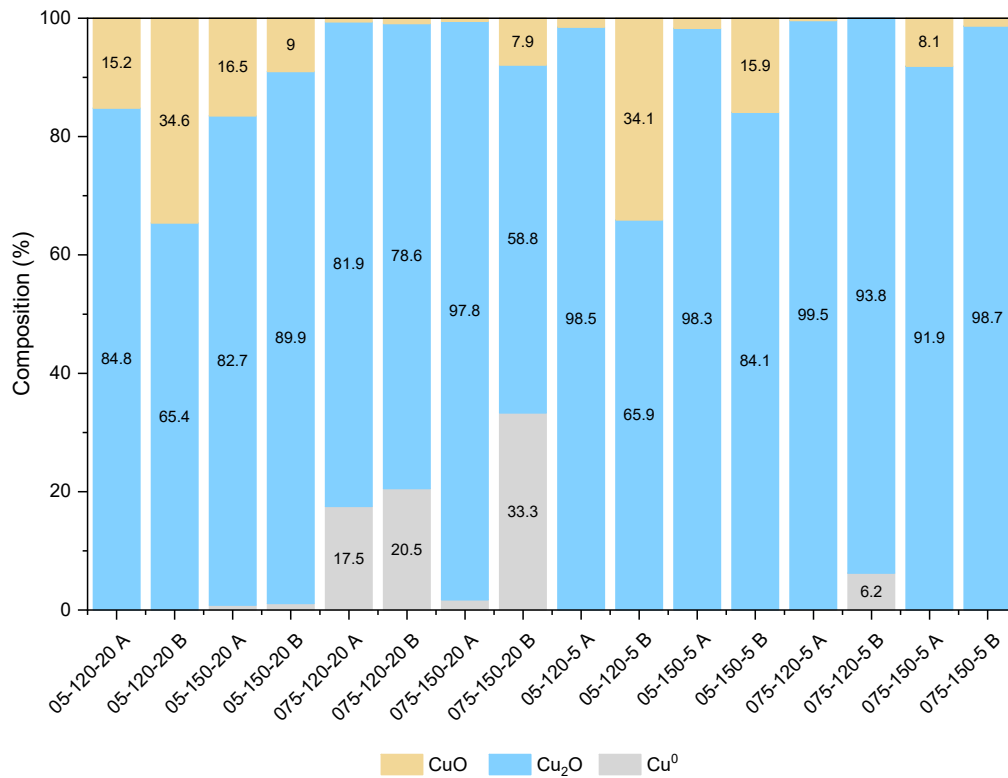
Amostra	Quantidade de Cu ⁰ (%)	Quantidade de Cu ₂ O (%)	Quantidade de CuO (%)	Fator R _{wp}	Fator χ^2
05-120-20 A	0,0	84,8	15,2	4,657	1,16
05-150-20 A	0,8	82,7	16,5	6,005	1,24
075-120-20 A	17,5	81,9	0,6	6,743	1,23
075-150-20 A	1,7	97,8	0,5	6,492	1,14
05-120-5 A	0,0	98,5	1,5	5,185	1,30
05-150-5 A	0,0	98,3	1,7	5,282	1,31
075-120-5 A	0,1	99,5	0,4	5,177	1,15
075-150-5 A	0,0	91,9	8,1	5,078	1,13
05-120-20 B	0,0	65,4	34,6	4,152	1,10
05-150-20 B	1,1	89,9	9,0	5,452	1,23
075-120-20 B	20,5	78,6	0,9	5,147	1,17
075-150-20 B	33,3	58,8	7,9	4,982	1,13
05-120-5 B	0,0	65,9	34,1	5,443	1,15
05-150-5 B	0,0	84,1	15,9	5,843	1,33
075-120-5 B	6,2	93,8	0,0	5,098	1,18
075-150-5 B	0,0	98,7	1,3	4,758	1,12

Fonte: Elaboração da autora.

Conforme apresentado, os valores do fator de perfil ponderado R_{wp} para todos os refinamentos situam-se na faixa de 4,1% a 6,7%. Na difratometria, valores de R_{wp} abaixo de 10% são considerados bons e, abaixo de 5%, indicam um ajuste excelente entre o modelo cristalográfico teórico e os dados experimentais. Ademais, os valores de χ^2 encontram-se entre 1,10 e 1,33. Um valor ideal para o χ^2 é próximo de 1,0, e valores abaixo de 2,0 são aceitos como representativos de um refinamento de boa qualidade (Young, 1995). Portanto, os valores de R_{wp} e χ^2 , alinhados aos parâmetros de referência, sugerem a adequação dos modelos estruturais utilizados e a confiabilidade dos resultados de quantificação de fases.

Assim, com o intuito de facilitar a visualização e a compreensão das proporções relativas de Cu^0 , Cu_2O e CuO em cada condição experimental, apresenta-se a Figura 5.4, na qual são ilustradas graficamente as frações de fases identificadas para cada amostra.

Figura 5.4 Distribuição das frações de fases (Cu^0 , Cu_2O e CuO) nas amostras A e B obtidas a partir do refinamento Rietveld.



Fonte: Elaboração da autora.

Observa-se que o óxido de cobre (I), Cu_2O , constitui a fase cristalina majoritária em todas as dezesseis amostras analisadas (incluindo duplicatas A e B). A fração de massa de Cu_2O atingiu o patamar de 99,5% na condição experimental 075-120-5 A e manteve-se consistentemente acima de 58,8% em todo o planejamento fatorial. A análise das proporções indica que, nas faixas de temperatura (120°C e 150°C) e tempo (5 e 20 horas) investigadas neste planejamento fatorial, a fase Cu_2O permaneceu dominante em todas as condições experimentais avaliadas.

Em contrapartida, a fase CuO manifestou-se como constituinte secundário com maior oscilação quantitativa. O registro máximo desta fase ocorreu na amostra 05-120-20 B (34,6%), enquanto em condições como a 075-120-5 B, a fase foi considerada ausente (0,0%) dentro dos limites de detecção do método. Já o cobre metálico remanescente (Cu^0) apresentou variação associada à concentração de MEA. Nas amostras tratadas com 0,05 M de MEA, o Cu^0

apresentou teores residuais discretos (até 1,1%). Sob a concentração de 0,075 M, a formação de Cu^0 tornou-se expressiva, atingindo 20,5% na amostra 075-120-20 B e o valor máximo de 33,3% na condição 075-150-20 B. Tais tendências sugerem que a fração residual da fase metálica está associada à variação da concentração do agente químico e ao tempo de exposição empregados no processo.

A variabilidade observada entre as duplicatas A e B, embora influenciada por fatores instrumentais e microestruturais, deve ser analisada principalmente sob a ótica do procedimento de preparação. Conforme a Tabela 4.3, o baixo rendimento individual de certos lotes exigiu a combinação de múltiplas sínteses independentes, chegando a seis lotes para a amostra 075-120-5 B, a fim de compor a massa mínima requerida para as análises.

Este procedimento de amostragem composta introduz uma fonte adicional de variância, uma vez que o desvio padrão da massa obtida por síntese sugere instabilidades na cinética de precipitação. Consequentemente, a heterogeneidade entre lotes, se aliada a uma homogeneização incompleta da amostra final, pode resultar em flutuações nas frações de massa, visto que a alíquota analisada no difratômetro pode representar preferencialmente um dos componentes. Ressalta-se, contudo, que a estabilidade dos parâmetros R_{wp} e χ^2 em ambos os grupos de duplicatas garante que tais oscilações decorrem de variações reais na composição e não de instabilidades no algoritmo de refinamento.

Apesar das variações numéricas e da complexidade na composição das amostras, o sistema apresentou comportamento consistente entre as duplicatas. A trajetória química da reação, definida pela fase predominante e pela natureza dos produtos secundários, foi repetida entre os conjuntos A e B na maioria das condições experimentais. Esta estabilidade é exemplificada na condição 0,075 M de MEA a 120°C por 5 horas: a amostra A (2 sínteses) registrou 99,5% de Cu_2O , enquanto a amostra B (6 sínteses) manteve a fase como majoritária absoluta com 93,8%.

Essas observações sugerem que, embora o rendimento e aspectos cinéticos do processo possam apresentar oscilações entre sínteses, o caminho reacional e a seletividade química exibem comportamento consistente nas condições investigadas. A recorrente predominância da mesma fase cristalina ao longo do planejamento fatorial indica que as variáveis experimentais consideradas (concentração de MEA, temperatura e tempo) estão associadas à definição do perfil de fases obtido, dentro das limitações impostas e considerando a variabilidade associada ao processo solvotérmico, a dispersão quantitativa observada nos resultados reflete o limite de precisão experimental das medidas, sem comprometer a caracterização qualitativa do fenômeno químico em estudo.

5.1.3. Análise Estatística dos Dados de Rietveld

As proporções relativas das fases CuO, Cu₂O e Cu⁰ foram inicialmente avaliadas por meio de estatística descritiva. Observou-se ampla variação na composição das amostras, com valores de Cu₂O predominantes na maioria dos ensaios, enquanto CuO e Cu⁰ apresentaram maior dispersão, incluindo a ocorrência de valores nulos em algumas condições experimentais. Devido à presença de zeros, foi realizada a substituição desses valores por um método multiplicativo, preservando a estrutura relativa das composições. Em seguida, os dados foram transformados por meio da transformação *log-ratio* centrada (*clr*), permitindo sua projeção em um subespaço euclidiano de dimensão reduzida, no qual podem ser aplicados modelos lineares clássicos. Contudo, ressalta-se que a substituição de zeros introduz incerteza adicional na análise, especialmente em conjuntos de dados pequenos, devendo os resultados serem interpretados de forma cautelosa.

A influência dos parâmetros de síntese, concentração de MEA, temperatura e tempo, sobre as proporções relativas das fases foi avaliada por meio da ANOVA, aplicada separadamente aos valores transformados por *clr* de cada fase. O código utilizado para a análise estatística está disponível no Apêndice A.

Para a fase CuO, a ANOVA indicou efeito estatisticamente significativo da concentração de MEA ($F_{1,8} = 26,82$; $p < 0,001$), bem como da interação entre MEA e temperatura ($F_{1,8} = 7,48$; $p = 0,026$). Os fatores temperatura e tempo, considerados isoladamente, não apresentaram efeito significativo ($p > 0,05$), assim como as demais interações. Esses resultados indicam que a variação relativa da fase CuO apresenta associação estatisticamente significativa com a concentração de MEA, bem como com a interação entre MEA e temperatura.

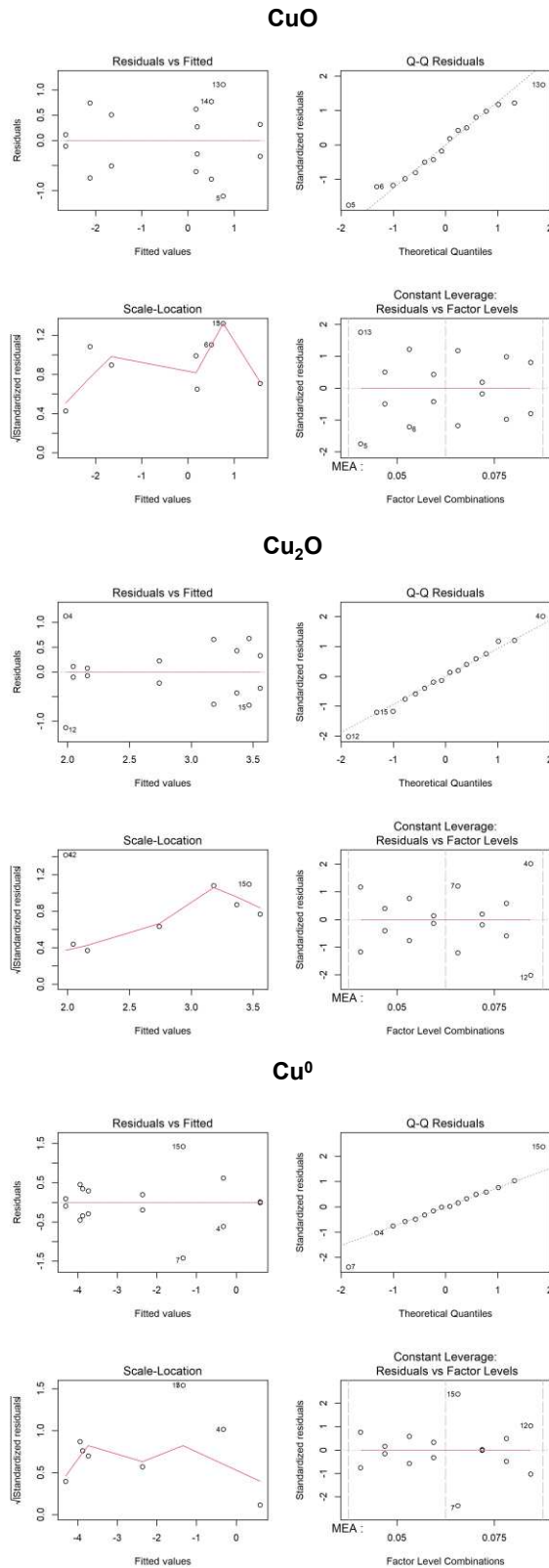
No caso da fase Cu₂O, observou-se efeito estatisticamente significativo apenas do fator tempo ($F_{1,8} = 8,61$; $p = 0,019$). A concentração de MEA, a temperatura e as interações entre os fatores não apresentaram significância estatística ao nível de 5%. Esse resultado sugere que a proporção relativa de Cu₂O mostrou associação com a duração do processo de síntese, enquanto os demais parâmetros exercem influência menos pronunciada dentro das condições estudadas.

Para a fase metálica Cu⁰, a análise revelou efeitos estatisticamente significativos da concentração de MEA ($F_{1,8} = 32,83$; $p < 0,001$) e do tempo ($F_{1,8} = 14,82$; $p = 0,005$), além das interações MEA × temperatura ($F_{1,8} = 9,94$; $p = 0,014$) e MEA × tempo ($F_{1,8} = 6,19$; $p = 0,038$). A interação entre temperatura e tempo apresentou tendência à significância ($p = 0,084$), enquanto a interação de terceira ordem não foi significativa. Esses resultados indicam que a

variação relativa da fase de Cu^0 depende de forma combinada dos parâmetros do processo, especialmente da concentração de MEA associada às demais variáveis operacionais.

A adequação dos modelos de ANOVA foi avaliada por meio da análise dos resíduos. Os testes de normalidade de Shapiro–Wilk aplicados aos resíduos dos modelos de CuO , Cu_2O e Cu^0 não indicaram desvios significativos da normalidade ($p > 0,05$ em todos os casos). A Figura 5.5 apresenta os gráficos de resíduos *versus* os valores ajustados, gráficos Q-Q e gráficos *scale-location* para cada uma das fases.

Figura 5.5 Gráficos de diagnóstico dos resíduos dos modelos de ANOVA para as fases CuO, Cu₂O e Cu⁰



Fonte: Elaboração da autora.

Os gráficos de resíduos *versus* valores ajustados foram utilizados para avaliar a presença de padrões indicativos de violação das suposições de linearidade ou heterocedasticidade. Nos modelos de Cu^0 e CuO , os resíduos apresentaram dispersão aproximadamente aleatória em torno de zero, sem evidência de curvatura ou tendência sistemática. No modelo Cu_2O , a linha suavizada exibe leve tendência crescente ao longo dos valores ajustados; contudo, dado o tamanho amostral reduzido e a sensibilidade da suavização a pontos individuais nessas condições, esse padrão não pode ser interpretado de forma conclusiva.

Os gráficos Q–Q indicaram aderência geral dos resíduos à distribuição normal, com discrepâncias discretas nas extremidades, mais expressivas nos modelos Cu^0 e Cu_2O , particularmente na cauda inferior. Esses afastamentos são atribuíveis, ao menos em parte, ao tamanho amostral reduzido e à incerteza introduzida pela substituição de zeros e pela transformação *clr*. Os resultados do teste de Shapiro–Wilk ($p > 0,05$ em todos os modelos) fornecem suporte formal à suposição de normalidade.

Os gráficos *scale–location* corroboraram o diagnóstico anterior. Nos modelos Cu^0 e CuO , a linha suavizada não apresentou tendência monotônica, sendo as flutuações observadas compatíveis com a variabilidade esperada para o tamanho amostral considerado. No modelo Cu_2O , o comportamento ligeiramente crescente da linha suavizada é consistente com o padrão identificado no gráfico de resíduos *versus* valores ajustados, reforçando a necessidade de cautela na interpretação desse modelo.

Por fim, os gráficos de resíduos padronizados em função dos níveis dos fatores não indicaram padrões relacionados a combinações específicas de fatores, nem apresentaram agrupamentos assimétricos consistentes. No modelo Cu_2O , uma observação próxima ao limite convencional de ± 2 , correspondente ao nível de 0,075 M de MEA, merece atenção, mas não compromete a avaliação global da adequação dos modelos.

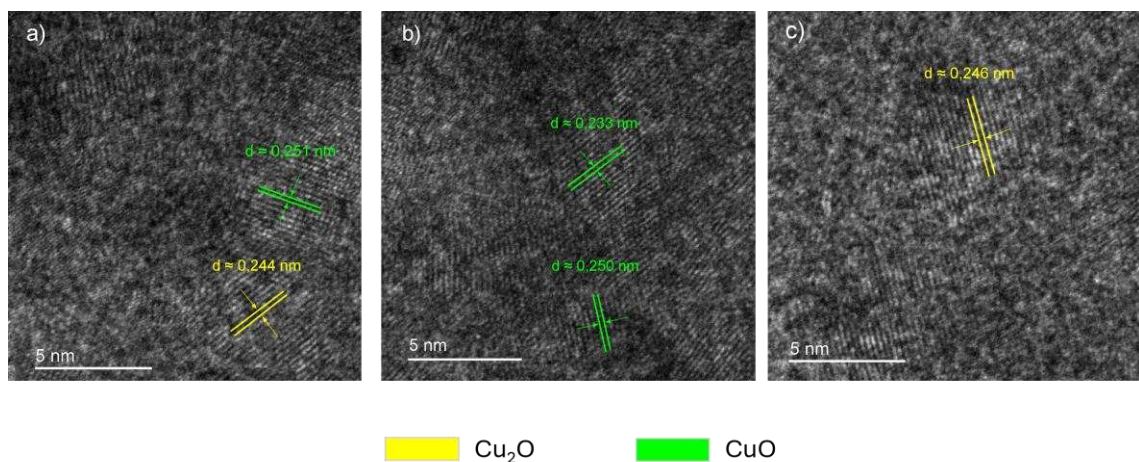
5.1.4. Análise Microestrutural por HRTEM

A microestrutura dos catalisadores foi investigada por microscopia eletrônica de transmissão de alta resolução (HRTEM), com o objetivo de identificar as fases cristalinas presentes e avaliar a distribuição, em escala nanométrica, dos domínios de Cu^0 , Cu_2O e CuO . Para essa análise, foram selecionadas duas amostras representativas: 05-120-5 B e 075-120-20 B. A escolha dessas amostras foi baseada nos resultados previamente obtidos por difração de raios X (DRX) e refinamento de Rietveld, os quais indicaram predominância da fase Cu_2O na amostra 05-120-5 B, acompanhada por uma fração significativa de CuO , enquanto na amostra

075-120-20 B também se observou predominância de Cu_2O , com CuO e Cu^0 presentes apenas em quantidades residuais.

