

## Relatório no âmbito do projeto

## Report on project

### Valorização de Sobrantes Florestais - Produção, Caraterização e Qualificação do Óleo Essencial de *Cryptomeria japonica* D. Don

Março, 2019

March, 2019



Ciências  
ULisboa

CQB  
Centro  
de Química  
e Bioquímica

Centro de Biotecnologia Vegetal (CBV), CESAM Lisboa  
Centro de Química e Bioquímica (CQB)

Cofinanciado por



GOVERNO  
DOS AÇORES



UNIÃO EUROPEIA

Fundo Europeu de  
Desenvolvimento Regional



## Índice / Table of contents

CBV, CESAM Lisboa.....	5
Análise de óleo essencial / Essential oil analysis - <i>Cryptomeria japonica</i> (Thunb. ex L.f.) D.Don .....	5
Análise por Cromatografia Gasosa (GC) e Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massa (GC-MS) .....	5
Analysis by Gas Chromatography (GC) and Gas Chromatography coupled to Mass Spectrometry (GC-MS).....	5
 CQB .....	11
Análise por Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de $^{13}\text{C}$ ( $^{13}\text{C}$ RMN).....	11
Analysis by $^{13}\text{C}$ Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy ( $^{13}\text{C}$ NMR) .....	18



**Análise de óleo essencial / Essential oil analysis - *Cryptomeria japonica* (Thunb. ex L.f.) D.Don**

**Análise por Cromatografia Gasosa (GC) e Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massa (GC-MS)**

**Analysis by Gas Chromatography (GC) and Gas Chromatography coupled to Mass Spectrometry (GC-MS)**

**Identificação do Produtor / Identification of the Producer**

Produtor / Producer	Azorina S. A.
Responsável para contacto / Contact Name	António J. R. M. Almeida / Maria C. S. M. Rodrigues
Endereço / Address	Av. Antero de Quental 9 C 2ºAndar, 9500-160 Ponta Delgada, Açores, Portugal
Telefone / Phone	296240602
Email	<a href="mailto:Antonio.JR.Almeida@azores.gov.pt">Antonio.JR.Almeida@azores.gov.pt</a> <a href="mailto:Maria.CSM.Rodrigues@azores.gov.pt">Maria.CSM.Rodrigues@azores.gov.pt</a>

**Identificação da planta e momento de colheita / Plant identification and harvest time**

Nome científico / Scientific name:	<i>Cryptomeria japonica</i> (Thunb. ex L.f.) D.Don
Nome vulgar / Common name:	Criptoméria, Cedro-japonês / Japanese red-cedar
Família / Family:	Cupressaceae
Parte da planta / Plant part	vide página seguinte / vide overleaf
Floral ou Vegetativo / Floral or Vegetative	
Mês, ano de colheita / Harvest month, year	vide página seguinte / vide overleaf
Exemplar de herbário / Voucher code	
Código de colheita / Harvest code	

**Identificação do local de cultura ou colheita / Identification of the place of cultivation or harvesting**

Local, país / Place, country	vide página seguinte / vide overleaf
Cultivo, Espontânea / Cultivation, Wild harvest	Matas / Woods
Modo de cultivo / Cultivation method	

**Identificação da amostra / Sample identification**

Amostra / Sample:	Óleo essencial / Essential oil
Método de extração / Extraction procedure	vide página seguinte / vide overleaf
Tempo de extração / Extraction time	vide página seguinte / vide overleaf
Rendimento (% v/p.f. ou v/p.s.) / Yield (% v/f.w. or v/d.w.)	vide página seguinte / vide overleaf
Mês, ano de engarrafamento / Bottling month, year	
Validade / Shelf life	
Código da amostra / Sample code	vide página seguinte / vide overleaf

**Análise do óleo essencial / Essential oil analysis**

Identificação dos compostos por Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massa (GC-MS) e quantificação por Cromatografia Gasosa com Detetor de Ionização de Chama (GC-FID), como detalhado em Faria *et al.* (2016).

Volatiles were analyzed by Gas Chromatography coupled to Mass Spectrometry (GC-MS) for component identification, and by Gas Chromatography with Flame Ionization Detector (GC-FID), for component quantification, as detailed in Faria *et al.* (2016).

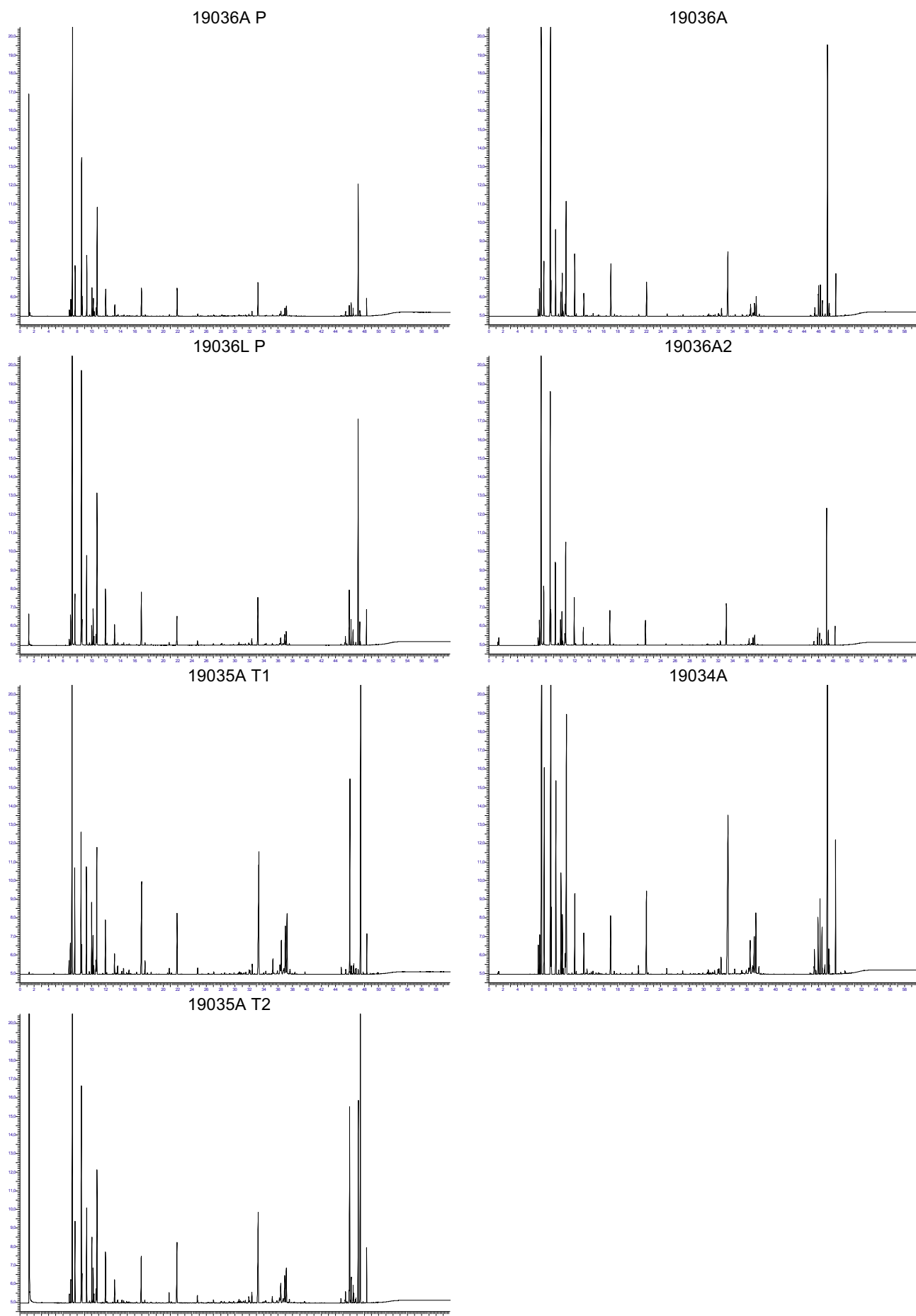
Faria *et al.* (2016) *J. Agric. Food Chem.* 64: 7452–7458

**Tabela 1.** Dados das amostras de óleo essencial de *Cryptomeria japonica* isoladas em março de 2019.

**Table 1.** Data on *Cryptomeria japonica* essential oils samples, isolated in March 2019.

<i>Cryptomeria japonica</i> (L. fil.) D. Don						Óleo Essencial / Essential Oil			
Tipo de material		Sample type		Origem Provenance	MAC MYC	ME EP	TD DT (h:min)	R Yield (%, v/p)	Código Code
Ramadas e bicadas com estróbilos ♀	Lote não estilhado	Branches from landscaping with ♀ strobili	Non-woodchips	Praia, Cais do Pico, Pico, Açores	Mar-19	SD*	2:10		19036A P
Ramadas e bicadas com estróbilos ♀	Lote não estilhado	Branches from landscaping with ♀ strobili	Non-woodchips	Praia, Cais do Pico, Pico, Açores	Mar-19	SD*	2:08		19036L P
Ramadas e bicadas com estróbilos ♂	Lote não estilhado	Branches from landscaping with ♂ strobili	Non-woodchips	Encosta dos Altares, Praia da Vitória, Terceira, Açores	Mar-19	HD	2:00		19035A T1
Ramadas e bicadas com estróbilos ♂	Lote não estilhado	Branches from landscaping with ♂ strobili	Non-woodchips	Encosta dos Altares, Praia da Vitória, Terceira, Açores	Mar-19	SD*	2:00		19035A T2
Ramadas e bicadas	Lote não estilhado	Branches from landscaping	Non-woodchips	Achadinha, Nordeste, S. Miguel, Açores	Mar-19	SD	2:02	0.26	19036A
Ramadas e bicadas	Lote não estilhado	Branches from landscaping	Non-woodchips	Achada, Nordeste, S. Miguel, Açores	Mar-19	SD	2:03	0.29	19036A2
Ramadas e bicadas	Lote não estilhado	Branches from landscaping	Non-woodchips	Cumieiras, Sete Cidades, S. Miguel, Açores	Mar-19	SD	2:08	0.28	19034A

MAC: Mês, ano de colheita. MYC: Month, year of collection. ME: Método de Extração. EP: Extraction Procedure. TD: Tempo de destilação. DT: Distillation time. R: Rendimento. HD: Hydrodistillation. SD: Steam distillation. \* Óleo essencial obtido de material destilado no Pico, enquanto o restante material foi destilado em S. Miguel / Essential oil obtained from plant material steam-distilled in Pico, whereas the remaining material was distilled in S. Miguel.



**Fig. 1.** Perfis cromatográficos das amostras analisadas. / **Fig. 1.** Gas chromatography profiles, taken on the DB-1 column, of the essential oils isolated from *Cryptomeria japonica* samples (for sample codes, see Table 1).

**Tabela 2.** Composição percentual das amostras de óleo essencial de *Cryptomeria japonica* isoladas em março de 2019 (para códigos das amostras *vide* Tabela 1).

**Table 2.** Percentage composition of the essential oils isolated from *Cryptomeria japonica* samples in March 2019 (for sample codes, *vide* Table 1).