As regiões cristalinas observadas nas imagens de HRTEM dessas amostras permitiram a análise das franjas de rede e sua correlação com os picos identificados nos difratogramas de DRX, bem como com os parâmetros cristalográficos utilizados no refinamento de Rietveld. As Figuras 5.6 e 5.7 apresentam as imagens de HRTEM das amostras 05-120-5 B e 075-120-20 B, respectivamente.

Figura 5.6 Imagens de HRTEM da amostra 05-120-5 B evidenciando franjas de rede de Cu_2O e CuO , com identificação dos espaçamentos interplanares correspondentes.

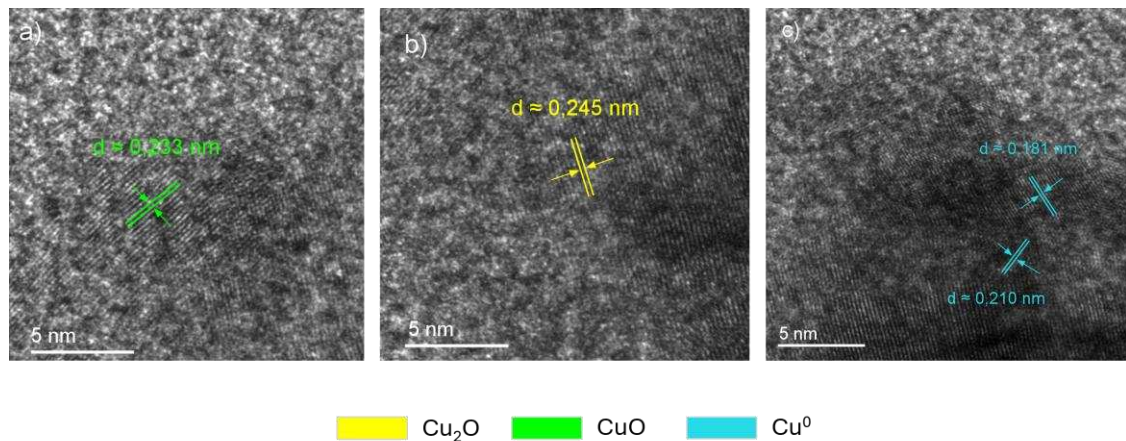


Fonte: Elaboração da autora.

A Figura 5.6 apresenta micrografias de HRTEM da amostra 05-120-5 B, nas quais se observam diferentes domínios cristalinos com dimensões da ordem de 5 nm. As franjas de rede identificadas foram correlacionadas aos espaçamentos interplanares obtidos a partir dos picos de DRX, mediante aplicação da Lei de Bragg e considerando os parâmetros cristalográficos das fases empregadas no refinamento de Rietveld. As regiões destacadas em verde correspondem a franjas com espaçamentos interplanares da ordem de $d \approx 0,251$, $0,250$ e $0,233$ nm, atribuídos à fase CuO . Os valores próximos de $0,251$ – $0,250$ nm são compatíveis com reflexões associadas à família de planos $(\bar{1}11)/(002)$, enquanto o espaçamento $d \approx 0,233$ nm é consistente com o plano (111) da fase tenorita, em concordância com dados cristalográficos reportados na literatura (Shaw et al., 2022). As marcações em amarelo indicam franjas com $d \approx 0,244$ e $0,246$ nm, atribuídas ao plano (111) da fase Cu_2O (cuprita), cujo espaçamento interplanar característico situa-se em aproximadamente $0,246$ nm para radiação $\text{CuK}\alpha$, também em acordo com valores de referência (Budi et al., 2022). Em conjunto, as imagens de HRTEM corroboram, em escala local, a coexistência de domínios cristalinos de Cu_2O e CuO na amostra 05-120-5 B,

em consonância com as fases identificadas por DRX e confirmadas pelo refinamento de Rietveld.

Figura 5.7 Imagens de HRTEM da amostra 075-120-20 B evidenciando franjas de rede de Cu^0 , Cu_2O e CuO , com identificação dos espaçamentos interplanares correspondentes.



Fonte: Elaboração da autora.

A Figura 5.7 apresenta micrografias de HRTEM da amostra 075-120-20 B, nas quais são observados domínios cristalinos associados às três fases de cobre consideradas no refinamento estrutural: CuO , Cu_2O e Cu^0 . As regiões destacadas em verde apresentam espaçamento interplanar de $d \approx 0,233 \text{ nm}$, valor atribuído ao plano (111) da fase CuO , em concordância com as reflexões correspondentes observadas nos difratogramas de raios X. As marcações em amarelo exibem espaçamento de $d \approx 0,245 \text{ nm}$, compatível com o plano (111) da fase Cu_2O (cuprita), de acordo com os parâmetros cristalográficos utilizados no refinamento estrutural. Por sua vez, as franjas indicadas em azul-claro apresentam espaçamentos interplanares de $d \approx 0,210 \text{ nm}$ e $d \approx 0,181 \text{ nm}$, os quais foram indexados, respectivamente, aos planos (111) e (200) do cobre metálico, cuja estrutura cristalina corresponde a uma rede cúbica de face centrada (FCC), em concordância com dados cristalográficos de referência para Cu^0 (Shkvarina et al., 2023).

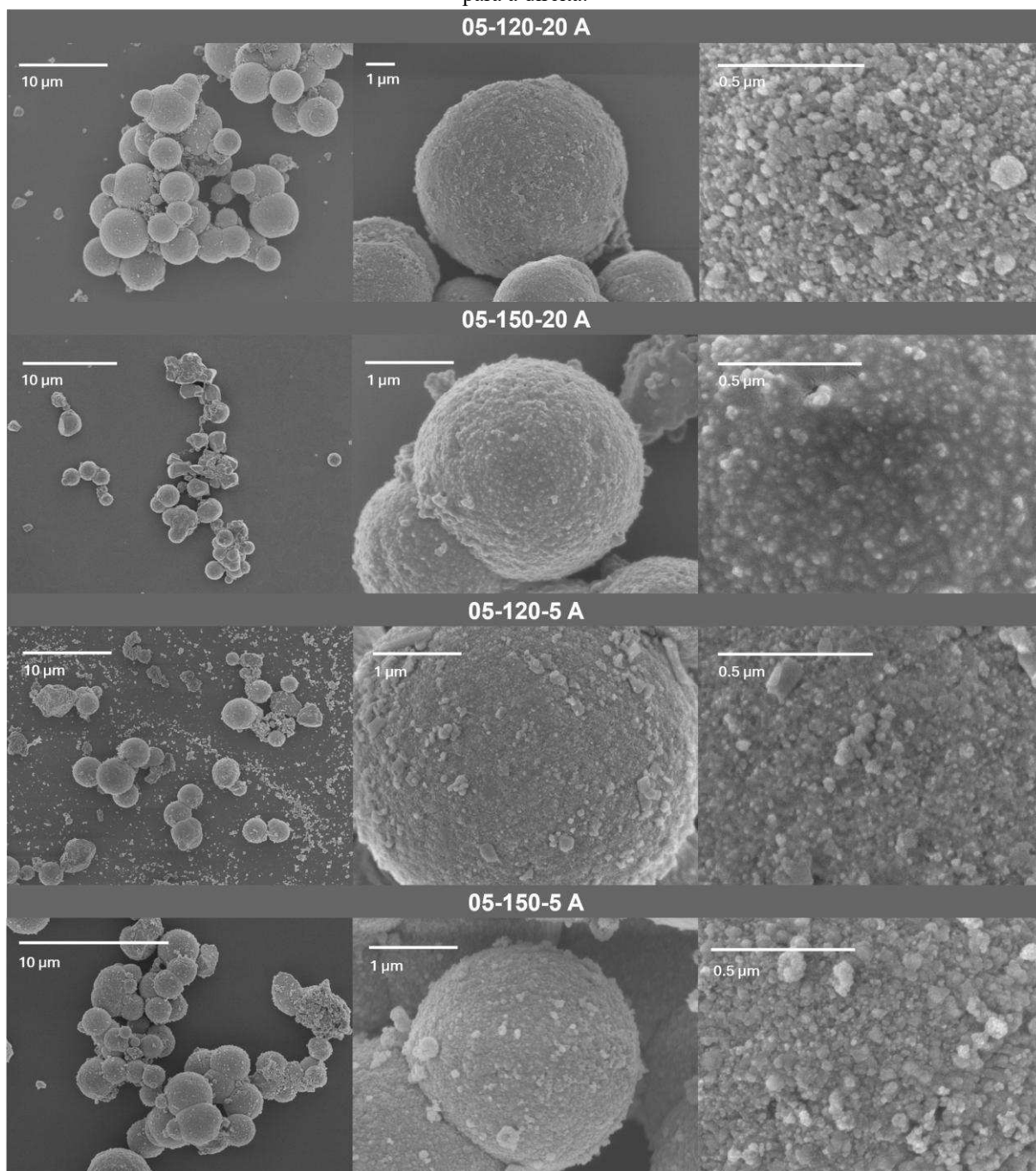
5.2. Análise Morfológica e Química Complementar

5.2.1. Análise Morfológica por MEV-FEG

A morfologia dos materiais foi analisada por Microscopia Eletrônica de Varredura com Emissão de Campo (MEV-FEG) para observar como as condições de síntese afetaram o tamanho, a forma e o grau de agregação das partículas. O estudo comparou as amostras obtidas com as concentrações de 0,05 M (Figura 5.8) e 0,075 M de MEA (Figura 5.9). Como as análises

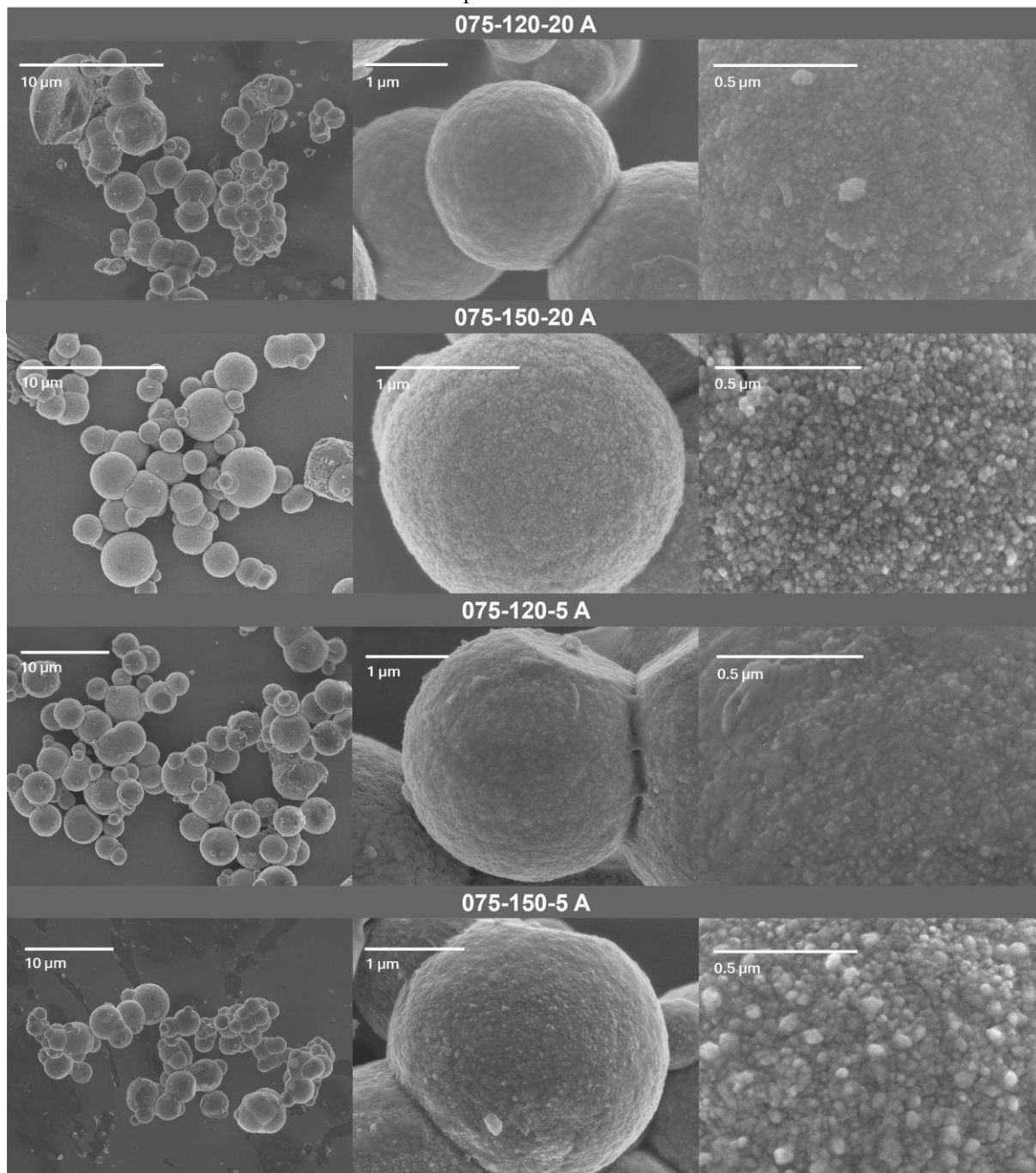
de microscopia não incluíram as duplicatas, os resultados apresentados referem-se exclusivamente às amostras do conjunto A, não constando dados sobre o conjunto B nesta seção.

Figura 5.8 Micrografias de MEV-FEG das amostras sintetizadas com 0,05 M de MEA em diferentes temperaturas e tempos. Cada linha detalha uma condição experimental, com aumentos sucessivos da esquerda para a direita.



Fonte: Elaboração da autora.

Figura 5.9 Micrografias de MEV-FEG das amostras sintetizadas com 0,075 M de MEA em diferentes temperaturas e tempos. Cada linha detalha uma condição experimental, com aumentos sucessivos da esquerda para a direita.



Fonte: Elaboração da autora.

A análise morfológica por MEV revelou que o sistema sintetizado apresenta uma morfologia compatível com um crescimento hierárquico, caracterizado pela formação de microsferas secundárias a partir da organização de unidades nanométricas primárias. Nas imagens de maior magnificação, as da direita, observa-se que a superfície das esferas não é lisa, mas composta por um aglomerado denso de pequenos grãos cristalinos.

Essa morfologia é compatível com um mecanismo de crescimento baseado na agregação e coalescência de partículas primárias formadas inicialmente no meio solvotérmico, em oposição a um crescimento por deposição atômica contínua sobre um núcleo único. A organização dessas subunidades em estruturas aproximadamente esféricas pode ser associada a processos termodinamicamente favorecidos, nos quais a agregação contribui para a redução da energia superficial do sistema, resultando na morfologia observada de forma recorrente nas diferentes condições experimentais (Almeida et al., 2024).

A comparação entre as condições de síntese evidencia o efeito da temperatura sobre a microestrutura superficial. As amostras preparadas a 150 °C apresentam unidades constituintes com contornos mais definidos em relação às obtidas a 120 °C, como observado ao comparar as amostras 05-120-20 A e 05-150-20 A. Esse comportamento sugere que o aumento da energia térmica disponível favorece o crescimento ou a cristalização dos domínios superficiais, sem, contudo, alterar a morfologia esférica global das partículas.

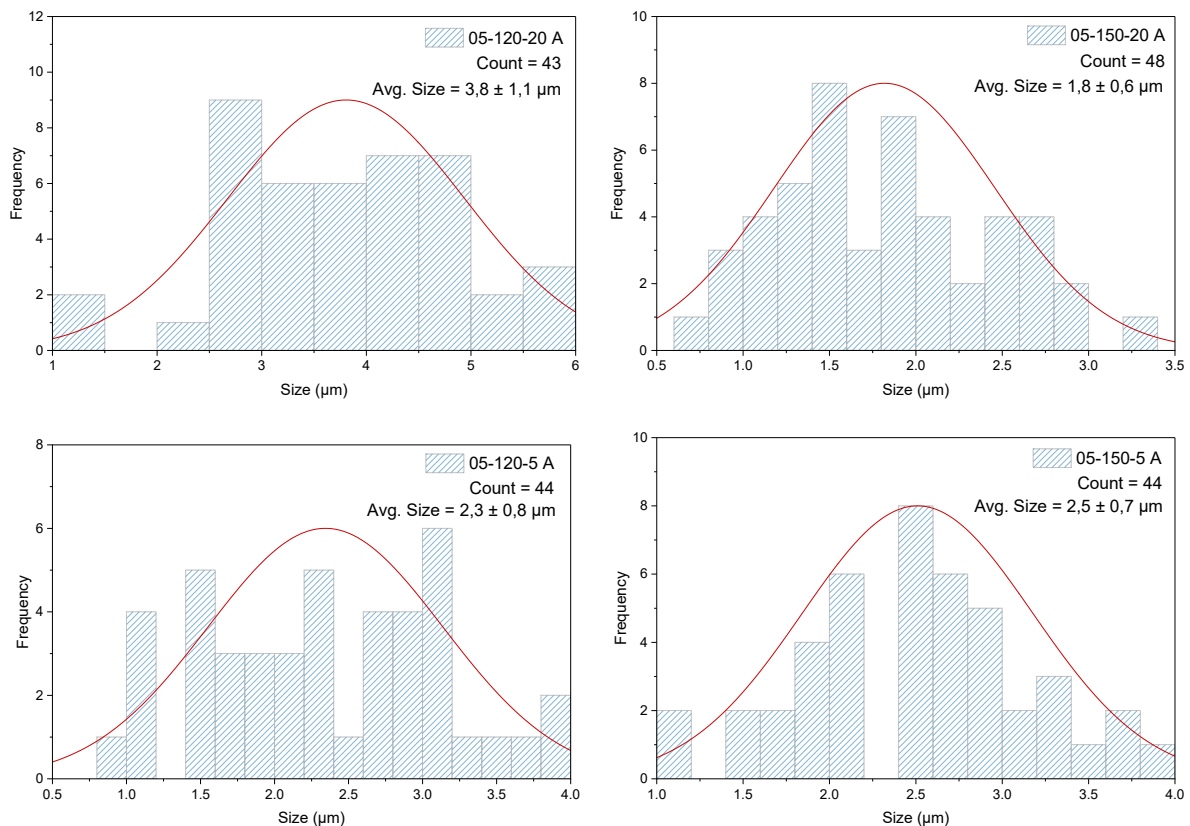
O efeito do tempo de reação manifesta-se no grau de organização do sistema. Nas amostras sintetizadas por 5 horas, observa-se maior presença de partículas finas e fragmentos dispersos ao redor das microesferas principais, enquanto nas amostras obtidas após 20 horas essas estruturas aparecem mais isoladas, sugerindo que o tempo prolongado favorece a incorporação ou o consumo das partículas menores pelas estruturas maiores. Em algumas condições, como na amostra 075-120-5 A, observam-se interfaces de contato ou “pescoços” entre esferas adjacentes, indicando que processos de agregação continuam ocorrendo após a formação inicial das microesferas.