Componentes	Components	IR / RI	1903 6A P	1903 6L P	1903 5A T1	1903 5A T2	1903 6A	1903 6A2	1903 4A
Triciclono	Tricyclene	921	0.4	0.3	0.3	0.3	0.3	0.4	0.4
$\alpha$ -Tujeno	$\alpha$ -Thujene	924	1.2	1.4	0.8	0.9	1.2	1.3	0.7
$\alpha$ -Pineno	$\alpha$ -Pinene	930	22.9	18.2	13.9	17.3	19.7	25.4	15.7
Canfeno	Camphene	938	3.5	2.3	2.8	2.9	2.3	2.9	3.7
Sabineno	Sabinene	958	13.0	16.9	4.1	9.4	16.6	17.0	10.9
$\beta$ -Pineno	$\beta$ -Pinene	963	1.4	1.1	0.7	1.0	1.3	1.7	0.9
$\beta$ -Mirceno	$\beta$ -Myrcene	975	4.6	4.3	3.0	3.8	4.0	4.7	4.1
$\alpha$ -Felandreno	$\alpha$ -Phellandrene	995	0.1	0.1	0.1	t	0.1	0.1	t
$\delta$ -3-Careno	$\delta$ -3-Carene	1000	2.2	1.0	2.1	2.6	1.1	1.4	2.0
$\alpha$ -Terpineno	$\alpha$ -Terpinene	1002	1.4	1.9	1.1	1.3	1.9	1.9	1.1
<i>p</i> -Cimeno	<i>p</i> -Cymene	1003	0.4	0.5	0.3	0.4	0.3	0.3	0.1
$\beta$ -Felandreno	$\beta$ -Phellandrene	1005	0.7	0.6	0.5	0.6	0.6	0.7	0.5
Limoneno	Limonene	1009	9.3	9.0	4.3	6.1	6.1	6.7	7.7
<i>cis</i> - $\beta$ -Ocimeno	<i>cis</i> - $\beta$ -Ocimene	1017	t	t	t	t	t	t	t
<i>trans</i> - $\beta$ -Ocimeno	<i>trans</i> - $\beta$ -Ocimene	1027	t	t	t	t	t	t	t
$\gamma$ -Terpineno	$\gamma$ -Terpinene	1035	2.2	3.1	1.7	2.2	3.1	3.1	1.8
Hidrato de <i>trans</i> -sabineno	<i>trans</i> -Sabinene hydrate	1037	0.1	0.1	t	t	0.1	0.1	t
2,5-Dimetil estireno	2,5-Dimethyl styrene	1059	t	t	t	t	t	t	t
Terpinoleno	Terpinolene	1064	1.0	1.2	0.7	1.0	1.2	1.2	0.9
Hidrato de <i>cis</i> -sabineno	<i>cis</i> -Sabinene hydrate	1066	t	t	t	t	0.1	t	t
Linalol	Linalool	1074	0.2	0.2	0.3	0.1	0.1	0.1	0.1
<i>trans</i> -Tujona	<i>trans</i> -Thujone	1081	t	t	0.1	t	t	t	t
Acetato de 1-octen-3-ilo	1-Octen-3-yl acetate	1086	t	t	0.1	t	t	t	t
$\alpha$ -Canfolenal	$\alpha$ -Campholenal	1092	t	t	t	t	t	t	t
<i>trans</i> - <i>p</i> -2-Menten-1-ol	<i>trans</i> - <i>p</i> -2-Menthen-1-ol	1099	0.1	0.2	0.2	0.1	0.2	0.1	t
Cânfora	Camphor	1102	t	t	t	t	t	t	t
<i>cis</i> - <i>p</i> -2-Menten-1-ol	<i>cis</i> - <i>p</i> -2-Menthen-1-ol	1114	t	0.1	0.2	t	t	0.1	t
<i>trans</i> -Pinocanfona (= <i>trans</i> -3-Pinanona)	<i>trans</i> -Pinocamphone (= <i>trans</i> -3-Pinanone)	1121	t	t	t	t	0.1	t	t
Borneol	Borneol	1134	t	t	0.1	t	t	t	t
<i>cis</i> -Pinocanfona	<i>cis</i> -Pinocamphone	1134	t	t	t	t	t	t	t
Terpinen-4-ol	Terpinen-4-ol	1148	2.8	3.8	5.0	2.6	3.2	2.9	1.7
Salicilato de metilo	Methyl salicylate	1159	t	t	t	t	t	t	t
$\alpha$ -Terpineol	$\alpha$ -Terpineol	1159	0.1	0.2	0.5	0.1	0.1	0.1	t
<i>cis</i> -Piperitol	<i>cis</i> -Piperitol	1182	t	t	0.1	t	t	t	t
<i>trans</i> -Piperitol	<i>trans</i> -Piperitol	1189	t	t	t	t	t	t	t
Acetato de $\alpha$ -fenchilo	$\alpha$ -Fenchyl acetate	1200	t	t	t	t	t	t	t
Piperitona	Piperitone	1211	t	t	t	t	t	t	t
Geraniol	Geraniol	1236	t	t	t	t	t	t	t
Acetato de linalilo	Linalyl acetate	1245	0.2	0.2	0.3	0.6	0.1	0.1	0.2
<i>trans</i> -Anetole	<i>trans</i> -Anethole	1254	t	t	t	t	t	t	t
Acetato de bornilo	Bornyl acetate	1265	3.1	2.1	2.6	3.4	2.0	2.1	2.8
Acetato de <i>cis</i> -verbenilo	<i>cis</i> -Verbenyl acetate	1266	t	t	t	t	t	t	t
Acetato de $\alpha$ -terpenilo	$\alpha$ -Terpenyl acetate	1334	0.3	0.3	0.3	0.4	0.2	0.2	0.2
$\alpha$ -Cubebeno	$\alpha$ -Cubebene	1345	t	t	t	t	t	t	t
Acetato de geraniolo	Geranyl acetate	1370	t	t	t	t	t	t	t
$\alpha$ -Copaeno	$\alpha$ -Copaene	1375	t	t	t	t	t	t	t
Metil eugenol	Methyl eugenol	1377							
$\beta$ -Bourboneno	$\beta$ -Bourbonene	1379	t	t	t	t	t	t	t
$\beta$ -Elemeno	$\beta$ -Elemene	1388	0.2	0.2	0.1	0.2	0.1	0.1	0.1
$\beta$ -Cariofileno	$\beta$ -Caryophyllene	1414	0.1	0.1	t	t	t	t	t
$\beta$ -Copaeno	$\beta$ -Copaene	1426	t	t	t	0.1	t	t	t
$\alpha$ -Humuleno	$\alpha$ -Humulene	1447	t	t	t	t	t	t	t
$\gamma$ -Muuroloeno	$\gamma$ -Muurolene	1469	0.1	t	t	t	t	t	t
Germacreno D	Germacrene D	1474	0.2	0.3	0.1	0.1	0.1	0.2	0.2
Biciclogermacreno	Bicyclogermacrene	1487	t	t	t	t	t	t	t
$\alpha$ -Muuroloeno	$\alpha$ -Muurolene	1494	0.2	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
$\beta$ -Bisaboleno	$\beta$ -Bisabolene	1500	0.3	0.2	0.3	0.4	0.2	0.2	0.2
$\gamma$ -Cadineno	$\gamma$ -Cadinene	1500	0.1	0.1	0.2	0.1	0.2	0.1	0.2
<i>trans</i> -Calameneno	<i>trans</i> -Calamenene	1505	t	t	t	t	t	t	t
$\delta$ -Cadineno	$\delta$ -Cadinene	1505	0.6	0.5	0.5	0.6	0.3	0.4	0.6
Elemol	Elemol	1530	4.6	4.0	9.9	6.2	5.3	5.0	9.8
<i>trans</i> -Nerolidol	<i>trans</i> -Nerolidol	1549	t	t	0.1	t	t	t	t
Germacreno D-4-ol *	Germacrene D-4-ol *	1557	0.1	t	0.2	0.1	0.1	0.1	0.2
Óxido de $\beta$ -cariofileno	$\beta$ -Caryophyllene oxide	1561	0.1	0.1	t	t	t	T	T
Cedrol	Cedrol	1574	t	t	t	t	t	T	T
Anidrooplopanona	Anhydrooplopanone	1576	0.2	0.2	0.5	0.2	0.1	0.1	0.1



Componentes	Components	IR / RI	1903 6A P	1903 6L P	1903 5A T1	1903 5A T2	1903 6A	1903 6A2	1903 4A
	(= $\beta$ -Oplophenone)								
10- <i>epi</i> - $\gamma$ -Eudesmol	10- <i>epi</i> - $\gamma$ -Eudesmol	1593	0.1	0.1	t	0.1	t	0.1	0.1
$\gamma$ -Eudesmol	$\gamma$ -Eudesmol	1609	0.8	0.7	2.0	1.1	0.5	0.8	0.8
T-Cadinol	T-Cadinol	1616	0.1	0.1	0.3	0.1	0.3	0.2	0.3
T-Muuroiol	T-Muuroiol	1616	0.1	0.1	0.3	0.2	0.2	0.1	0.3
$\alpha$ -Muuroiol (= $\delta$ -Cadinol)	$\alpha$ -Muuroiol (= $\delta$ -Cadinol)	1618	0.1	0.1	0.2	0.1	0.2	0.1	0.2
$\beta$ -Eudesmol	$\beta$ -Eudesmol	1620	1.2	1.0	2.8	1.5	0.7	0.9	1.6
$\alpha$ -Cadinol	$\alpha$ -Cadinol	1626	0.7	0.5	2.0	0.9	0.7	0.8	1.3
$\alpha$ -Eudesmol	$\alpha$ -Eudesmol	1634	0.7	0.8	1.3	1.0	1.2	0.5	0.9
Criptomeriona *	Cryptomerione *	1686	t	t	0.1	t	t	t	T
Acetato de oplopanoilo *	Oplopanoyl acetate *	1808	t	t	0.3	0.1	t	t	T
Rimueno	Rimueno	1814	t	t	t	t	t	t	T
Isopimara-9(11),15-dieno	Isopimara-9(11),15-diene	1821	0.6	0.6	0.2	0.4	0.5	0.4	0.7
NI 1	UI 1	1915	0.9	1.2	5.0	5.0	1.0	0.9	0.7
NI A'	UI A'	1915	t	1.0	1.0	0.7	0.2	t	0.3
NI 2 (Isokaurene *)	UI 2 (Isokaurene *)	1915	0.8	1.0	1.4	1.3	1.0	0.8	0.5
NI 3	UI 3	1924	1.1	1.1	0.3	0.7	1.2	0.8	1.4
Sandaracopimara-8(14),15-dieno	Sandaracopimara-8(14),15-diene	1956	0.5	0.5	0.3	0.8	0.4	0.5	1.0
Isofilocladeno *	Isophyllocladene *	1956	0.4	0.4	t	t	0.4	0.1	t
3' Cryptomeria	3' Cryptomeria	1977	0.1	0.1	0.1	0.2	t	0.1	0.1
Filocladeno*	Phyllocladene	2006	11.7	12.2	0.1	5.9	15.7	9.4	18.3
Caureno	Kaurene	2044	0.4	0.9	21.0	12.8	0.7	0.9	0.5
Abietadieno	Abietadiene	2060	t	t	t	t	t	t	t
NI 4	UI 4 (Nezukol *)	2176	1.2	1.4	0.9	1.2	1.6	1.2	2.3
Phyllocladanol *	Phyllocladanol *	2200	t	t	t	t	t	t	t
<b>% Identificação</b>	<b>% identification</b>		95.8	93.5	90.5	91.5	94.6	96.4	93.5
<b>Componentes agrupados</b>	<b>Grouped components</b>								
Hidrocarbonetos monoterpénicos	Monoterpene hydrocarbons		64.3	61.9	36.4	49.8	59.8	68.8	50.5
Monoterpenos oxigenados	Oxygen-containing monoterpenes		6.9	7.2	9.7	7.3	6.1	5.8	5.0
Hidrocarbonetos sesquiterpénicos	Sesquiterpene hydrocarbons		1.8	1.5	1.3	1.6	1.0	1.1	1.4
Sesquiterpenos oxigenados	Oxygen-containing sesquiterpenes		8.8	7.7	2t	11.6	9.3	8.7	15.6
Hidrocarbonetos diterpénicos	Diterpene hydrocarbons		14.0	15.2	23.0	21.2	18.3	12.0	21.0
Diterpenos oxigenados	Oxygen-containing diterpenes		t	t	t	t	t	t	t
Fenilpropanóides	Phenylpropanoids		t	t	t	t	t	t	t
Outros	Others		t	t	0.1	t	t	t	t

IR – Índices de retenção calculados relativamente a uma série de *n*-alcanos C<sub>9</sub>-C<sub>22</sub> numa coluna DB-1, \* Identificação baseada apenas no espetro de massa, NI – Compostos não identificados, t – em Português, v: vestigial (<0.05%).

RI - Retention index calculated relative to C<sub>9</sub>-C<sub>22</sub> *n*-alkanes on the DB-1 column, \* identification based on mass spectra only, UI – unidentified compounds, t - trace (<0.05%).

**Agradecimentos:** ao CESAM no âmbito do UID/AMB/50017 - POCI-01-0145-FEDER-007638, financiado pela FCT/MCTES e cofinanciado pelo FEDER e Compete 2020, e ao projeto SAI-AZOR/2018/392.

**Acknowledgments:** Thanks are due to CESAM UID/AMB/50017 - POCI-01-0145-FEDER-007638, supported by FCT/MCTES and the co-funding by FEDER and Compete 2020, and to project SAI-AZOR/2018/392.



## Análise por Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de $^{13}\text{C}$ ( $^{13}\text{C}$ RMN)

**Projeto:** Valorização de Sobrantes Florestais – Produção, Caracterização e Qualificação de Óleo Essencial de *Cryptomeria japonica* D.Don

**Serviço prestado:** Análise qualitativa de óleos essenciais (OEs) de *Cryptomeria japonica* dos Açores por Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de  $^{13}\text{C}$  ( $^{13}\text{C}$  RMN).