Quanto à concentração de MEA, a comparação entre as Figuras 5.5 e 5.6 indica que o aumento da concentração do agente químico contribuiu para uma maior uniformidade na forma das partículas. Nas amostras com 0,075 M de MEA, as esferas aparentam superfícies mais homogêneas e menos fragmentadas. Este fato, somado à alta estabilidade da fase Cu_2O identificada pelo refinamento Rietveld, demonstra que as condições de síntese levam a um caminho reacional consistente, onde a morfologia hierárquica é o resultado de um processo de auto-organização de nanocristais de óxido de cobre sob pressão e temperatura controladas.

5.2.2. Análise Quantitativa da Distribuição de Tamanho de Partículas

Os diâmetros das partículas foram determinados a partir das micrografias (Figuras 5.8 e 5.9) com o auxílio do *software* ImageJ (Schneider; Rasband; Eliceiri, 2012). O número de partículas, valores médios e os respectivos desvios padrão encontram-se detalhados na Figura 5.10, para as condições com 0,05 M de MEA, e na Figura 5.11, para aquelas com 0,075 M.

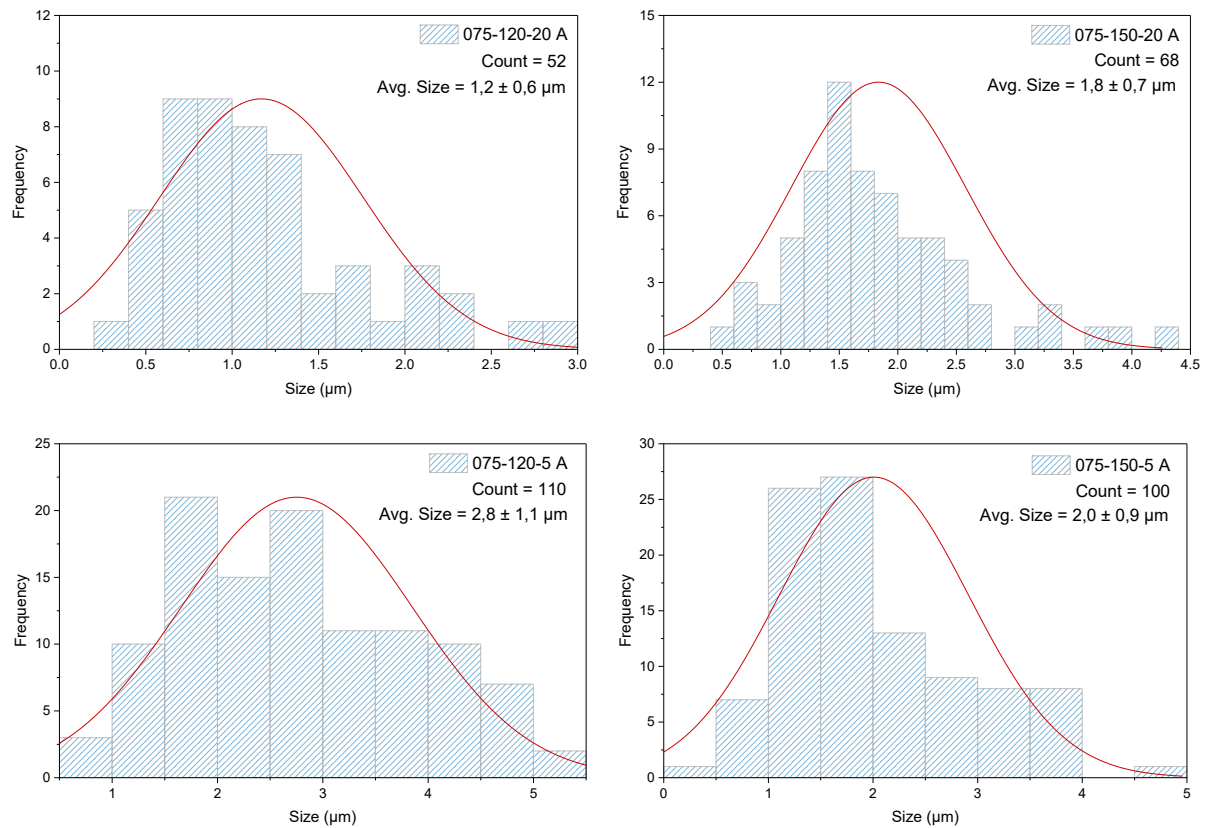
Figura 5.10 Diâmetros médios e distribuição de tamanho das partículas sintetizadas com 0,05 M de MEA sob diferentes condições de temperatura e tempo.



Fonte: Elaboração da autora.

Na Figura 5.8, observa-se que para o conjunto de 0,05 M de MEA, o número de partículas medidas por amostra variou entre 43 e 48. Os resultados indicam que a amostra 05-120-20 A apresentou o maior diâmetro médio deste grupo, com 3,8 ($\pm 1,1$ μm). Em contrapartida, sob a temperatura de 150°C e o mesmo tempo de 20 h, a amostra 05-150-20 A registrou uma redução no tamanho médio para 1,8 ($\pm 0,6$ μm). Nas condições de 5 h, as médias obtidas foram de 2,3 ($\pm 0,8$ μm) para a temperatura de 120°C (05-120-5 A) e de 2,5 ($\pm 0,7$ μm) para 150°C (05-150-5 A). As curvas de frequência ajustadas nos histogramas deste conjunto mostram perfis que se aproximam de uma distribuição normal, embora a amostra 05-120-20 A apresente uma dispersão absoluta superior, refletida no desvio padrão de 1,1 μm.

Figura 5.11 Diâmetros médios e distribuição de tamanho das partículas sintetizadas com 0,075 M de MEA sob diferentes condições de temperatura e tempo.



Fonte: Elaboração da autora.

No conjunto referente à concentração de 0,075 M de MEA (Figura 5.9), o volume de dados coletados foi maior, com a contagem de partículas variando de 52 a 110 por condição experimental. A amostra 075-120-20 A registrou o menor valor médio de todo o planejamento, com 1,2 ($\pm 0,6 \mu\text{m}$). Para a condição de 150°C e 20 h (075-150-20 A), a média observada foi de 1,8 ($\pm 0,7 \mu\text{m}$). No intervalo de tempo de 5 horas, a amostra 075-120-5 A apresentou o maior diâmetro médio deste subgrupo, atingindo 2,8 ($\pm 1,1 \mu\text{m}$), enquanto a amostra 075-150-5 A resultou em uma média de 2,0 ($\pm 0,9 \mu\text{m}$). Observa-se que, neste conjunto, os desvios padrão oscilaram entre 0,6 μm e 1,1 μm , indicando variações na uniformidade do tamanho das partículas conforme as condições de síntese são alteradas.

A análise comparativa dos histogramas sugere que a amplitude total dos diâmetros médios observados no experimento situa-se entre 1,2 μm e 3,8 μm . De modo geral, as distribuições de frequência representadas pelas curvas vermelhas nos gráficos indicam que a maioria das populações de partículas tende a se concentrar em torno da média, com algumas amostras apresentando assimetrias pontuais em direção a tamanhos maiores. Os valores de desvio padrão registrados documentam a dispersão do processo de crescimento das esferas,

sendo que os maiores índices de heterogeneidade granulométrica coincidem com as amostras de maior diâmetro médio (05-120-20 A e 075-120-5 A).

A análise comparativa dos histogramas mostra que os tamanhos médios das partículas variam de 1,2 μm a 3,8 μm no conjunto de condições estudadas, indicando que os parâmetros de síntese influenciam a população de partículas. A discrepância entre os diâmetros médios das partículas determinados por MEV-FEG e os tamanhos de cristalito estimados pela equação de Scherrer a partir dos difratogramas de DRX é consistente com a formação de microesferas policristalinas, constituídas por múltiplos cristalitos nanométricos. Esse padrão estrutural, em que o tamanho da partícula supera em ordens de grandeza o tamanho do cristalito, é recorrentemente reportado na literatura (Jasim et al., 2025; Mahmoudi et al., 2023; Zulfiqar et al., 2026). Esse comportamento é reconhecido como um resultado de processos de nucleação seguidos por crescimento e coalescência de múltiplos núcleos dentro de um mesmo corpo de partícula (Yorfi; Gheisari; Reihanian, 2025; Zhu et al., 2026).

A formação e crescimento de cristalitos dependem de condições de nucleação e do ambiente químico da síntese. Modelos clássicos de nucleação e crescimento explicam que um rápido aumento da supersaturação inicial seguido de um regime de crescimento controlado pela difusão pode produzir núcleos relativamente homogêneos (Khelfa et al., 2021; Leubner, 2000; Thanh; Maclean; Mahiddine, 2014). Neste trabalho, o agente complexante MEA, conforme discutido anteriormente, coordena íons Cu^{2+} em solução, reduzindo a velocidade de nucleação inicial e limitando a disponibilidade de íons livres para rápida formação de núcleos, o que tende a produzir cristais menores e mais uniformes quando a complexação é mais pronunciada (Yilmaz et al., 2002). Além disso, atua como agente redutor parcial, similar ao comportamento de ligantes N,O descritos na literatura, modulando estados de oxidação e estabilizando núcleos menores (Ooi; Aziz, 2017).

Essa combinação explica, em partes, por que concentrações mais altas de MEA tendem a produzir partículas menores e mais esféricas. Em sínteses assistidas por ligantes orgânicos a adsorção dessas moléculas sobre a superfície das partículas em crescimento modula as taxas de nucleação e crescimento cristalino, favorecendo a obtenção de morfologias mais regulares (Dong et al., 2026; Ma et al., 2021; Roca et al., 2019). Ligantes com maior afinidade de coordenação com os íons metálicos tendem a produzir partículas com formas bem definidas, ao passo que ligantes com interações superficiais mais fracas resultam em menor controle morfológico, com partículas frequentemente irregulares ou anisotrópicas (Li et al., 2024a; Tousian et al., 2024).

Ademais, a literatura de sínteses hidrotérmicas e solvotérmicas documenta que tanto o tempo quanto a temperatura de ocorrência exercem forte influência sobre o crescimento e a coalescência de partículas. O aumento da temperatura pode acelerar tanto a nucleação quanto o crescimento dos grãos, sendo que, em temperaturas mais elevadas, a nucleação pode ser mais rápida que o crescimento, resultando em partículas menores (Li; Wu; Xiao, 2010; Yang et al., 2012). Por outro lado, a extensão do tempo de ocorrência favorece o crescimento dos grãos, levando ao aumento do tamanho das partículas e, eventualmente, à agregação ou coalescência das mesmas (Jung; Shul, 2003; Yang et al., 2012).

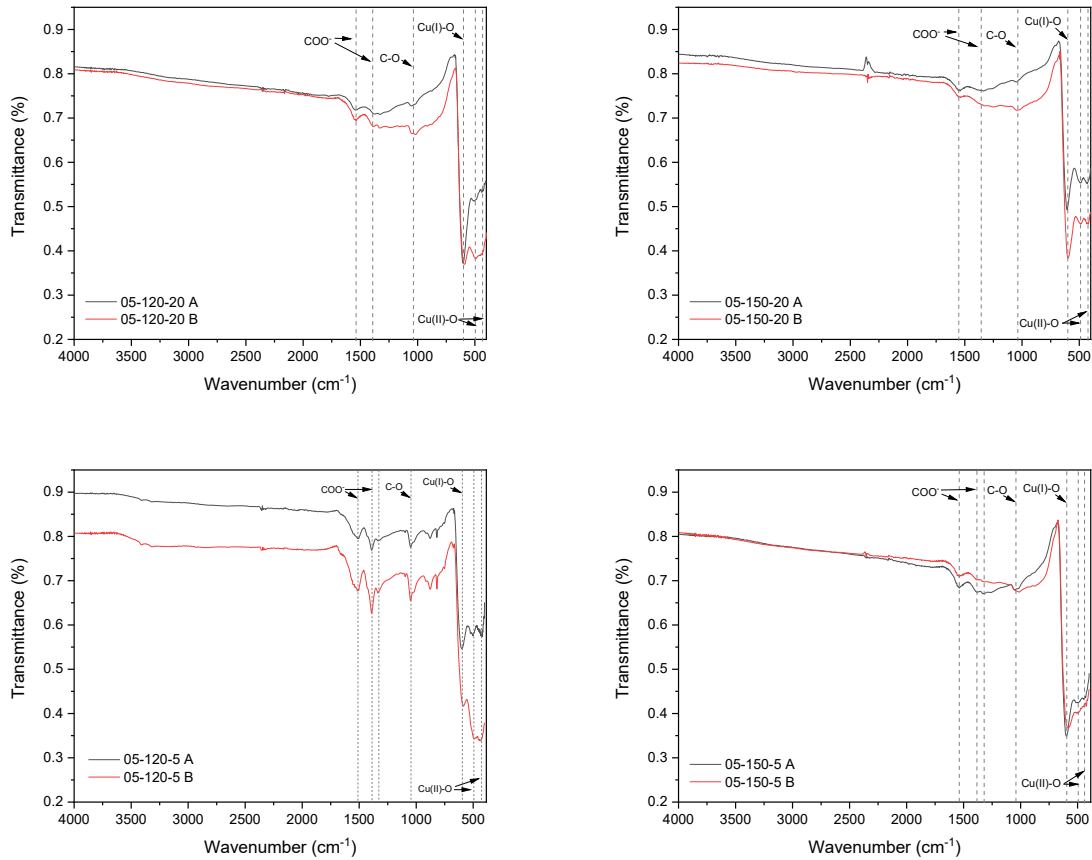
Embora o crescimento de partículas maiores esteja classicamente associado a tempos de síntese mais longos, há situações em que partículas maiores podem surgir em tempos mais curtos, dependendo das condições do sistema. Por exemplo, um estudo demonstrou que a adição de água ao solvente Dimetilformamida (DMF) durante a síntese de MIL-53(AI) reduz a solubilidade do ligante, diminuindo a concentração de espécies precursoras em solução antes da precipitação. Isso reduz o número de núcleos formados e favorece o crescimento de partículas maiores, mesmo sem prolongar o tempo de reação (Embrechts et al., 2020).

Assim, a escolha do solvente, assim como a presença de agentes complexantes ou surfactantes, pode influenciar a solubilidade dos precursores, a formação de espécies intermediárias e, conseqüentemente, o tamanho das partículas finais (Embrechts et al., 2020; Sahana et al., 2023). Por exemplo, a presença de ânions específicos pode influenciar a cristalização e o tamanho médio dos cristais formados. Além disso, a adsorção de moléculas do solvente ou de agentes complexantes na superfície dos núcleos pode estabilizá-los temporariamente, resultando na formação de partículas menores devido ao aumento no número de núcleos gerados (Jaine; Mucalo, 2012).

5.2.3. Análise Vibracional por FTIR

A caracterização por Espectroscopia no Infravermelho (FTIR) foi utilizada para identificar as classes de grupos funcionais presentes na superfície das partículas e para observar as vibrações características das ligações metal-oxigênio. Para facilitar a interpretação e permitir uma discussão mais clara dos resultados, os espectros foram organizados em dois conjuntos distintos, cada um correspondendo a cada uma das concentrações estudadas. A seguir, são apresentadas a Figura 5.12 e a Figura 5.13 que compilam estes resultados.

Figura 5.12 Espectros de infravermelho (FTIR) das amostras sintetizadas com 0,05 M de MEA.



Fonte: Elaboração da autora.