**Produtor:** Azorina S. A.

**Responsável Projeto:** António J. R. M. Almeida / Maria Conceição S. M. Rodrigues

**Email:** Antonio.JR.Almeida@azores.gov.pt; Maria.CSM.Rodrigues@azores.gov.pt

**Nome científico:** *Cryptomeria japonica* D.Don

**Nome comum:** Criptoméria, cedro-japonês

**Locais de recolha:** Cumeeiras, Sete Cidades, São Miguel, Açores, (**4A**); Achadinha, Nordeste, São Miguel, (**6A**); Achada, Nordeste, São Miguel (**6A2**); Praia Cais do Pico (**6LP**); Praia Cais do Pico, (**6AP**); Encosta dos Altares, Praia da Vitória, Terceira (**5AT1**); Encosta dos Altares, Praia da Vitória, Terceira (**5AT2**); Açores, Portugal.

**Tipo de mata:** Cultivo

**Ano / mês de recolha:** 2019 / 03

**Cota:** 4, 5 e 6

**Tipo de solo:** Andossolo (A) e Litossolo (L)

**Parte da planta:** parte aérea – ramadas, bicadas e estróbilos masculinos (RB+E)

**Método de extração:** Destilação por arrastamento de vapor e aparelho de *Clevenger*

**Amostra:** 7 Óleos essenciais (OE); **4A**, **6A** e **6A2** (São Miguel); **6LP** e **6AP** (Pico); **5AT1** e **5AT2** (Terceira)

**Tabela 1.** Código das amostras referentes a março de 2019 e condições de extração dos OEs de *C. japonica*.

Código (ano; mês; cota; tipo de solo; nº da amostra)	Processamento da planta (Estado da planta)	Tipo de Mata	Tempo de destilação (h:min)	Rendimento (%, v/p)
19034A	Amostra não estilhada; RB+E (Floral)	Cultivo	2:08	0,28
19036A	Amostra não estilhada; RB+E (Floral)	Cultivo	2:02	0,26
19036A2	Amostra não estilhada; RB+E (Floral)	Cultivo	2:03	0,29
19036LP*	Amostra não estilhada; RB+E (Floral)	Cultivo	2:08	-
19036AP*	Amostra não estilhada; RB+E (Floral)	Cultivo	2:10	-
19035AT1**	Amostra não estilhada; RB+E (Floral)	Cultivo	2:00	-
19035AT2*	Amostra não estilhada; RB+E (Floral)	Cultivo	2:00	-

\*Destilação por arraste de vapor em destilador da Ilha do Pico; \*\* Método de extração através de aparelho de *Clevenger*.

Em simultâneo com as análises dos OEs por GC e GC-MS procedeu-se à análise por  $^{13}\text{C}$  RMN das 7 amostras de OEs de *C. japonica*, representativas do mês de março de 2019, fornecidos pela Azorina S.A.. Assim, seguindo o mesmo procedimento das amostras analisadas dos meses anteriores procedeu-se à análise comparativa da constituição química dos três OEs da Ilha de São Miguel, **4A**, **6A** e **6A2**, dois OEs da Ilha Pico, **6LP** e **6AP** e dois OEs da Ilha Terceira, **5AT1** e **5AT2**.

Relativamente aos OEs da ilha de São Miguel, o perfil químico de  $^{13}\text{C}$  RMN do OE **19034A** resultante de amostras de ramadas e bicadas não estilhadas misturadas com estróbilos masculinos, da mesma cota e do mesmo local, comparativamente ao OE do mês anterior, **18024A**, é semelhante. Deteta-se que no OE deste

mês, 19034A, diminuiu consideravelmente a quantidade de  $\alpha$ -pineno com um ligeiro aumento de sabineno, limoneno, elemol e mirceno, não se observando variação no filocladeno, acetato de bornilo e canfeno. À semelhança do mês anterior, a quantidade de *ent*-caureno é praticamente inexistente (Anexo, Figura 1). O perfil químico de  $^{13}\text{C}$  RMN do OE 19036A das ramas e bicadas não estilhadas misturadas com estróbilos masculinos, de mesma cota e do mesmo local, referente ao mês de março, é semelhante ao OE do mês anterior, 18026A1. No OE deste mês observa-se um ligeiro aumento no sabineno e elemol, mantendo-se todos os outros constituintes do OE sem variação significativa, como se pode ver no Anexo, Figura 2. O perfil químico de  $^{13}\text{C}$  RMN do OE 19036A2 é semelhante aos OEs 19036A e 19034A, observando-se no primeiro uma diminuição na percentagem de filocladeno e aumento de  $\alpha$ -pineno e sabineno, não se detetando *ent*-caureno (Anexo, Figura 3).

O perfil químico de  $^{13}\text{C}$  RMN dos OEs da ilha do Pico (Cais, Praia) de solos diferentes, andossolos (6AP) e litossolos (6LP), são muito semelhantes. Estes OEs foram extraídos por arrastamento de vapor num destilador na ilha do Pico. À semelhança dos OEs da ilha de São Miguel, as duas amostras de OEs da ilha do Pico (19036AP e 19036LP) são constituídas maioritariamente por  $\alpha$ -pineno, sabineno, filocladeno e limoneno, seguindo-se em menores percentagens,  $\beta$ -mirceno, elemol, terpinen-4-ol, acetato de bornilo,  $\alpha$ - e  $\gamma$ -terpineno, com *ent*-caureno praticamente inexistente (Anexo, Figura 4).

Os dois OEs da ilha Terceira, oriundo das amostras de ramas e bicadas não estilhadas com estróbilos masculinos recolhidos na Praia da Vitória, obtidos por processos de extração diferentes, apresentam a mesma composição química, mas com percentagens dos seus constituintes variável. O OE 19035AT1 obtido através de destilação com aparelho de *Clevenger*, tem como constituinte maioritário o *ent*-caureno seguido de  $\alpha$ -pineno e elemol, não se detetando filocladeno. Adicionalmente, surgem em percentagens muito semelhantes, mas ainda consideráveis (ca. de 5%), sabineno, limoneno, terpinen-4-ol e um diterpeno desconhecido. Em percentagens reduzidas foram ainda identificados alguns compostos já detetado nestes OEs, como  $\beta$ -mirceno,  $\alpha$ - e  $\gamma$ -terpineno, canfeno, acetato de bornilo, observando-se um aumento de sesquiterpenos oxigenados como, eudesmóis ( $\alpha$ ,  $\beta$  e  $\gamma$ ) e cadinóis embora ainda em baixas percentagens (ca. de 2%).

O OE extraído por destilação por arrastamento de vapor na ilha do Pico mas da mesma amostra da Praia da Vitória, Terceira (OE 19035AT2), foi comparado com o OE 19035AT1, e observou-se que o OE 19035AT2 apresenta maior percentagem de  $\alpha$ -pineno e sabineno, sendo este último constituinte em menor percentagem do que o usual para estes OEs de criptoméria. A percentagem de limoneno aumentou ligeiramente. Contrariamente ao OE 19035AT1, o OE 19035AT2 apresenta filocladeno e um novo diterpeno desconhecido, com diminuição das percentagens de *ent*-caureno, elemol e terpinen-4-ol (Anexo, Figura 5).

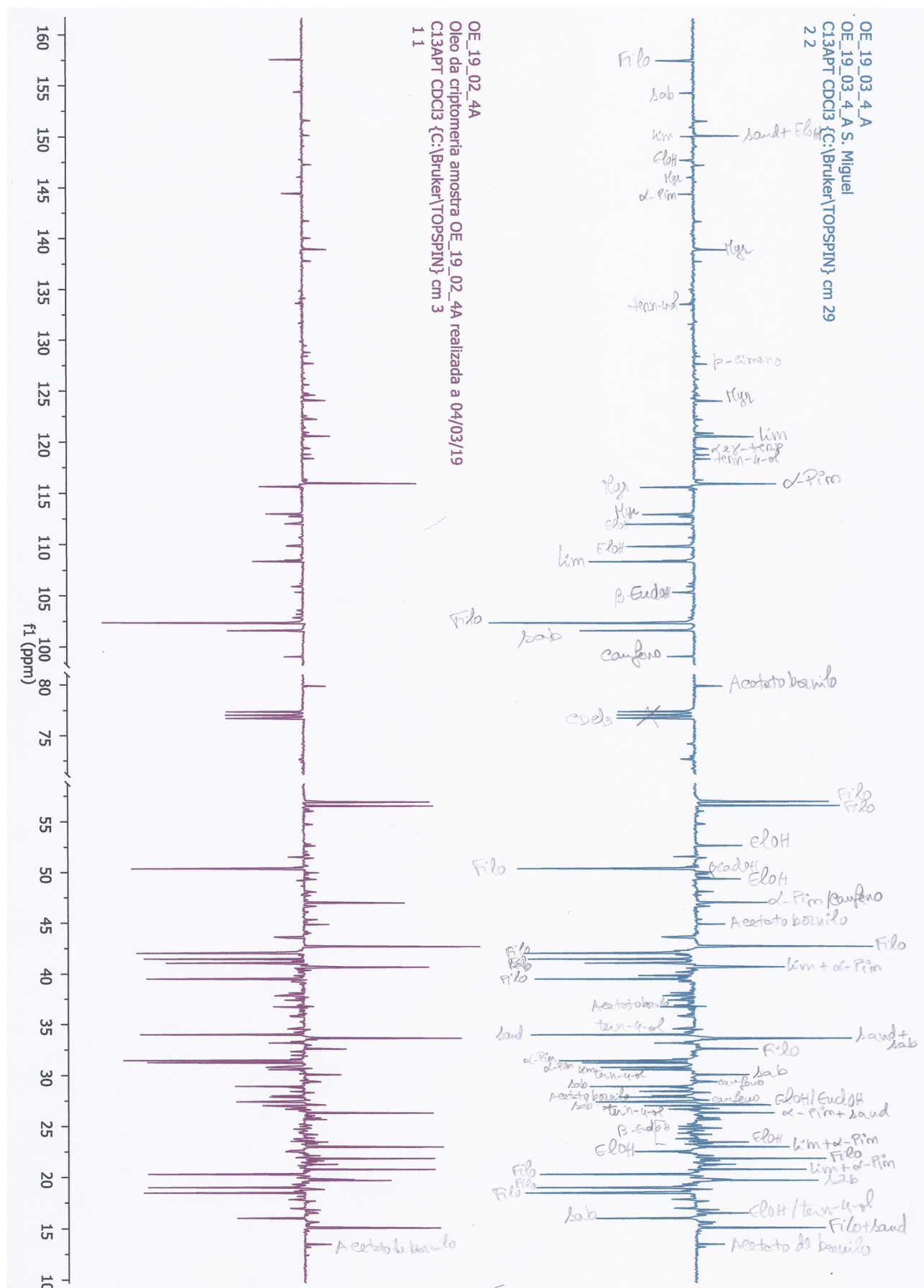


Figura 1. Comparação dos espectros de  $^{13}\text{C}$  RMN (APT) dos OEs de 19034A e 19024A da ilha de São Miguel em  $\text{CDCl}_3$  ( $\delta$  10 – 170 ppm). Aparelho de RMN de 400 MHz. Identificação dos compostos:  $\alpha$ -Pin-  $\alpha$ -Pineno; Sab – Sabineno; Lim – Limoneno; Myr – Mirceno;  $\alpha$ - e  $\gamma$ -Terp – Terpineno; Tern-4-ol- Terpinen-4-ol; EloH- Elemol; Eud- Eudesmol; Filo- Filocladeno; ent-Caur- ent-Caureno; Sand- Sandaracopamaradieno; acetato de bornilo; canfeno.