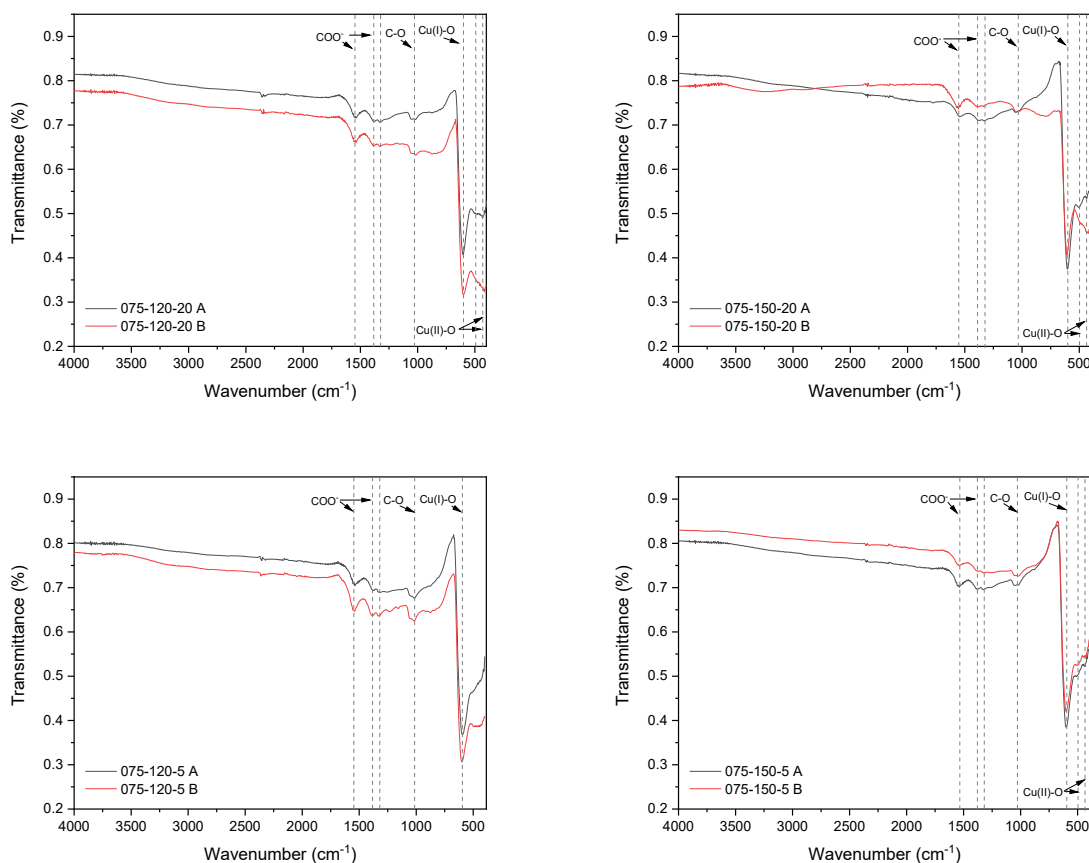
No conjunto de amostras sintetizadas com 0,05 M de MEA (Figura 5.12), observa-se que o perfil vibracional é caracterizado por quatro regiões principais de absorção. A banda mais proeminente em todos os espectros deste grupo está localizada em aproximadamente 625 cm^{-1} , sendo atribuída às vibrações da rede metal-oxigênio para a ligação Cu(I)-O. Uma segunda banda, de menor intensidade relativa no espectro, é identificada na região de 490 cm^{-1} , associada à ligação Cu(II)-O (Chang, 1992; El-Trass et al., 2012). Na região intermediária, os espectros registram bandas em aproximadamente 1580 cm^{-1} e 1420 cm^{-1} , correspondentes aos modos de estiramento assimétrico e simétrico do grupo carboxilato (COO^-), respectivamente. A presença deste grupo funcional indica um resíduo orgânico proveniente do precursor acetato de cobre (Badillo-Ávila et al., 2018).

Ao analisar os espectros das amostras, observa-se que, na condição 05-120-20, os perfis das séries A (preta) e B (vermelha) são praticamente coincidentes, apresentando bandas de absorção nos mesmos números de onda e com intensidades semelhantes, o que indica comportamento espectral comparável entre as duplicatas. Na condição 05-120-5, verifica-se uma variação na intensidade das bandas de absorção, com a série B exibindo maior

profundidade das bandas associadas aos grupos COO^- e C-O em relação à série A, embora os picos permaneçam localizados nos mesmos números de onda. Essa observação sugere diferenças quantitativas na contribuição relativa dessas espécies na superfície, sem alteração detectável nas espécies químicas presentes.

Para as amostras sintetizadas a 150°C (05-150-20 e 05-150-5), o conjunto de bandas associadas aos óxidos de cobre e aos grupos orgânicos permanece inalterado em termos de posição espectral, independentemente do tempo de síntese. Esse comportamento indica que, dentro da sensibilidade da técnica de FTIR, não são observadas modificações na natureza das ligações químicas superficiais em função do tempo de reação nessa temperatura.

Figura 5.13 Espectros de infravermelho (FTIR) das amostras sintetizadas com 0,075 M de MEA.



Fonte: Elaboração da autora.

Para as amostras sintetizadas com 0,075 M de MEA (Figura 5.13), os espectros apresentam um perfil espectral semelhante ao observado para o conjunto anterior. A banda localizada em aproximadamente 625 cm^{-1} , atribuída às vibrações Cu(I)-O, permanece como a de maior intensidade em todas as condições experimentais, seguida pela banda em torno de 490 cm^{-1} , associada às vibrações Cu(II)-O. A persistência das bandas na região de $1400\text{-}1600\text{ cm}^{-1}$,

atribuídas a grupos carboxilato (COO^-), bem como da banda em aproximadamente 1100 cm^{-1} , associada a estiramentos C-O, em todas as amostras sintetizadas com 0,075 M de MEA, é compatível com a presença contínua de espécies orgânicas adsorvidas ou coordenadas à superfície das partículas, mesmo após a variação da concentração inicial do agente químico.

A análise comparativa dos espectros indica que a amostra 075-120-20 apresenta um deslocamento vertical (*offset*) de transmitância entre as séries A e B, mantendo, entretanto, a coincidência na posição das bandas características. Na condição 075-150-20, observa-se que as bandas associadas às ligações metal-oxigênio apresentam maior definição relativa em comparação às bandas associadas às espécies orgânicas superficiais. Nas condições de síntese de 5 horas (075-120-5 e 075-150-5), os espectros exibem perfis nos quais a banda atribuída a Cu(I)-O permanece consistentemente como a de maior intensidade. Ademais, a ausência de bandas largas acima de 3000 cm^{-1} indica que não são detectadas, dentro da sensibilidade da técnica, vibrações associadas a grupos hidroxila (-OH) ou à presença de água livre nas amostras analisadas.

5.2.4. Análise das Propriedades Ópticas por DRS

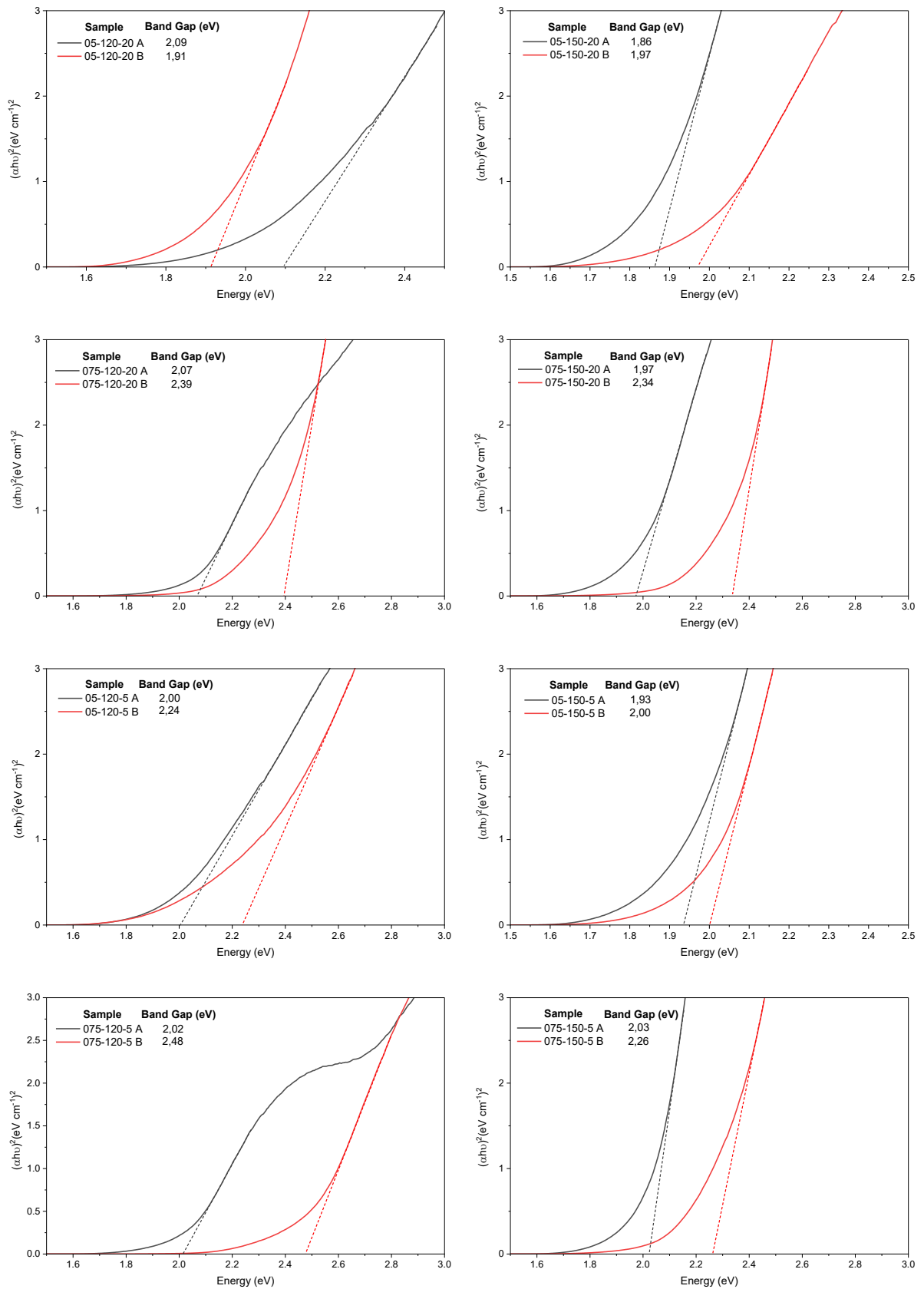
A investigação das propriedades ópticas e a determinação da energia de *band gap* (E_g) dos materiais sintetizados foram realizadas por meio da Espectroscopia de Refletância Difusa (DRS) na região do ultravioleta-visível. Os dados brutos de refletância foram inicialmente convertidos na função de Kubelka-Munk, que é proporcional ao coeficiente de absorção óptica (α) das amostras sólidas. Com base nessa conversão, a energia de *band gap* foi estimada por meio da relação de Tauc, plotando-se $(\alpha h\nu)^2$ em função da energia do fóton ($h\nu$) (Jubu et al., 2024; Landi et al., 2022).

Considerando que os materiais analisados consistem em uma mistura de fases ($\text{CuO}/\text{Cu}_2\text{O}$ e $\text{Cu}_2\text{O}/\text{Cu}^0$), com o óxido cuproso (Cu_2O) como fase majoritária conforme os dados de Rietveld, a análise foi direcionada para a determinação do *band gap* associado a transições eletrônicas diretas. Esta abordagem foi aplicada ao sistema estudado, considerando que o Cu_2O é um semicondutor de *band gap* direto, com valores reportados na literatura tipicamente entre 2,1 e 2,17 eV, embora alguns estudos indiquem intervalos mais amplos, de 1,8 a 2,6 eV (Bayat; Sheibani, 2022; Kaur et al., 2022; Su et al., 2023; Wang et al., 2016). Em contraste, o óxido cúprico (CuO) apresenta caráter de *band gap* indireto em faixas de energia inferiores (1,2 a 1,7 eV) (Heinemann; Eifert; Heiliger, 2013; Korell et al., 2024). Assim, ao

aplicar o método de Tauc para transições diretas, os valores obtidos pela extrapolação da região linear refletem predominantemente o *band gap* da fase Cu₂O presente nos compósitos.

A Figura 5.14 apresenta os gráficos de Tauc das amostras estudadas, permitindo a comparação entre o conjunto inicial (grupo A, em preto) e suas replicatas (grupo B, em vermelho). Essa disposição visual possibilita a verificação de semelhanças ou diferenças no comportamento de absorção óptica entre lotes sintetizados sob as mesmas condições experimentais.

Figura 5.14 Gráficos de Tauc para a determinação do band gap óptico E_g das amostras sintetizadas.



Fonte: Elaboração da autora.

No conjunto de amostras sintetizadas com 0,05 M de MEA, os valores de *gap* óptico apresentaram oscilações entre os ensaios independentes. Para a amostra 05-120-20, o lote A registrou um valor de 2,09 eV, enquanto o lote B apresentou 1,91 eV, indicando um deslocamento da borda de absorção para regiões de menor energia na segunda amostra. Na condição 05-150-20, observou-se comportamento inverso, com o segmento A apresentando o menor valor deste grupo (1,88 eV) em comparação aos 1,97 eV do segmento B.

Sob o tempo de reação de 5 horas, a amostra 05-120-5 apresentou valores de 2,00 eV (A) e 2,24 eV (B). Neste caso, o espectro correspondente à duplicata B exibiu uma inclinação menos acentuada e uma região de absorção residual anterior à extrapolação linear, característica compatível com a presença de estados eletrônicos adicionais. Por fim, a condição 05-150-5 resultou em valores de 1,93 eV e 2,00 eV para as duplicatas A e B, respectivamente, indicando maior convergência no perfil espectral deste conjunto.

A transição para a concentração de 0,075 M de MEA revelou uma tendência, onde o lote B apresentou valores de E_g invariavelmente superiores aos do lote A em todas as amostras. Na amostra 075-120-20, o *gap* óptico foi de 2,07 eV para o lote A e 2,39 eV para o lote B. De forma semelhante, na condição 075-150-20, os valores observados foram de 1,97 eV (A) e 2,34 eV (B). A amostra 075-120-5 apresentou um perfil espectral irregular no lote A, com a presença de um “ombro” de absorção anterior à extrapolação em 2,02 eV, contrastando com a subida mais abrupta do lote B, que resultou no maior valor de *gap* óptico do conjunto experimental (2,48 eV). Na condição 075-150-5, manteve-se o padrão de separação entre os lotes, com valores de 2,03 eV (A) e 2,26 eV (B).

Os desvios observados entre os lotes A e B, principalmente no grupo de 0,075 M, podem ser atribuídos à combinação de múltiplos lotes de síntese realizados de forma independente. O processo solvotérmico pode gerar gradientes térmicos e de concentração no interior do reator, resultando em heterogeneidades e variações na densidade de defeitos superficiais (Paul; Choudhury, 2014). A espectroscopia de refletância difusa é sensível a essas variações, sendo que a presença de caudas de absorção e alterações na inclinação das curvas indica desordem estrutural ou a presença de outras fases, influenciando a determinação do ponto de interseção no eixo de energia (Zhang et al., 2017).

Ao considerar a junção de múltiplas sínteses, esses efeitos tendem a se amplificar, uma vez que a amostra resultante incorpora a heterogeneidade presente em cada lote individual. Contudo, ressalta-se que, apesar da variação entre lotes, os valores de E_g obtidos para todas as amostras permanecem próximos aos intervalos reportados na literatura para Cu_2O puro, situando-se entre 1,9 e 2,6 eV. (Bayat; Sheibani, 2022; Kaur et al., 2022; Su et al., 2023).

5.3. Avaliação do Potencial Antimicrobiano dos Compósitos de Cobre

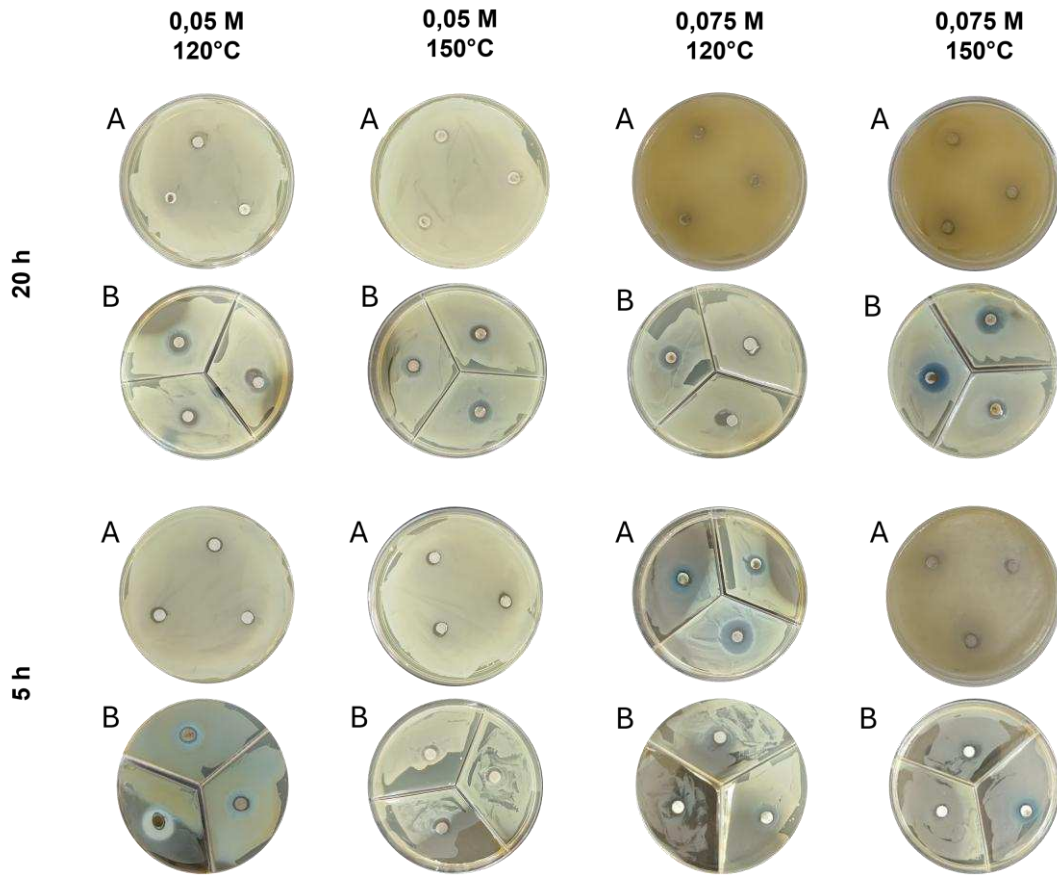
5.3.1. Análise da Atividade Bactericida dos Compósitos

A análise da atividade antimicrobiana foi conduzida com caráter exploratório, visando identificar associações entre composição de fases e resposta biológica. A avaliação do potencial antimicrobiano dos materiais sintetizados foi conduzida pelo método de difusão em disco frente à cepa Gram-positiva *Staphylococcus aureus*. Este microrganismo é amplamente utilizado em testes devido à sua relevância clínica e à estrutura de sua parede celular, composta por uma espessa camada de peptidoglicano que, embora rígida, é porosa e permite a interação com íons e espécies reativas (Pokhrel et al., 2022).

A interpretação da atividade baseia-se nos halos observados nas placas de ágar. Um halo de inibição parcial é definido como uma zona de crescimento bacteriano atenuado, indicando um efeito bacteriostático. Nesse caso, o material inibe a replicação bacteriana ou interfere no metabolismo celular, mas não atinge a concentração letal necessária para a eliminação total das colônias na região. Por outro lado, o halo de inibição total representa um efeito bactericida, onde ocorre a morte celular irreversível decorrente do contato com agentes ativos em concentrações críticas (Gudkov et al., 2024).