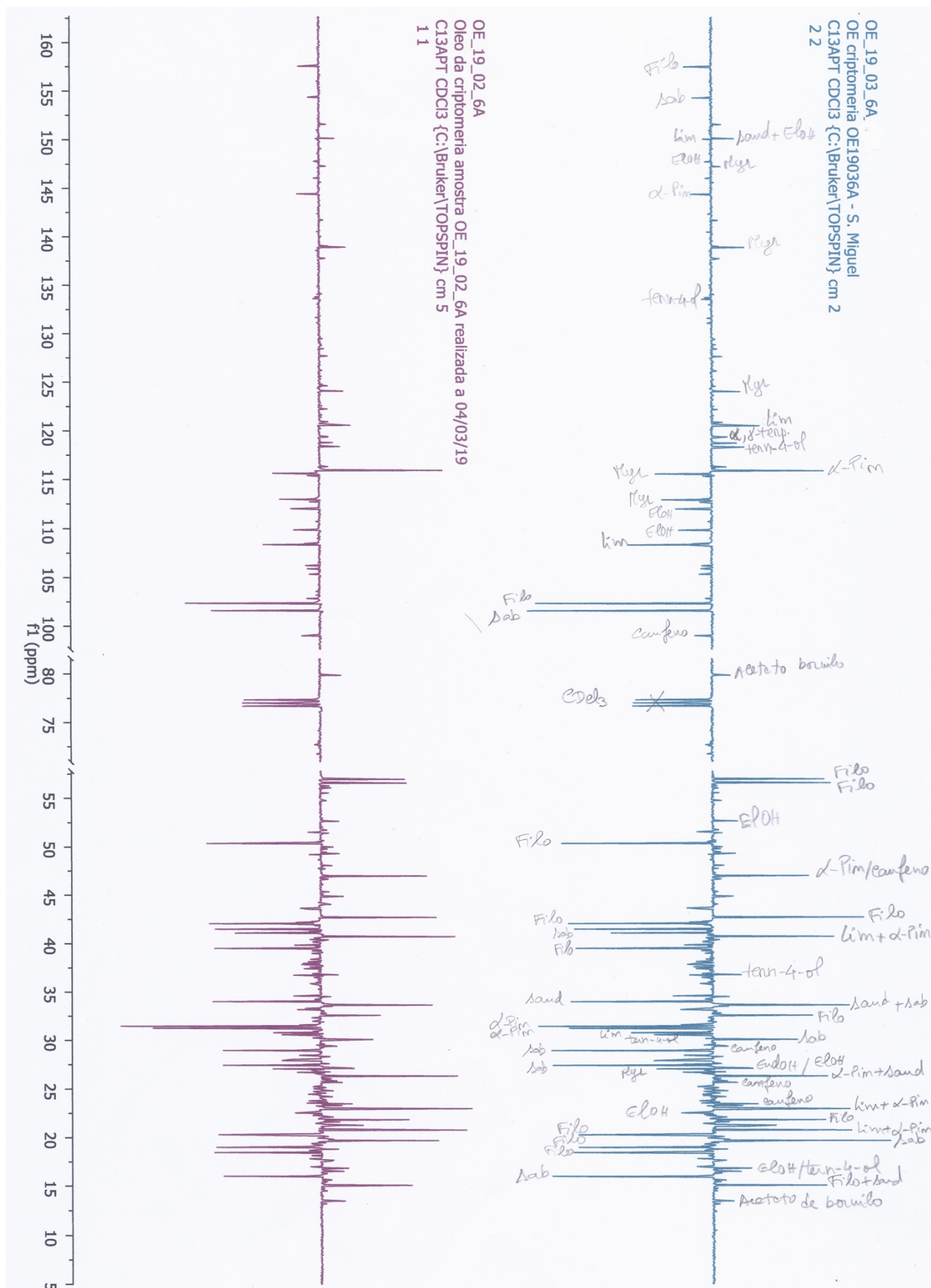


Figura 2- Comparação dos espectros de  $^{13}\text{C}$  RMN (APT) do OE de **19036A** e **18026A**, em  $\text{CDCl}_3$  ( $\delta$  10 –170 ppm). Aparelho de RMN de 400 MHz. Identificação dos compostos:  **$\alpha$ -Pin**-  $\alpha$ -Pineno; **Sab** – Sabineno; **Lim** – Limoneno; **Myr** – Mirceno;  **$\alpha$ - e  $\gamma$ -Terp**– Terpineno; **Tern-4-ol**- Terpinen-4-ol; **EIOH**- Elemol; **Filo**- Filocladeno; **ent-Caur**- ent-Caureno; **Sand**- Sandaracopamaradieno; Acetato de bornilo; **Eud**- Eudesmol; acetato de bornilo; canfeno.