A Figura 5.15 ilustra os resultados do ensaio de difusão em ágar, mostrando a formação de halos nas amostras sintetizadas sob diferentes condições do planejamento fatorial 2^3 . As placas de Petri foram dispostas de forma a representar a variação dos fatores estudados, concentração (0,05 M e 0,075 M), temperatura (120 °C e 150 °C) e tempo de reação (5 h e 20 h), avaliados em relação aos grupos de amostras A e B.

Figura 5.15 Resultados do ensaio de difusão em ágar evidenciando os halos de inibição das amostras sintetizadas via planejamento fatorial 2^3 .



Fonte: Elaboração da autora.

Com base na Figura 5.15, observa-se a alteração da coloração do meio de cultura para tons azulados na região adjacente a determinadas amostras. Do ponto de vista químico, essa coloração é compatível com a lixiviação de íons de cobre para o meio de crescimento, em particular Cu^{2+} em sua forma hidratada ou complexada, fenômeno reportado na literatura para materiais à base de cobre (Rewak-Soroczynska et al., 2022; Sansonetti et al., 2021). Essa coloração não é uniforme entre todos os lotes, ocorrendo predominantemente nas duplicatas B e em amostras específicas do grupo de maior concentração de MEA.

A seguir, apresenta-se a Tabela 5.2 a qual contém os valores médios dos halos medidos nos ensaios de difusão em ágar, realizados em triplicata.

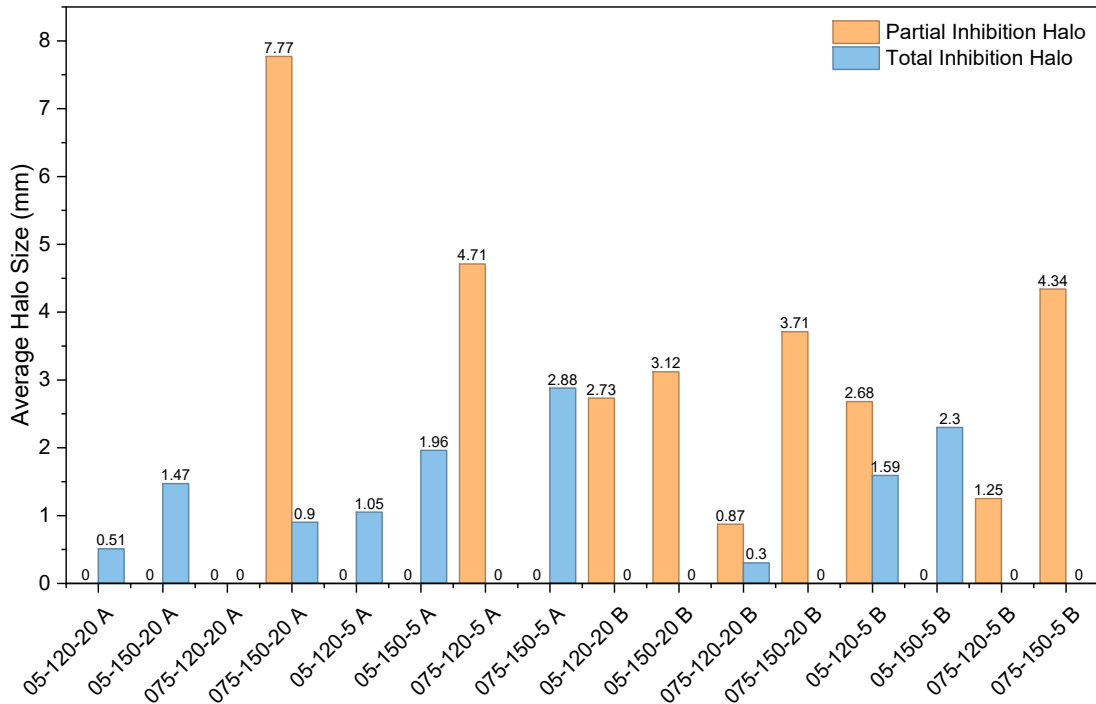
Tabela 5.2 Valores médios dos diâmetros dos halos obtidos pelo ensaio de difusão em ágar.

Amostra	Halo de Inibição Parcial (mm)	Halo de Inibição Total (mm)
05-120-20 A	0,00	0,51
05-150-20 A	0,00	1,47
075-120-20 A	0,00	0,00
075-150-20 A	7,77	0,90
05-120-5 A	0,00	1,05
05-150-5 A	0,00	1,96
075-120-5 A	4,71	0,00
075-150-5 A	0,00	2,88
05-120-20 B	2,73	0,00
05-150-20 B	3,12	0,00
075-120-20 B	0,87	0,30
075-150-20 B	3,71	0,00
05-120-5 B	2,68	1,59
05-150-5 B	0,00	2,30
075-120-5 B	1,25	0,00
075-150-5 B	4,34	0,00

Fonte: Elaboração da autora.

Com o objetivo de facilitar a comparação entre os valores obtidos e favorecer a análise visual da eficácia das diferentes condições experimentais, apresenta-se a Figura 5.16, na qual são correlacionados os efeitos bacteriostáticos (halo de inibição parcial) e bactericida (halo de inibição total), permitindo a identificação de padrões de comportamento entre os grupos A e B.

Figura 5.16 Médias dos tamanhos dos halos de inibição (mm) para as atividades bacteriostática e bactericida em função das condições de síntese e dos grupos de amostras A e B.



Fonte: Elaboração da autora.

A partir da Figura 5.16, observa-se que o conjunto de amostras sintetizadas com a menor concentração de MEA apresenta comportamento variável, com ocorrência tanto de halos de inibição parcial quanto de inibição total, dependendo das condições de temperatura e tempo de síntese. Nas amostras obtidas após 20 horas de reação, verificou-se heterogeneidade entre os lotes. Na condição 05-120-20, o lote A apresentou halo de inibição total de 0,51 mm, enquanto o lote B registrou halo de inibição parcial de 2,73 mm. Comportamento semelhante foi observado em 05-150-20, na qual o lote B apresentou halo de inibição parcial de 3,12 mm, enquanto o lote A exibiu inibição total de 1,47 mm.

As amostras sintetizadas por 5 horas mantiveram essa variabilidade. Na condição 05-120-5, o lote B apresentou simultaneamente halos de inibição parcial (2,68 mm) e total (1,59 mm). Em contraste, na condição 05-150-5, observou-se exclusivamente atividade bactericida em ambas as duplicatas, com halos de 1,96 mm (A) e 2,30 mm (B).

A amostra 075-150-20 (Lote A) registrou a maior atividade bacteriostática deste estudo, com um halo de inibição parcial de 7,77 mm e inibição de 0,90 mm. Essa amostra era composta majoritariamente por Cu_2O (97,8%). Em contrapartida, o lote B da mesma condição,

caracterizado por maior fração de Cu^0 (33,3%) e menor proporção de Cu_2O (58,8%), apresentou halo de inibição parcial reduzido (3,71 mm) e ausência de inibição total.

Comportamento análogo foi observado na condição 075-120-20, na qual elevadas frações de Cu^0 (17,5 e 20,5%) estiveram associadas a atividade antimicrobiana limitada, com halo de inibição parcial de 0,87 mm. Nas sínteses conduzidas por 5 horas, a amostra 075-120-5 (A) apresentou halo de inibição parcial de 4,71 mm, enquanto a amostra 075-150-5 (B) registrou 4,34 mm. O maior halo de inibição total desse grupo foi observado em 075-150-5 (A), com 2,88 mm, amostra que continha 91,9% de Cu_2O .

Ao comparar os dois grupos experimentais, os resultados indicam a presença de atividade antimicrobiana mensurável em amostras com diferentes proporções de Cu_2O , CuO e Cu^0 . Ao comparar os dois grupos experimentais, observa-se que os halos de inibição parcial ocorrem com maior frequência e atingem diâmetros superiores aos halos de inibição total, sugerindo predominância de efeito bacteriostático nas condições avaliadas. Essa observação indica que, para *Staphylococcus aureus*, os compósitos de óxido de cobre atuam predominantemente na inibição do crescimento bacteriano, enquanto a ação bactericida ocorre de forma mais restrita.

Considerando que as amostras finais resultam da combinação de múltiplas sínteses independentes, variações nas proporções relativas das fases cristalinas podem contribuir para as diferenças observadas na atividade antimicrobiana. Embora a literatura associe sistemas multivalentes de cobre à geração de espécies reativas de oxigênio, tais mecanismos não foram diretamente investigados no presente estudo e, portanto, não podem ser inferidos a partir dos dados obtidos (Fan et al., 2025; Murugesan; Balasubramanian; Perumal, 2025).

5.3.2. Relação entre Composição de Fases e Atividade Antibacteriana

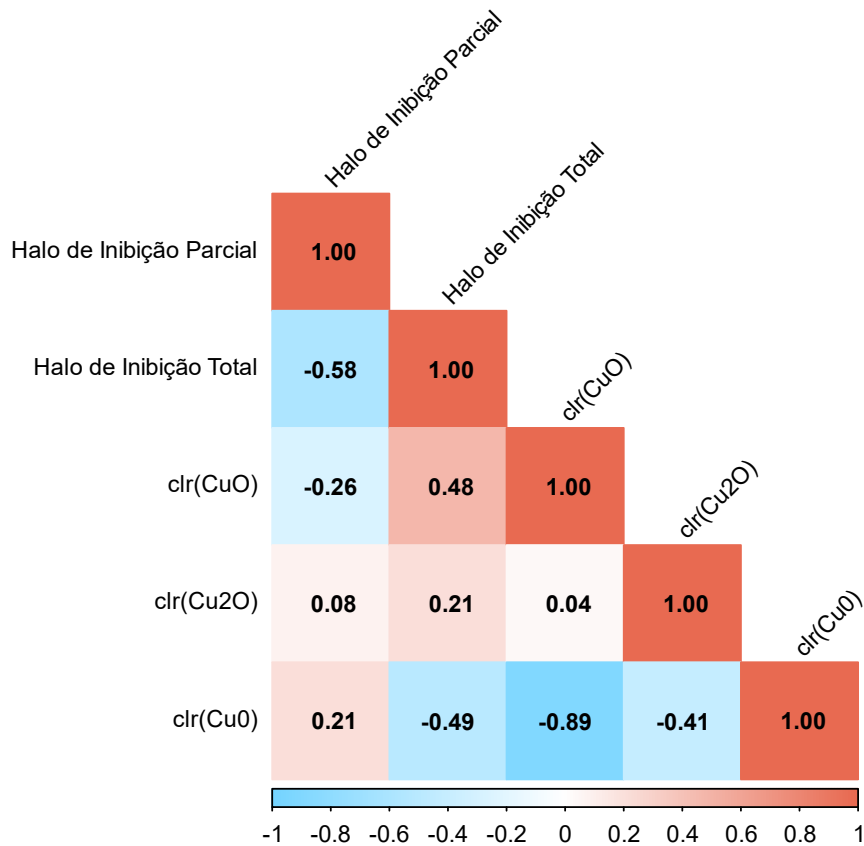
A relação entre as proporções relativas das fases e a atividade antibacteriana foi avaliada por meio de modelos de regressão linear simples, considerando separadamente os halos de inibição parcial e inibição total como variáveis resposta.

Para o halo de inibição parcial, o modelo de regressão linear simples não apresentou significância estatística ($F_{1,14} = 0,58$; $p = 0,46$), com coeficiente de determinação ajustado negativo (R^2 ajustado = $-0,03$). Não foi observada associação estatisticamente significativa entre os valores de HR e a razão logarítmica CuO/Cu^0 nas amostras analisadas.

No caso do efeito bactericida, o modelo de regressão linear simples apresentou significância estatística próxima ao nível de 5% ($F_{1,14} = 5,02$; $p = 0,042$), com coeficiente de

determinação ajustado de 0,21. Observou-se coeficiente positivo estatisticamente significativo associado à razão logarítmica CuO/Cu^0 , indicando a existência de uma associação estatística entre essa razão composicional e o halo de inibição total nas amostras avaliadas.

Figura 5.17 Matriz de correlação de Spearman entre as atividades antimicrobianas e as proporções das fases cristalinas de cobre transformadas por coordenadas de razão logarítmica centralizada (clr).



Fonte: Elaboração da autora.

A Figura 5.17 demonstra a relação entre os halos de inibição total (efeito bactericida) e parcial (efeito bacteriostático), que foi avaliada por meio do coeficiente de correlação de Spearman, sendo observada correlação negativa moderada ($\rho \approx -0,58$; $p = 0,018$). Esse resultado indica que os dois tipos de halo não variam de forma concomitante nas amostras avaliadas.

Ademais, foram avaliadas as correlações de Spearman entre os halos e as coordenadas *clr* das fases cristalinas. Verificou-se uma correlação positiva de magnitude moderada entre o halo de inibição total e a coordenada *clr*(CuO) ($\rho \approx 0,48$), enquanto foi observada uma correlação negativa, de magnitude semelhante, entre o halo de inibição total e a coordenada *clr*(Cu⁰) ($\rho \approx -0,49$). Essas associações devem ser interpretadas de forma descritiva, uma vez

que não implicam relação causal. A matriz de correlação evidenciou ainda forte correlação negativa entre $\text{clr}(\text{CuO})$ e $\text{clr}(\text{Cu}^0)$, comportamento esperado em dados composicionais, nos quais o aumento relativo de uma componente implica a redução relativa de pelo menos uma das demais.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente estudo investigou a relação entre parâmetros de síntese solvotérmica, composição cristalina e atividade antimicrobiana em compósitos à base de cobre, com o propósito de compreender como a distribuição relativa das fases Cu^0 , Cu_2O e CuO se relaciona com a atividade frente à bactéria *Staphylococcus aureus*. A partir de um planejamento fatorial completo 2^3 , foram avaliados os efeitos da temperatura, do tempo de reação e da concentração de monoetanolamina sobre a formação das fases cristalinas. Os resultados indicaram que a concentração de MEA e o tempo de reação exercem influência relevante sobre a modulação das frações relativas de CuO , Cu_2O e Cu^0 , sugerindo que a variação dos parâmetros de síntese se reflete na composição estrutural dos materiais obtidos.

A caracterização por difração de raios X, associada ao refinamento estrutural pelo método de Rietveld, permitiu identificar e quantificar as fases cristalinas presentes nas amostras, demonstrando que o Cu_2O se manteve como fase majoritária em todo o domínio experimental investigado, enquanto CuO e Cu^0 apareceram como fases secundárias com proporções variáveis. A análise microestrutural por microscopia eletrônica de transmissão corroborou as fases identificadas por difração, evidenciando domínios cristalinos compatíveis com Cu_2O e CuO , bem como regiões associadas ao Cu^0 . Nos ensaios microbiológicos realizados frente a *S. aureus*, observou-se predominância de efeito bacteriostático, com maior frequência de halos de inibição parcial. A análise estatística indicou associações entre as frações relativas das fases cristalinas e a resposta antimicrobiana, com correlação positiva moderada entre o halo de inibição total e a fração de CuO , e correlação negativa de magnitude semelhante com a fração de Cu^0 .

Em conjunto, os resultados obtidos evidenciam relações entre parâmetros de síntese, composição cristalina e atividade antimicrobiana nos compósitos investigados, atendendo aos objetivos propostos no estudo. A aplicação da Análise de Dados Composicionais permitiu examinar essas relações considerando a natureza relativa das frações de fase obtidas pelo refinamento estrutural. Como desdobramento, investigações futuras podem explorar outras condições de síntese e ampliar a avaliação microbiológica para diferentes microrganismos ou metodologias experimentais, com o intuito de aprofundar a compreensão das propriedades antimicrobianas de compósitos à base de cobre.

7. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Reconhecem-se algumas limitações do estudo. O tamanho amostral ($n=16$) restringe o poder estatístico para a detecção de interações de ordem superior, e a lixiviação observada nos testes de ágar indica que a atividade antimicrobiana é mediada principalmente pela liberação de íons. Como desdobramentos futuros, sugere-se a realização de testes de Concentração Inibitória Mínima (CIM) para quantificar a potência antimicrobiana de forma absoluta, estudos de estabilidade temporal para avaliar a oxidação do Cu^0 e do Cu_2O e a utilização de modelos de superfície de resposta (RSM) para identificar combinações ótimas que maximizem a atividade biológica desejada.

A relação entre estrutura e atividade pode ser aprofundada por meio de abordagens microestruturais integradas. A Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET) pode ser explorada de forma mais detalhada para examinar a organização interna das unidades nanométricas primárias, as interfaces entre as fases cristalinas e possíveis heterogeneidades estruturais em escala local. Associada à MET, a Espectroscopia de Energia Dispersiva de Raios X (EDS) permite realizar mapeamentos químicos na mesma região analisada estruturalmente, possibilitando correlacionar diretamente morfologia, estrutura cristalina local e distribuição elementar. Essa abordagem favorece a avaliação da homogeneidade composicional dos compósitos e da eventual segregação espacial de fases. De forma complementar, ensaios de Espectroscopia de Fotoelétrons por Raios X (XPS) podem contribuir para a quantificação dos estados de oxidação do cobre na superfície das partículas, ampliando a análise ao integrar informações estruturais, químicas e superficiais na interpretação da resposta bacteriostática observada.

REFERÊNCIAS

- ABEGAZ, Fentaw *et al.* Analysis of microbiome high-dimensional experimental design data using generalized linear models and ANOVA simultaneous component analysis. **Frontiers in Microbiomes**, v. 4, 15 out. 2025.
- AITCHISON, J. The Statistical Analysis of Compositional Data. **Journal of the Royal Statistical Society: Series B (Methodological)**, v. 44, n. 2, p. 139–160, 1982.
- AITCHISON, J. **The Statistical Analysis of Compositional Data**. Dordrecht: Springer Netherlands, 1986.
- AKHTAR, Majid Niaz *et al.* Structural rietveld refinement, morphological and magnetic features of Cu doped Co Ce nanocrystalline ferrites for high frequency applications. **Physica B: Condensed Matter**, v. 561, p. 121–131, maio 2019.
- AKINTELU, Sunday Adewale *et al.* Green synthesis of copper oxide nanoparticles for biomedical application and environmental remediation. **Heliyon**, v. 6, n. 7, 1 jul. 2020.
- AKTER, Jeasmin *et al.* Kinetically controlled selective synthesis of Cu₂O and CuO nanoparticles toward enhanced degradation of methylene blue using ultraviolet and sun light. **Materials Science in Semiconductor Processing**, v. 123, p. 105570, mar. 2021.
- ALENAZI, Abdulaziz. A review of compositional data analysis and recent advances. **Communications in Statistics - Theory and Methods**, v. 52, n. 16, p. 5535–5567, 18 ago. 2023.
- ALI, Shahzad *et al.* Activity, selectivity, and stability of earth-abundant CuO/Cu₂O/Cu₀-based photocatalysts toward CO₂ reduction. **Chemical Engineering Journal**, v. 429, p. 131579, 1 fev. 2022.
- AL-MAHMUD, Md. Rafayet *et al.* Stoichiometry crystallographic phase analysis and crystallinity integration of silver nanoparticles: A Rietveld refinement study. **Journal of Crystal Growth**, v. 643, p. 127815, out. 2024.
- ALMEIDA, Jéssica C. de *et al.* Exploring the stability and catalytic activity of monoethanolamine functionalized CuO electrode in electrochemical CO₂ reduction. **Nanoscale**, v. 16, n. 39, p. 18455–18467, 10 out. 2024.
- AL-SAEEDI, Sameerah I. *et al.* One Pot Synthesis, Surface and Magnetic Properties of Cu₂O/Cu and Cu₂O/CuO Nanocomposites. **Crystals**, v. 11, n. 7, p. 751, 26 jun. 2021.
- ANDRADE, Chittaranjan. Understanding Factorial Designs, Main Effects, and Interaction Effects: Simply Explained with a Worked Example. **Indian Journal of Psychological Medicine**, v. 46, n. 2, p. 175–177, mar. 2024.
- ARENDS, Jasper; PERRONE, Elisa. **Spearman's rho for bivariate zero-inflated data**. arXiv, , 17 mar. 2025. Disponível em: <<http://arxiv.org/abs/2503.13148>>. Acesso em: 21 dez. 2025

ARSOV, Nino *et al.* **A Measure of Similarity in Textual Data Using Spearman's Rank Correlation Coefficient.** arXiv, , 26 nov. 2019. Disponível em: <<http://arxiv.org/abs/1911.11750>>. Acesso em: 5 jan. 2026

ASLAM, Bilal *et al.* Antibiotic resistance: a rundown of a global crisis. **Infection and Drug Resistance**, v. 11, p. 1645–1658, 10 out. 2018.

BABINSKI, Tatiane Patrícia *et al.* Optimization of Zein-Casein-Hyaluronic Acid Nanoparticles Obtained by Nanoprecipitation Using Design of Experiments (DoE). **ACS Omega**, v. 10, n. 13, p. 13440–13452, 8 abr. 2025.

BADILLO-ÁVILA, M. A. *et al.* Cu₂O thin films obtained at low temperature by mono-ethanolamine decomposition in open atmosphere. **Materials Science in Semiconductor Processing**, v. 85, p. 168–176, out. 2018.

BALLO, Myriam K. S. *et al.* Bactericidal activity and mechanism of action of copper-sputtered flexible surfaces against multidrug-resistant pathogens. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 100, n. 13, p. 5945–5953, jul. 2016.

BAYAT, F.; SHEIBANI, S. Enhancement of photocatalytic activity of CuO-Cu₂O heterostructures through the controlled content of Cu₂O. **Materials Research Bulletin**, v. 145, p. 111561, 1 jan. 2022.

BELEW, Aderaw Anteneh; ASSEGE, Melesse Ababay. Solvothermal synthesis of metal oxide nanoparticles: A review of applications, challenges, and future perspectives. **Results in Chemistry**, v. 16, p. 102438, 1 jul. 2025.

BENNETT, Alexander R. *et al.* Compositional data analysis enables statistical rigor in comparative glycomics. **Nature Communications**, v. 16, n. 1, p. 795, 18 jan. 2025.

BHAMIDIMARRI, Ram Bharadwaj *et al.* Thermo-catalytic transformation of indigenous agricultural waste into chemically diverse bio-oil: process refined through response surface optimization. **Biomass Conversion and Biorefinery**, 23 dez. 2024.

BISH, D. L.; HOWARD, S. A. Quantitative phase analysis using the Rietveld method. **Journal of Applied Crystallography**, v. 21, n. 2, p. 86–91, 1 abr. 1988.

BISH, David L.; POST, Jeffrey E. Quantitative mineralogical analysis using the Rietveld full-pattern fitting method. **American Mineralogist**, v. 78, n. 9–10, p. 932–940, 1 out. 1993.

BISHT, Neha *et al.* Recent advances in copper and copper-derived materials for antimicrobial resistance and infection control. **Current Opinion in Biomedical Engineering**, v. 24, p. 100408, dez. 2022.

BIWER, C. M. *et al.* Spotlight: efficient automated global optimization in rietveld analysis of diffraction data. **Scientific Reports**, v. 15, n. 1, p. 8358, 11 mar. 2025.

BORKOW, Gadi; GABBAY, Jeffrey. Copper, An Ancient Remedy Returning to Fight Microbial, Fungal and Viral Infections. **Current Chemical Biology**, v. 3, n. 3, p. 272–278, 1 set. 2009.

BOURGONJE, Arno R. *et al.* Angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2), SARS-CoV-2 and the pathophysiology of coronavirus disease 2019 (COVID-19). **The Journal of Pathology**, v. 251, n. 3, p. 228–248, jul. 2020.

BOŽIĆ CVIJAN, Bojana; KORAC JACIĆ, Jelena; BAJČETIĆ, Milica. The Impact of Copper Ions on the Activity of Antibiotic Drugs. **Molecules**, v. 28, n. 13, p. 5133, 30 jun. 2023.

BRINDLEY, G. W. XLV. The effect of grain or particle Size on x-ray reflections from mixed powders and alloys, considered in relation to the quantitative determination of crystalline substances by x-ray methods. **The London, Edinburgh, and Dublin Philosophical Magazine and Journal of Science**, v. 36, n. 256, p. 347–369, 1 maio 1945.

BROWNE, Walter R. Copper and Cholera. **Nature**, v. 28, n. 722, p. 414–414, ago. 1883.

BRUNO, Mattia; SOMMER, Rainer. On fits to correlated and auto-correlated data. **Computer Physics Communications**, v. 285, p. 108643, 1 abr. 2023.

BUDI, Setia *et al.* Structural Analysis of Nanocrystalline Cu₂O Prepared by Electrodeposition at Different Temperatures. **International Journal of Electrochemical Science**, v. 17, n. 3, p. 22033, mar. 2022.

CAGUANA, Tania *et al.* Metal Nanoparticles Obtained by Green Hydrothermal and Solvothermal Synthesis: Characterization, Biopolymer Incorporation, and Antifungal Evaluation Against *Pseudocercospora fijiensis*. **Nanomaterials**, v. 15, n. 5, p. 379, jan. 2025.

CAO, Hanxing *et al.* DFT study on structural, electronic, and optical properties of cubic and monoclinic CuO. **Journal of Computational Electronics**, v. 17, n. 1, p. 21–28, 1 mar. 2018.

CHAKRABORTY, Nilanjan *et al.* Green synthesis of copper/copper oxide nanoparticles and their applications: a review. **Green Chemistry Letters and Reviews**, v. 15, n. 1, p. 187–215, 2 jan. 2022.

CHANG, Tingru *et al.* High-Resolution Microscopical Studies of Contact Killing Mechanisms on Copper-Based Surfaces. **ACS Applied Materials & Interfaces**, v. 13, n. 41, p. 49402–49413, 20 out. 2021.

CHANG, Yu-neng. Fourier Transform Infrared (FTIR) Analysis of Copper Oxide Thin Films Prepared by Metal Organic Chemical Vapor Deposition (MOCVD). **MRS Online Proceedings Library**, v. 293, n. 1, p. 443–448, 1 dez. 1992.

CHEN, Xin *et al.* Solvothermal synthesis of copper (I) chloride microcrystals with different morphologies as copper-based catalysts for dimethyldichlorosilane synthesis. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 404, p. 16–23, 15 ago. 2013.

CHUNG, Yeojin. A Review of Nonparametric Statistics for Applied Research. **Journal of Educational and Behavioral Statistics**, v. 41, n. 4, p. 455–458, 1 ago. 2016.

COMBETTES, Patrick L.; MÜLLER, Christian L. Regression Models for Compositional Data: General Log-Contrast Formulations, Proximal Optimization, and Microbiome Data Applications. **Statistics in Biosciences**, v. 13, n. 2, p. 217–242, 1 jul. 2021.

CORDANO, A. Clinical manifestations of nutritional copper deficiency in infants and children. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 67, n. 5 Suppl, p. 1012S-1016S, maio 1998.

CORTES, Aaron A.; ZUÑIGA, Jorge M. The use of copper to help prevent transmission of SARS-coronavirus and influenza viruses. A general review. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, v. 98, n. 4, p. 115176, 1 dez. 2020.

DAKHORE, Dhanashri A. *et al.* Copper Nanoparticles: Characterization, Synthesis, and Biological Activity – A Review. 9 out. 2024.

DAVIES, C. W.; PATEL, B. N. Complexes of the cupric ion with mono-, di-, and triethanolamine. **Journal of the Chemical Society A: Inorganic, Physical, Theoretical**, n. 0, p. 1824–1828, 1 jan. 1968.

DELACRE, Marie *et al.* Taking Parametric Assumptions Seriously: Arguments for the Use of Welch's F-test instead of the Classical F-test in One-Way ANOVA. **International Review of Social Psychology**, v. 32, n. 1, 1 ago. 2019.

DIAS, Eduardo H. *et al.* One-Pot Solvothermal Synthesis of Carbon Black-Supported CuO for Catalysis of CO₂ Electroreduction. **ChemElectroChem**, v. 9, n. 11, p. e202200206, 14 jun. 2022.

DICK, R. J.; JOHNSTON, H. N.; WRAY, J. A. **A Literature and Technology Search on the Bacteriostatic and Sanitizing Properties of Copper and Copper Alloy Surfaces: Phase I Final Report.** [*S.l.*]: International Copper Research Assoc., 1973.

DINNEBIER, R. E.; BILLINGE, S. J. L. (ORGS.). **Powder Diffraction: Theory and Practice.** [*S.l.*]: The Royal Society of Chemistry, 2008.

DOLLASE, W. A. Correction of intensities for preferred orientation in powder diffractometry: application of the March model. **Journal of Applied Crystallography**, v. 19, n. 4, p. 267–272, 1 ago. 1986.

DONG, Wenhao *et al.* Structure and application of metal-organic frameworks in wearable electrochemical sweat sensors. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 197, p. 118738, 2026.

DUMUID, Dorothea *et al.* Compositional Data Analysis in Time-Use Epidemiology: What, Why, How. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 17, n. 7, 25 mar. 2020.

EGOZCUE, J. J. *et al.* Isometric Logratio Transformations for Compositional Data Analysis. **Mathematical Geology**, v. 35, n. 3, p. 279–300, 1 abr. 2003.

ELAZAZY, Marwa S. *et al.* Application of fractional factorial design for green synthesis of cyano-modified silica nanoparticles: Chemometrics and multifarious response optimization. **Advanced Powder Technology**, v. 29, n. 5, p. 1204–1215, maio 2018.

ELOVIKOV, D. P. *et al.* Influence of Conditions of Microreactor Mixing of Reagent Solutions on the Formation and Photocatalytic Properties of BiVO₄. **Theoretical Foundations of Chemical Engineering**, v. 58, n. 4, p. 1112–1122, 1 ago. 2024.

EL-TRASS, A. *et al.* CuO nanoparticles: Synthesis, characterization, optical properties and interaction with amino acids. **Applied Surface Science**, v. 258, n. 7, p. 2997–3001, 15 jan. 2012.

EMBRECHTS, Heidemarie *et al.* Role of Prenucleation Building Units in Determining Metal–Organic Framework MIL-53(Al) Morphology. **Crystal Growth & Design**, v. 20, n. 6, p. 3641–3649, 3 jun. 2020.

ERMINI, Maria Laura; VOLIANI, Valerio. Antimicrobial Nano-Agents: The Copper Age. **ACS Nano**, v. 15, n. 4, p. 6008–6029, 27 abr. 2021.

EVANS, John S. O.; EVANS, Ivana Radosavljevic. Structure Analysis from Powder Diffraction Data: Rietveld Refinement in Excel. **Journal of Chemical Education**, v. 98, n. 2, p. 495–505, 9 fev. 2021.

FAN, Zehui *et al.* Multivalent copper-carbon-catalyzed persulfate/O₂ system: The relation between copper valence and the species of reactive oxygen. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 13, n. 6, p. 119488, 1 dez. 2025.

FENG, Yanming *et al.* High-efficiency synthesis of Cu superfine particles via reducing cuprous and cupric oxides with monoethanolamine and their antimicrobial potentials. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 608, p. 749–757, fev. 2022.

FINGER, L. W.; COX, D. E.; JEPHCOAT, A. P. A correction for powder diffraction peak asymmetry due to axial divergence. **Journal of Applied Crystallography**, v. 27, n. 6, p. 892–900, 1 dez. 1994.

FRANCIS, Zola *et al.* The COVID-19 Pandemic and Zinc-Induced Copper Deficiency: An Important Link. **The American Journal of Medicine**, v. 135, n. 8, p. e290–e291, ago. 2022.

GAWANDE, Manoj B. *et al.* Cu and Cu-Based Nanoparticles: Synthesis and Applications in Catalysis. **Chemical Reviews**, v. 116, n. 6, p. 3722–3811, 23 mar. 2016.

GEMI-IORDANOU, Effie *et al.* Medicine, Healing and Performance. p. 1–176, 2014.

GHERASIM, Carmen *et al.* Copper oxide nanostructures: Preparation, structural, dielectric and catalytic properties. **Ceramics International**, v. 48, n. 17, p. 25556–25568, set. 2022.

GOUEDARD, C. *et al.* Amine degradation in CO₂ capture. I. A review. **International Journal of Greenhouse Gas Control**, v. 10, p. 244–270, 1 set. 2012.

GOVIND, V. *et al.* Antiviral properties of copper and its alloys to inactivate covid-19 virus: a review. **BioMetals**, v. 34, n. 6, p. 1217–1235, dez. 2021.

GRASS, Gregor; RENSING, Christopher; SOLIOZ, Marc. Metallic Copper as an Antimicrobial Surface. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 77, n. 5, p. 1541–1547, mar. 2011.

GREENACRE, Michael. Compositional Data Analysis. **Annual Review of Statistics and Its Application**, v. 8, n. Volume 8, 2021, p. 271–299, 7 mar. 2021.

GREENACRE, Michael *et al.* Aitchison's Compositional Data Analysis 40 Years on: A Reappraisal. **Statistical Science**, v. 38, n. 3, p. 386–410, ago. 2023.

GUDKOV, Sergey V. *et al.* Antibacterial Properties of Copper Oxide Nanoparticles (Review). **International Journal of Molecular Sciences**, v. 25, n. 21, p. 11563, 28 out. 2024.

GUPTA, Dhritiman *et al.* Facile synthesis of Cu₂O and CuO nanoparticles and study of their structural, optical and electronic properties. **Journal of Alloys and Compounds**, v. 743, p. 737–745, abr. 2018.

GURBA-BRYŚKIEWICZ, Lidia *et al.* Quality by Design (QbD) and Design of Experiments (DOE) as a Strategy for Tuning Lipid Nanoparticle Formulations for RNA Delivery. **Biomedicines**, v. 11, n. 10, p. 2752, out. 2023.

HADJADJ, Khoulood; CHIH, Smaïl. Rietveld Refinement Based Quantitative Phase Analysis (QPA) of Ouargla (Part of Grand Erg Oriental in Algeria) Dunes Sand. **Silicon**, v. 14, n. 2, p. 429–437, 1 jan. 2022.

HARANO, Takayuki *et al.* Accuracy Improvement of the XRD-Rietveld Method for the Quantification of Crystalline Phases in Iron Sintered Ores through the Correction of Micro-absorption Effects. **ISIJ International**, v. 60, n. 12, p. 2851–2858, 2020.

HARIKUMAR, P. S.; ARAVIND, Anisha. Antibacterial Activity of Copper Nanoparticles and Copper Nanocomposites against Escherichia Coli Bacteria. **International Journal of Sciences**, v. 5, n. 02, p. 83–90, 3 mar. 2016.

HARISHCHANDRA, Baraiya Divyeksha *et al.* Copper Nanoparticles: A Review on Synthesis, Characterization and Applications. **Asian Pacific Journal of Cancer Biology**, v. 5, n. 4, p. 201–210, 7 dez. 2020.

HASSANZADEH-TABRIZI, S. A. Precise calculation of crystallite size of nanomaterials: A review. **Journal of Alloys and Compounds**, v. 968, p. 171914, 15 dez. 2023.

HAWINKEL, Stijn *et al.* Model-based joint visualization of multiple compositional omics datasets. **NAR Genomics and Bioinformatics**, v. 2, n. 3, p. lqaa050, 1 set. 2020.

HEINEMANN, Markus; EIFERT, Bianca; HEILIGER, Christian. Band structure and phase stability of the copper oxides Cu₂O, CuO, and Cu₄O₃. **Physical Review B**, v. 87, n. 11, p. 115111, 7 mar. 2013.

HEINZE, Georg; WALLISCH, Christine; DUNKLER, Daniela. Variable selection – A review and recommendations for the practicing statistician. **Biometrical Journal. Biometrische Zeitschrift**, v. 60, n. 3, p. 431–449, maio 2018.

HEYDARI, Fatemeh *et al.* Solvothermal synthesis of polyvinyl pyrrolidone encapsulated, amine-functionalized copper ferrite and its use as a magnetic resonance imaging contrast agent. **PLOS ONE**, v. 20, n. 2, p. e0316221, 6 fev. 2025.

HILL, R. J.; HOWARD, C. J. Quantitative phase analysis from neutron powder diffraction data using the Rietveld method. **Journal of Applied Crystallography**, v. 20, n. 6, p. 467–474, 1 dez. 1987.

HONG, Robert *et al.* Membrane lipid peroxidation in copper alloy-mediated contact killing of *Escherichia coli*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 78, n. 6, p. 1776–1784, mar. 2012.

HUNG, Man; BOUNSANGA, Jerry; VOSS, Maren Wright. Interpretation of correlations in clinical research. **Postgraduate medicine**, v. 129, n. 8, p. 902–906, nov. 2017.

HUSAIN, Nazim; MAHMOOD, Riaz. Copper(II) generates ROS and RNS, impairs antioxidant system and damages membrane and DNA in human blood cells. **Environmental Science and Pollution Research International**, v. 26, n. 20, p. 20654–20668, jul. 2019.

JAIN, Jacob E.; MUCALO, Michael R. Synthesis and characterization of polymer-protected rhodium and palladium sols in mixed media. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 375, n. 1, p. 12–22, 2012.

JAJI, Nuru-Deen *et al.* One-pot solvothermal synthesis and characterization of highly stable nickel nanoparticles. **Nanotechnology Reviews**, v. 10, n. 1, p. 318–329, 1 jan. 2021.

JAN, Show-Li; SHIEH, Gwopen. A systematic approach to designing statistically powerful heteroscedastic 2×2 factorial studies while minimizing financial costs. **BMC Medical Research Methodology**, v. 16, n. 1, p. 114, 31 ago. 2016.

JANKOVIC, Aleksandar; CHAUDHARY, Gaurav; GOIA, Francesco. Designing the design of experiments (DOE) – An investigation on the influence of different factorial designs on the characterization of complex systems. **Energy and Buildings**, v. 250, p. 111298, 1 nov. 2021.

JASIM, Mehedi Hasan *et al.* Effect of pH and (Y, Ag) co-doping on the antibacterial and toxicity properties of ZrO₂ nanoparticles. **Nanoscale Advances**, v. 7, n. 23, p. 7663–7680, 2025.

JIN, Wen *et al.* Effect of copper precursors on CO oxidation catalyzed by CuO-CeO₂ prepared by solvothermal method. **Journal of Rare Earths**, v. 41, n. 12, p. 1953–1962, 1 dez. 2023.

JUBU, Pevegra R. *et al.* Considerations about the determination of optical bandgap from diffuse reflectance spectroscopy using the tauc plot. **Journal of Optics**, v. 53, n. 5, p. 5054–5064, 1 nov. 2024.

JUNG, K. T.; SHUL, Y. G. Capillary hydrodynamic fractionation studies on the crystal growth of TS-1 zeolite. **Journal of Non-Crystalline Solids**, v. 316, n. 2, p. 246–254, 2003.

KARALKEVICIENE, Rasa *et al.* Solvothermal Synthesis of Calcium-Deficient Hydroxyapatite via Hydrolysis of α -Tricalcium Phosphate in Different Aqueous-Organic Media. **Crystals**, v. 12, n. 2, 12 fev. 2022.

KASHLAK, Adam B.; MYROSHNYCHENKO, Sergii; SPEKTOR, Susanna. Analytic Permutation Testing for Functional Data ANOVA. **Journal of Computational and Graphical Statistics**, v. 32, n. 1, p. 294–303, 2 jan. 2023.

KAUR, Jatinder *et al.* Growth and characterization of Cu₂O and CuO thin films. **Journal of Materials Science: Materials in Electronics**, v. 33, n. 20, p. 16154–16166, 1 jul. 2022.

- KAVITHA, M. *et al.* Optimization of process parameters for solution combustion synthesis of Strontium substituted Hydroxyapatite nanocrystals using Design of Experiments approach. **Powder Technology**, v. 271, p. 167–181, 2015.
- KHELFA, Abdelali *et al.* Quantitative In Situ Visualization of Thermal Effects on the Formation of Gold Nanocrystals in Solution. **Advanced Materials**, v. 33, n. 38, p. 2102514, 2021.
- KIM, Noori *et al.* Research Techniques Made Simple: Choosing Appropriate Statistical Methods for Clinical Research. **Journal of Investigative Dermatology**, v. 137, n. 10, p. e173–e178, 1 out. 2017.
- KIS, Viktória K.; KOVÁCS, Zsolt; CZIGÁNY, Zsolt. Improved Method for Electron Powder Diffraction-Based Rietveld Analysis of Nanomaterials. **Nanomaterials**, v. 14, n. 5, p. 444, 28 fev. 2024.
- KOMARNICKA, Urszula K. *et al.* The Bright and Dark Sides of Reactive Oxygen Species Generated by Copper–Peptide Complexes. **Separations**, v. 9, n. 3, 10 mar. 2022.
- KORELL, Lukas *et al.* On the structural evolution of nanoporous optically transparent CuO photocathodes upon calcination for photoelectrochemical applications. **Nanoscale Advances**, v. 6, n. 11, p. 2875–2891, 29 maio 2024.
- KOVÁCS, Zoltán *et al.* Solvothermal synthesis of ZnO spheres: Tuning the structure and morphology from nano- to micro-meter range and its impact on their photocatalytic activity. **Catalysis Today**, v. 397–399, p. 16–27, 2022.
- LAM, Nguyen *et al.* Evaluation of the Structural Deviation of Cu/Cu₂O Nanocomposite Using the X-ray Diffraction Analysis Methods. **Crystals**, v. 12, n. 4, p. 566, 18 abr. 2022.
- LANDI, Salmon *et al.* Use and misuse of the Kubelka-Munk function to obtain the band gap energy from diffuse reflectance measurements. **Solid State Communications**, v. 341, p. 114573, 1 jan. 2022.
- LEUBNER, Ingo H. Particle nucleation and growth models. **Current Opinion in Colloid & Interface Science**, v. 5, n. 1, p. 151–159, 2000.
- LI, Bixiao *et al.* Exploring the influence of polymeric and non-polymeric materials in synthesis and functionalization of luminescent lanthanide nanomaterials. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 514, p. 215922, 2024a.
- LI, Gen; LI, Yan; CHEN, Kun. It's all relative: Regression analysis with compositional predictors. **Biometrics**, v. 79, n. 2, p. 1318–1329, jun. 2023.
- LI, Hua; WU, Hua-zhong; XIAO, Guo-xian. Effects of synthetic conditions on particle size and magnetic properties of NiFe₂O₄. **Powder Technology**, v. 198, n. 1, p. 157–166, 2010.
- LI, Jianlin; WU, Qingliu; WU, Ji. Synthesis of Nanoparticles via Solvothermal and Hydrothermal Methods. *In: Handbook of Nanoparticles*. [S.l.]: Springer, Cham, 2015. p. 1–28.

- LI, Ting *et al.* Simple synthesis of Cu/Cu₂O/CuO composites with dual adsorption capacity for conductometric NO₂ detection. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 399, p. 134820, jan. 2024b.
- LIANG, Liuqing *et al.* Experimental synthesis and crystal structure refinement of a new ternary intermetallic compound Al₃GaCu₉. **Powder Diffraction**, v. 38, n. 3, p. 215–219, set. 2023.
- LIU, Jie *et al.* The antibacterial properties and biocompatibility of a Ti–Cu sintered alloy for biomedical application*. **Biomedical Materials**, v. 9, n. 2, p. 025013, fev. 2014.
- LIVADIOTIS, George. Goodness of Chi-Square for Linearly Parameterized Fitting. **Stats**, v. 8, n. 4, 30 nov. 2025.
- LONGANO, Daniela *et al.* Synthesis and Antimicrobial Activity of Copper Nanomaterials. **Nano-Antimicrobials**, p. 85–117, 26 ago. 2011.
- LOPRESTI, M. *et al.* Multivariate versus traditional quantitative phase analysis of X-ray powder diffraction and fluorescence data of mixtures showing preferred orientation and microabsorption. **Journal of Applied Crystallography**, v. 55, n. 4, p. 837–850, 1 ago. 2022.
- MA, Changchang *et al.* Facile synthesis of bimetallic MOF crystals with controllable morphology and topology by the self-converted strategy of hydroxy double salts (HDSs). **Microporous and Mesoporous Materials**, v. 322, p. 111153, 2021.
- MA, Pandong *et al.* Synthesis of Cu₂O micro/nanocrystals for catalytic combustion of high-concentration CO: The crucial role of glucose. **Chemosphere**, v. 314, p. 137720, 1 fev. 2023.
- MAHMOUDI, Melika *et al.* Rational modification of TiO₂ photoelectrodes with spinel ZnFe₂O₄ and Ag-doped ZnFe₂O₄ nanostructures highly enhanced the efficiencies of dye sensitized solar cells. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 289, p. 122214, 2023.
- MARTÍN-FERNÁNDEZ, J. A.; BARCELÓ-VIDAL, C.; PAWLOWSKY-GLAHN, V. Dealing with Zeros and Missing Values in Compositional Data Sets Using Nonparametric Imputation. **Mathematical Geology**, v. 35, n. 3, p. 253–278, 1 abr. 2003.
- MARTÍN-FERNÁNDEZ, Josep-Antoni *et al.* Bayesian-multiplicative treatment of count zeros in compositional data sets. **Statistical Modelling**, v. 15, n. 2, p. 134–158, 1 abr. 2015.
- MATHEWS, Salima *et al.* Contact Killing of Bacteria on Copper Is Suppressed if Bacterial-Metal Contact Is Prevented and Is Induced on Iron by Copper Ions. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 79, n. 8, p. 2605–2611, abr. 2013.
- MCCUSKER, L. B. *et al.* Rietveld refinement guidelines. **Journal of Applied Crystallography**, v. 32, n. 1, p. 36–50, 1 fev. 1999.
- MCWILLIAMS, Steven *et al.* Nanostructured Cu₂O Synthesized via Bipolar Electrochemistry. **Nanomaterials**, v. 9, n. 12, p. 1781, 15 dez. 2019.
- MEINERZHAGEN, Y. *et al.* Multidimensional Rietveld refinement of high-pressure neutron diffraction data of PbNCN. **Journal of Applied Crystallography**, v. 57, n. 5, p. 1436–1445, 1 out. 2024.

MERTENS, Brittany S. *et al.* Efficacy and Mechanisms of Copper Ion-Catalyzed Inactivation of Human Norovirus. **ACS infectious diseases**, v. 8, n. 4, p. 855–864, 8 abr. 2022.

MIOT, Hélio Amante. Correlation analysis in clinical and experimental studies. **Jornal Vascular Brasileiro**, v. 17, n. 4, p. 275–279, 2018.

MISHRA, Abhaya Kumar *et al.* Microwave-Assisted Solvothermal Synthesis of Cupric Oxide Nanostructures for High-Performance Supercapacitor. **The Journal of Physical Chemistry C**, v. 122, n. 21, p. 11249–11261, 31 maio 2018.

MISHRA, Prabhaker *et al.* Selection of Appropriate Statistical Methods for Data Analysis. **Annals of Cardiac Anaesthesia**, v. 22, n. 3, p. 297–301, 2019.

MOHAMMED, Abdussamad Mukhtar; NASIR, Mustapha Usman. Solvent effects and photocatalytic activity in the simple, template-free solvothermal synthesis of Cu₂O. **Next Materials**, v. 8, p. 100887, 1 jul. 2025.

MOHAMMED ALI, Mohammed J. *et al.* Synthesis and characterization of copper oxide nanoparticles and their application for solar cell. **Materials Today: Proceedings**, 4th Online International Conference on Science & Engineering of Material. v. 60, p. 917–921, 1 jan. 2022.

MONTGOMERY, Douglas C. **Design and analysis of experiments**. Tenth edition, EMEA edition ed. Hoboken, NJ: Wiley, 2020.

MÜLLER, Aline L. H. *et al.* 22 - Design of experiments and method development. *In*: POOLE, Colin F. (Org.). **Solid-Phase Extraction**. Handbooks in Separation Science. [S.l.]: Elsevier, 2020. p. 589–608.

MULLER, Keith E. Analysis of variance concepts and computations. **WIREs Computational Statistics**, v. 1, n. 3, p. 271–282, 2009.

MURUGESAN, Srimathi; BALASUBRAMANIAN, Satheeswaran; PERUMAL, Ekambaram. Copper oxide nanoparticles induced reactive oxygen species generation: A systematic review and meta-analysis. **Chemico-Biological Interactions**, v. 405, p. 111311, 5 jan. 2025.

NADJIA, Laouedj; ABDELKADER, Elaziouti. Design, synthesis and characterization of ceria: assessment of crystallite size and intrinsic strain using XRD profile analysis and its photocatalytic applications. **Journal of the Iranian Chemical Society**, v. 22, n. 2, p. 297–324, 1 fev. 2025.

NGUYEN, Vinh Huu *et al.* Solvothermal synthesis of bismuth-based halide perovskites: Investigating the influence of alcohol solvents on photocatalytic performance. **Materials Chemistry and Physics**, v. 316, p. 129098, 1 abr. 2024.

NILIUS, Niklas; GONIAKOWSKI, Jacek; NOGUERA, Claudine. A surface science view onto cuprous oxide: Growth, termination, electronic structure and optical response. **Surface Science Reports**, v. 79, n. 1, p. 100622, 1 mar. 2024.

NOGUEIRA, André E. *et al.* CuO synthesized by solvothermal method as a high capacity adsorbent for hexavalent chromium. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 498, p. 161–167, 5 jun. 2016.

OH, Junseop *et al.* Using isometric log-ratio in compositional data analysis for developing a groundwater pollution index. **Scientific Reports**, v. 14, n. 1, p. 12196, 28 maio 2024.

OOI, M. D. Johan; AZIZ, A. Abdul. Seed-mediated grown platinum nanocrystal: A correlation between seed volume and catalytic performance of formic acid and ethanol oxidation. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 42, n. 14, p. 9063–9068, 2017.

OUTOKESH, M. *et al.* Hydrothermal Synthesis of CuO Nanoparticles: Study on Effects of Operational Conditions on Yield, Purity, and Size of the Nanoparticles. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v. 50, n. 6, p. 3540–3554, 16 mar. 2011.

PALAREA-ALBALADEJO, Javier; MARTÍN-FERNÁNDEZ, Josep Antoni. zCompositions — R package for multivariate imputation of left-censored data under a compositional approach. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**, v. 143, p. 85–96, abr. 2015.

PAUL, Susmita; CHOUDHURY, Amarjyoti. Investigation of the optical property and photocatalytic activity of mixed phase nanocrystalline titania. **Applied Nanoscience**, v. 4, n. 7, p. 839–847, 1 out. 2014.

PAWLOWSKY-GLAHN, Vera; EGOZCUE, Juan José; TOLOSANA-DELGADO, Raimon. **Modelling and Analysis of Compositional Data**. 1. ed. [S.l.]: Wiley, 2015.

PAYERCHIN, Richard. How modern medicine was made, part 3: The history of antibiotic development. *Medical Economics* October 2023. v. 100, 28 set. 2023.

POKHREL, Rudramani *et al.* Molecular Modeling and Simulation of the Peptidoglycan Layer of Gram-Positive Bacteria *Staphylococcus aureus*. **Journal of Chemical Information and Modeling**, v. 62, n. 20, p. 4955–4962, 24 out. 2022.

POSPIECH, Solveig; TOLOSANA-DELGADO, Raimon; VAN DEN BOOGAART, K. Gerald. Discriminant Analysis for Compositional Data Incorporating Cell-Wise Uncertainties. **Mathematical Geosciences**, v. 53, n. 1, p. 1–20, 1 jan. 2021.

RAHA, Syamal *et al.* Is copper beneficial for COVID-19 patients? **Medical Hypotheses**, v. 142, p. 109814, set. 2020.

RAJH-WEBER, Hanna; HUBER, Stefan Ernest; ARENDASY, Martin. A practice-oriented guide to statistical inference in linear modeling for non-normal or heteroskedastic error distributions. **Behavior Research Methods**, v. 57, n. 12, p. 338, 10 nov. 2025.

RAKSHIT, Soumen *et al.* Enhanced structural, optical and electrical properties of Cu₂O and CuO nanoparticles for electrochemical energy storage devices. **Journal of Alloys and Compounds**, v. 1024, p. 180274, abr. 2025.

RAMOS-ZÚÑIGA, Javiera; BRUNA, Nicolás; PÉREZ-DONOSO, José M. Toxicity Mechanisms of Copper Nanoparticles and Copper Surfaces on Bacterial Cells and Viruses. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 24, n. 13, p. 10503, jan. 2023.

RANI, Isha *et al.* Potential molecular mechanisms of zinc- and copper-mediated antiviral activity on COVID-19. **Nutrition Research**, v. 92, p. 109–128, ago. 2021.

RASMUSSEN, Charlotte Lund *et al.* Zero problems with compositional data of physical behaviors: a comparison of three zero replacement methods. **International Journal of Behavioral Nutrition and Physical Activity**, v. 17, n. 1, p. 126, 6 out. 2020.

REIMANN, C. *et al.* A new method for correlation analysis of compositional (environmental) data – a worked example. **Science of The Total Environment**, v. 607–608, p. 965–971, 31 dez. 2017.

REWAK-SOROCZYNSKA, Justyna *et al.* Culture Media Composition Influences the Antibacterial Effect of Silver, Cupric, and Zinc Ions against *Pseudomonas aeruginosa*. **Biomolecules**, v. 12, n. 7, p. 963, jul. 2022.

RIETVELD, H. M. A profile refinement method for nuclear and magnetic structures. **Journal of Applied Crystallography**, v. 2, n. 2, p. 65–71, 2 jun. 1969.

ROCA, Alejandro G. *et al.* Design strategies for shape-controlled magnetic iron oxide nanoparticles. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 138, p. 68–104, 2019.

ROMÁN, Luz Esmeralda *et al.* Textiles Functionalized with Copper Oxides: A Sustainable Option for Prevention of COVID-19. **Polymers**, v. 14, n. 15, p. 3066, 29 jul. 2022.

ROWLES, M. R. The effect of data quality and model parameters on the quantitative phase analysis of X-ray diffraction data by the Rietveld method. **Journal of Applied Crystallography**, v. 54, n. 3, p. 878–894, 1 jun. 2021.

RUNČEVSKI, Tomče; BROWN, Craig M. The Rietveld Refinement Method: Half of a Century Anniversary. **Crystal Growth & Design**, v. 21, n. 9, p. 4821–4822, 1 set. 2021.

SAHANA, Soumitra *et al.* A recent update on development, synthesis methods, properties and application of natural products derived carbon dots. **Natural Products and Bioprospecting**, v. 13, n. 1, p. 51, 13 nov. 2023.

SALAH, Intisar; PARKIN, Ivan P.; ALLAN, Elaine. Copper as an antimicrobial agent: recent advances. **RSC Advances**, v. 11, n. 30, p. 18179–18186, 2021.

SALEEM, Shahroz *et al.* Enhancement in structural, morphological, and optical properties of copper oxide for optoelectronic device applications. **Nanotechnology Reviews**, v. 11, n. 1, p. 2827–2838, 1 jan. 2022.

SAN, Kaungmyat *et al.* Antimicrobial copper alloy surfaces are effective against vegetative but not sporulated cells of gram-positive *Bacillus subtilis*. **MicrobiologyOpen**, v. 4, n. 5, p. 753–763, 2015.

SANSONETTI, Antonio *et al.* Optimization of Copper Stain Removal from Marble through the Formation of Cu(II) Complexes in Agar Gels. **Gels**, v. 7, n. 3, p. 111, set. 2021.

SASMAL, Ananta; NAYAK, Arpan Kumar. Morphology-dependent solvothermal synthesis of spinel NiCo₂O₄ nanostructures for enhanced energy storage device application. **Journal of Energy Storage**, v. 58, p. 106342, 1 fev. 2023.

SCARLETT, Nicola V. Y.; MADSEN, Ian C. Quantification of phases with partial or no known crystal structures. **Powder Diffraction**, v. 21, n. 4, p. 278–284, dez. 2006.

SCHMAHL, N. G.; EIKERLING, G. F. Über Kryptomodifikationen des *Cu* (II)-Oxids. **Zeitschrift für Physikalische Chemie**, v. 62, n. 5_6, p. 268–279, 1 dez. 1968.

SCHNEIDER, Caroline A.; RASBAND, Wayne S.; ELICEIRI, Kevin W. NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis. **Nature Methods**, v. 9, n. 7, p. 671–675, jul. 2012.

SCHOBER, Patrick; BOER, Christa; SCHWARTE, Lothar A. Correlation Coefficients: Appropriate Use and Interpretation. **Anesthesia and Analgesia**, v. 126, n. 5, p. 1763–1768, maio 2018.

SCHOBER, Patrick; VETTER, Thomas R. Nonparametric Statistical Methods in Medical Research. **Anesthesia and Analgesia**, v. 131, n. 6, p. 1862–1863, dez. 2020.

SEEMA; ROHILLA, Sunil. Rietveld refinement and structural characterization of powder ZnFe₂O₄ synthesized through coprecipitation method. **AIP Conference Proceedings**, v. 2142, n. 1, p. 140009, 29 ago. 2019.

SEIXAS, André F. *et al.* Bacterial Response to Oxidative Stress and RNA Oxidation. **Frontiers in Genetics**, v. 12, p. 821535, 10 jan. 2022.

SHAW, Manisha *et al.* Role of Surface Oxygen Vacancies and Oxygen Species on CuO Nanostructured Surfaces in Model Catalytic Oxidation and Reductions: Insight into the Structure–Activity Relationship Toward the Performance. **Inorganic Chemistry**, v. 61, n. 37, p. 14568–14581, 19 set. 2022.

SHKVARINA, Elena G. *et al.* Thermal stability of the CuZrSe₂. **Journal of Solid State Chemistry**, v. 328, p. 124307, dez. 2023.

STEPHEN, Andrei N. *et al.* Simple size tuning of magnetic nanoparticles using a microwave solvothermal method and their application in facilitating the solid-phase synthesis of molecularly imprinted polymers. **Materials Advances**, v. 6, n. 6, p. 2016–2028, 17 mar. 2025.

SU, Qian *et al.* A Review on Cu₂O-Based Composites in Photocatalysis: Synthesis, Modification, and Applications. **Molecules**, v. 28, n. 14, 21 jul. 2023.

SUN, Panpan (孙盼盼) *et al.* Continuous solvothermal synthesis of copper nanoparticles in supercritical ethanol. **Physics of Fluids**, v. 36, n. 10, p. 102013, 4 out. 2024.

TAMURA, Ryo *et al.* Automatic Rietveld refinement by robotic process automation with RIETAN-FP. **Science and Technology of Advanced Materials: Methods**, v. 2, n. 1, p. 435–444, 31 dez. 2022.

TAN, Guoqiang *et al.* Anaerobic Copper Toxicity and Iron-Sulfur Cluster Biogenesis in *Escherichia coli*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 83, n. 16, p. e00867-17, 15 ago. 2017.

TANGSIRI, Roya; NEZAMZADEH-EJHIEH, Alireza. Cadmium sulfide nanoparticles: Synthesis, brief characterization and experimental design by response surface methodology (RSM) in the photodegradation of ranitidine hydrochloride. **Chemical Physics Letters**, v. 758, p. 137919, 1 nov. 2020.

TAVARES LUIZ, Marcela *et al.* Design of experiments (DoE) to develop and to optimize nanoparticles as drug delivery systems. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 165, p. 127–148, 1 ago. 2021.

TAYLOR, J. C.; MATULIS, C. E. Absorption contrast effects in the quantitative XRD analysis of powders by full multiphase profile refinement. **Journal of Applied Crystallography**, v. 24, n. 1, p. 14–17, 1 fev. 1991.

THANH, Nguyen T. K.; MACLEAN, N.; MAHIDDINE, S. Mechanisms of Nucleation and Growth of Nanoparticles in Solution. **Chemical Reviews**, v. 114, n. 15, p. 7610–7630, 13 ago. 2014.

THOMPSON, P.; COX, D. E.; HASTINGS, J. B. Rietveld refinement of Debye–Scherrer synchrotron X-ray data from Al₂O₃. **Journal of Applied Crystallography**, v. 20, n. 2, p. 79–83, 1 abr. 1987.

THURMAN, Robert B.; GERBA, Charles P.; BITTON, Gabriel. The molecular mechanisms of copper and silver ion disinfection of bacteria and viruses. **Critical Reviews in Environmental Control**, v. 18, n. 4, p. 295–315, 1 jan. 1989.

TOBY, B. H. A simple solution to the Rietveld refinement recipe problem. **Journal of Applied Crystallography**, v. 57, n. Pt 1, p. 175–180, 1 fev. 2024.

TOBY, Brian H. R factors in Rietveld analysis: How good is good enough? **Powder Diffraction**, v. 21, n. 1, p. 67–70, mar. 2006.

TOBY, Brian H.; VON DREELE, Robert B. GSAS-II: the genesis of a modern open-source all purpose crystallography software package. **Journal of Applied Crystallography**, v. 46, n. 2, p. 544–549, 2013.

TORTELLA, G. R. *et al.* Silver, copper and copper oxide nanoparticles in the fight against human viruses: progress and perspectives. **Critical Reviews in Biotechnology**, v. 42, n. 3, p. 431–449, 3 abr. 2022.

TOUSIAN, Bushra *et al.* Biomimetic functionalized metal organic frameworks as multifunctional agents: Paving the way for cancer vaccine advances. **Materials Today Bio**, v. 27, p. 101134, 2024.

TZVETANOVA, Yana *et al.* Quantitative Phase Analysis of Skarn Rocks by the Rietveld Method Using X-ray Powder Diffraction Data. **Minerals**, v. 10, n. 10, 8 out. 2020.

ÜCKER, Cátia Liane *et al.* The photocatalytic performance of Fe inserted in Nb₂O₅ obtained by microwave-assisted hydrothermal synthesis: Factorial design of experiments. **Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry**, v. 435, p. 114294, fev. 2023.

VAN DEN BOOGAART, K. G. *et al.* Classical and Robust Regression Analysis with Compositional Data. **Mathematical Geosciences**, v. 53, n. 5, p. 823–858, 1 jul. 2021.

VAN DEN BOOGAART, K. Gerald; TOLOSANA-DELGADO, Raimon; BREN, Matevz. **compositions: Compositional Data Analysis**. , 10 jun. 2005. Disponível em: <<https://CRAN.R-project.org/package=compositions>>. Acesso em: 21 dez. 2025

- VIJAYAKUMAR, Y. *et al.* Nanostructured flower like V₂O₅ thin films and its room temperature sensing characteristics. **Ceramics International**, v. 41, n. 2, Part A, p. 2221–2227, 2015.
- VINCENT, M. *et al.* Contact killing and antimicrobial properties of copper. **Journal of Applied Microbiology**, v. 124, n. 5, p. 1032–1046, maio 2018.
- VO, Thi Thuy Tien *et al.* The crosstalk between copper-induced oxidative stress and cuproptosis: a novel potential anticancer paradigm. **Cell Communication and Signaling**, v. 22, n. 1, p. 353, 5 jul. 2024.
- VON DREELE, R. B. Quantitative texture analysis by Rietveld refinement. **Journal of Applied Crystallography**, v. 30, n. 4, p. 517–525, 1997.
- VRBIN, Colleen M. Parametric or nonparametric statistical tests: Considerations when choosing the most appropriate option for your data. **Cytopathology: Official Journal of the British Society for Clinical Cytology**, v. 33, n. 6, p. 663–667, nov. 2022.
- WANG, Jimin. Estimation of the quality of refined protein crystal structures. **Protein Science: A Publication of the Protein Society**, v. 24, n. 5, p. 661–669, maio 2015.
- WANG, Y. *et al.* Electronic structures of Cu₂O, Cu₄O₃, and CuO: A joint experimental and theoretical study. **Physical Review B**, v. 94, n. 24, p. 245418, 14 dez. 2016.
- WARIS, Abdul *et al.* A comprehensive review of green synthesis of copper oxide nanoparticles and their diverse biomedical applications. **Inorganic Chemistry Communications**, v. 123, p. 108369, 1 jan. 2021.
- WEI, Mengning *et al.* Thermal Decomposition and Nonisothermal Kinetics of Monoethanolamine Mixed with Various Metal Ions. **Scientific Reports**, v. 9, n. 1, p. 1592, 7 fev. 2019.
- WEI, Taiyun; SIMKO, Viliam. **R package “corrplot”: Visualization of a Correlation Matrix.** [S.l.: S.n.].
- WHITLEY, Elise; BALL, Jonathan. Statistics review 6: Nonparametric methods. **Critical Care**, v. 6, n. 6, p. 509, 13 set. 2002.
- WICKHAM, Hadley; BRYAN, Jennifer. **readxl: Read Excel Files.**, 14 abr. 2015. Disponível em: <<https://CRAN.R-project.org/package=readxl>>. Acesso em: 21 dez. 2025
- XIE, Min *et al.* Synergistic effects of oxidative and acid stress on bacterial membranes of Escherichia coli and Staphylococcus simulans. **Communications Biology**, v. 7, n. 1, p. 1161, 17 set. 2024.
- YADAV, Dharmendra Kumar *et al.* Molecular dynamic simulations of oxidized skin lipid bilayer and permeability of reactive oxygen species. **Scientific Reports**, v. 9, n. 1, p. 4496, 14 mar. 2019.
- YAN, Xin-Guo *et al.* Theoretical insight into the electronic and photocatalytic properties of Cu₂O from a hybrid density functional theory. **Materials Science in Semiconductor Processing**, v. 23, p. 34–41, 1 jul. 2014.

YANG, Xiwen *et al.* One-step hydrothermal synthesis of highly water-soluble secondary structural Fe₃O₄ nanoparticles. **Journal of Magnetism and Magnetic Materials**, v. 324, n. 14, p. 2249–2257, 2012.

YANG, Yang *et al.* Cu₂O/CuO Bilayered Composite as a High-Efficiency Photocathode for Photoelectrochemical Hydrogen Evolution Reaction. **Scientific Reports**, v. 6, n. 1, p. 35158, 17 out. 2016.

YILMAZ, Veysel T. *et al.* A hydrogen-bonded dimer of a novel Co(II) complex of monoethanolamine with thiocyanate: synthesis, spectra, thermal behaviour and crystal structure. **Journal of Molecular Structure**, v. 641, n. 2, p. 119–124, 2002.

YORFI, S.; GHEISARI, Kh; REIHANIAN, M. Fe-substituted Ni ferrites via plasma arc discharge process: Structural evolution and magnetic enhancement. **Journal of Magnetism and Magnetic Materials**, v. 635, p. 173619, 2025.

YOUNG, Edited by R. A. (ORG.). **The Rietveld Method**. Oxford, New York: Oxford University Press, 1995.

YOUNG, R. A. (ORG.). **The Rietveld Method**. [S.l.]: Oxford University Press, 1993.

YOUNG, R. A.; WILES, D. B. Profile shape functions in Rietveld refinements. **Journal of Applied Crystallography**, v. 15, n. 4, p. 430–438, 1 ago. 1982.

YU, Jinsong *et al.* Application of antimicrobial properties of copper. **Applied Organometallic Chemistry**, v. 38, n. 7, p. e7506, 2024.

ZHA, Xiangyun *et al.* Synthesis of Copper Nanowires Using Monoethanolamine and the Application in Transparent Conductive Films. **Nanomaterials**, v. 15, n. 9, p. 638, 22 abr. 2025.

ZHAI, Yujie *et al.* Employing Copper-Based Nanomaterials to Combat Multi-Drug-Resistant Bacteria. **Microorganisms**, v. 13, n. 4, p. 708, abr. 2025.

ZHANG, Yiqian *et al.* Review and revamp of compositional data transformation: A new framework combining proportion conversion and contrast transformation. **Computational and Structural Biotechnology Journal**, v. 23, p. 4088–4107, 8 nov. 2024.

ZHANG, Zhufeng *et al.* Mixed-solvothermal synthesis of CdS micro/nanostructures with optical and ferromagnetic properties. **Physica E: Low-dimensional Systems and Nanostructures**, v. 92, p. 30–35, 1 ago. 2017.

ZHAO, Junkang *et al.* A review of statistical methods for dietary pattern analysis. **Nutrition Journal**, v. 20, n. 1, p. 37, 19 abr. 2021.

ZHAO, Lili *et al.* Copper ions induces ferroptosis in Staphylococcus aureus and promotes healing of MRSA-induced wound infections. **Microbiological Research**, v. 296, p. 128122, jul. 2025.

ZHAO, Piqi *et al.* Error Analysis and Correction for Quantitative Phase Analysis Based on Rietveld-Internal Standard Method: Whether the Minor Phases Can Be Ignored? **Crystals**, v. 8, n. 3, 26 fev. 2018.

ZHU, Xiaocong *et al.* High-yield synthesis of β -Ga₂O₃ via controlled hydrolytic precipitation from a gallium nitrate system. **Ceramics International**, 2026.

ŽIVKOVIĆ, Aleksandar *et al.* Mind the Interface Gap: Exposing Hidden Interface Defects at the Epitaxial Heterostructure between CuO and Cu₂O. **ACS Applied Materials & Interfaces**, v. 14, n. 50, p. 56331–56343, 21 dez. 2022.

ZUILY, Lisa *et al.* Copper Induces Protein Aggregation, a Toxic Process Compensated by Molecular Chaperones. **mBio**, v. 13, n. 2, p. e03251-21, 15 mar. 2022.

ZULFIQAR, Noor *et al.* Sustainable synthesis and photocatalytic insights into Ag-doped copper oxide nanoparticles: a comparative study. **Scientific Reports**, v. 16, n. 1, p. 2815, 3 jan. 2026.

APÊNDICE A - Código de análise em R

```
#Instalar pacotes
install.packages("readxl")
install.packages("compositions")
install.packages("zCompositions")
install.packages("corrplot")

#Carregar pacotes
library(readxl)
library(compositions)
library(zCompositions)
library(corrplot)

#Importar os dados de um arquivo .xlsx
dados <- read_excel("dados.xlsx")

#Visualizar dados
str(dados)

# Avaliação das Fases #

#Visualizar as informações das fases
summary(dados[, c("CuO", "Cu2O", "Cu0")])

#Selecionar e visualizar as fases
dados_fases <- dados[, c("CuO", "Cu2O", "Cu0")]
summary(dados_fases)

#Substituir os zeros
dados_repl <- cmultRepl(
  dados_fases,
  method = "CZM",
  threshold = 0.5,
  frac = 0.65,
  output = "prop"
)

# Conferir se ainda há zeros
any(dados_repl == 0)
```

```
# Conferir soma por linha (deve ser 1)
rowSums(dados_repl)

# Converter para objeto composicional
dados_acomp <- acomp(dados_repl)

# Transformação clr
dados_clr <- clr(dados_acomp)
head(dados_clr)

#Organizar o banco de dados
dados_CLR <- data.frame(
  MEA = factor(dados$MEA),
  Temperatura = factor(dados$Temperatura),
  Tempo = factor(dados$Tempo),
  clr_CuO = dados_clr[,1],
  clr_Cu2O = dados_clr[,2],
  clr_Cu0 = dados_clr[,3]
)

#ANOVA CuO
modelo_clr_CuO <- aov(clr_CuO ~ MEA * Temperatura * Tempo, data = dados_CLR)
summary(modelo_clr_CuO)

#ANOVA Cu2O
modelo_clr_Cu2O <- aov(clr_Cu2O ~ MEA * Temperatura * Tempo, data = dados_CLR)
summary(modelo_clr_Cu2O)

#ANOVA Cu0
modelo_clr_Cu0 <- aov(clr_Cu0 ~ MEA * Temperatura * Tempo, data = dados_CLR)
summary(modelo_clr_Cu0)

#Análise dos resíduos
par(mfrow = c(2,2))
plot(modelo_clr_CuO)
plot(modelo_clr_Cu2O)
plot(modelo_clr_Cu0)

#Shapiro-Wilk
shapiro.test(residuals(modelo_clr_CuO))
```

```

shapiro.test(residuals(modelo_clr_Cu2O))
shapiro.test(residuals(modelo_clr_Cu0))

# Atividade Bactericida #

#Razão logarítmica para evitar colinearidade
dados$log_CuO_Cu0 <- log(dados_repl[, "CuO"] / dados_repl[, "Cu0"])

#Modelos de regressão para os halos
modelo_hr <- lm(HR ~ log_CuO_Cu0, data = dados)
modelo_hi <- lm(HI ~ log_CuO_Cu0, data = dados)

summary(modelo_hr)
summary(modelo_hi)

#Relação entre os tipos de halos
cor.test(dados$HR, dados$HI, method = "spearman", exact = FALSE)

#Matriz de correlação de Spearman
dados_corr <- data.frame(
  HR = dados$HR,
  HI = dados$HI,
  clr_CuO = dados_clr[,1],
  clr_Cu2O = dados_clr[,2],
  clr_Cu0 = dados_clr[,3]
)

mat_spearman <- cor(
  dados_corr,
  method = "spearman",
  use = "pairwise.complete.obs"
)

colnames(mat_spearman) <- c(
  "Halo de Inibição Parcial",
  "Halo de Inibição Total",
  "clr(CuO)",
  "clr(Cu2O)",
  "clr(Cu0)"
)

```

```
rownames(mat_spearman) <- colnames(mat_spearman)

corrplot(
  mat_spearman,
  method = "color",
  type = "lower",
  tl.col = "black",
  tl.cex = 0.8,
  tl.srt = 45,
  addCoef.col = "black",
  number.cex = 0.8,
  col = colorRampPalette(c("#74D4FF", "white", "#E86A51"))(200)
)
```