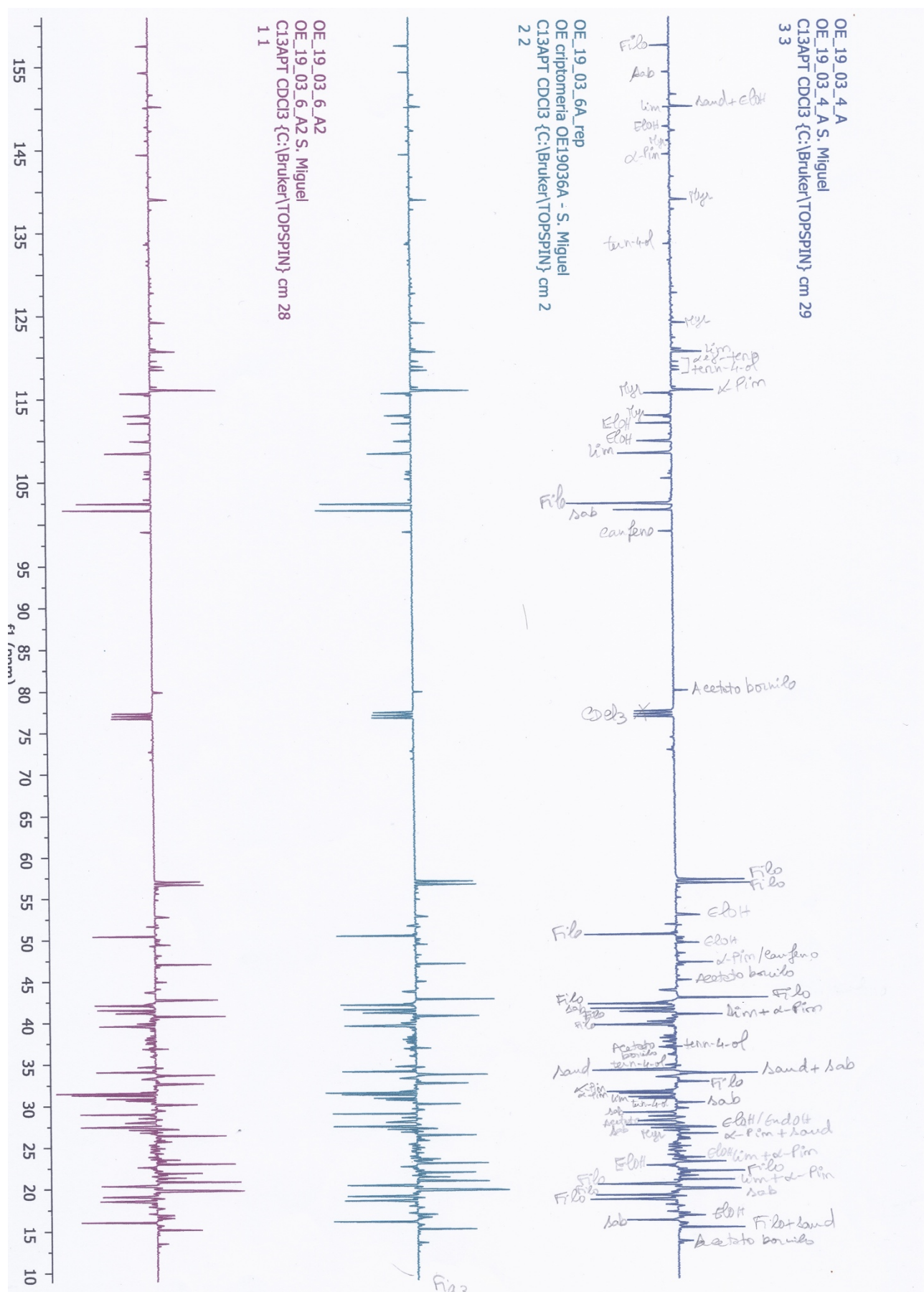


Figura 3- Espectro comparativo dos  $^{13}\text{C}$  RMN (APT) dos OEs de **19034A**, **19036A** e **19036A2**, em  $\text{CDCl}_3$  ( $\delta$  10 –170 ppm). Aparelho de RMN de 400 MHz. Identificação dos compostos:  **$\alpha$ -Pin-**  $\alpha$ -Pineno; **Sab** – Sabineno; **Lim** – Limoneno; **Myr** – Mirceno;  **$\alpha$ - e  $\gamma$ -Terp-** Terpineno; **Tern-4-ol-** Terpinen-4-ol; **EIOH-** Elemol; **Filo-** Filocladeno; **ent-Caur-** ent-Caureno; **Sand-** Sandaracopamaradieno; Acetato de bornilo; canfeno.



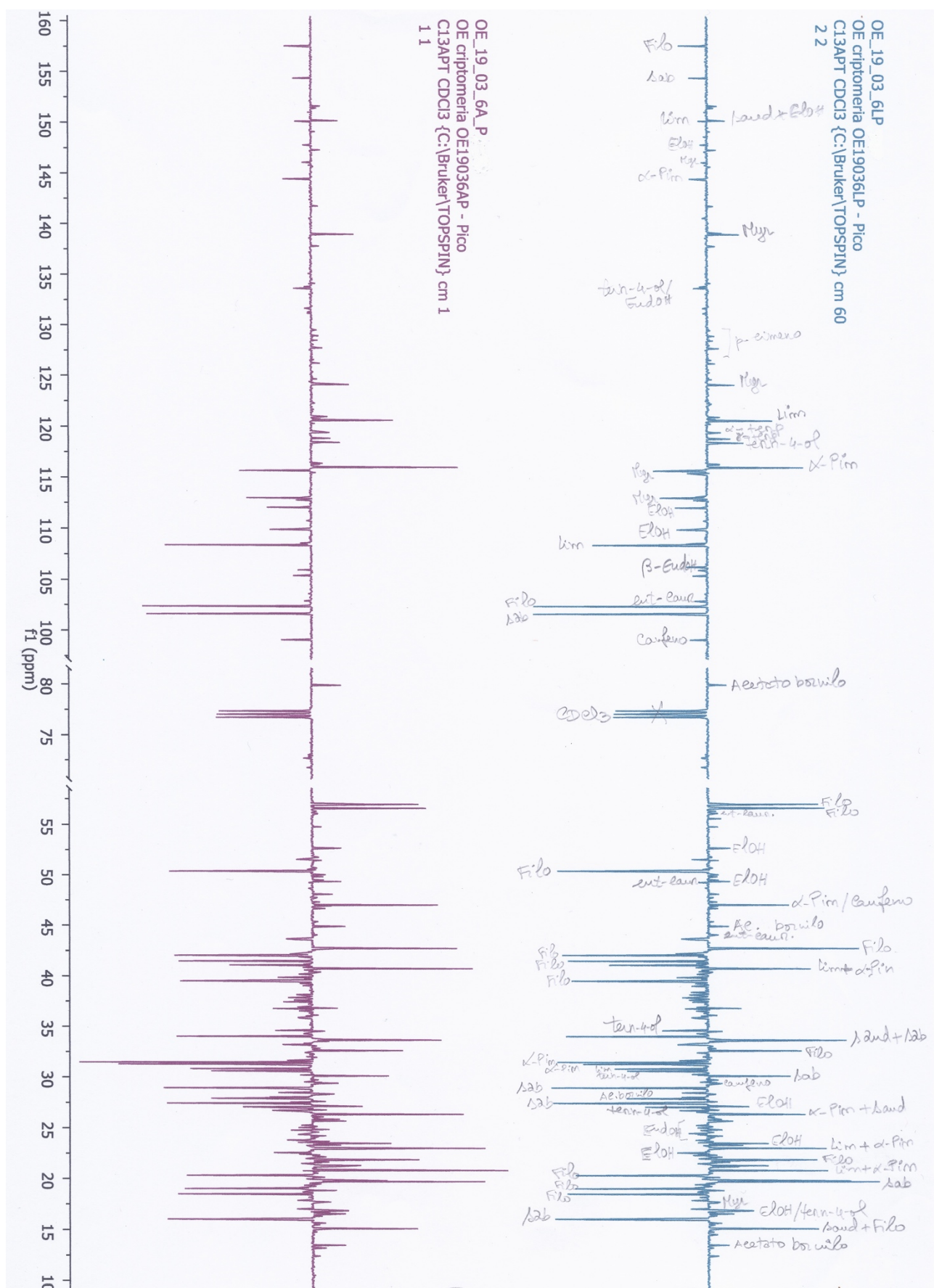


Figura 4- Espectro comparativo dos  $^{13}\text{C}$  RMN (APT) dos OEs de 19036LP e 19036AP em  $\text{CDCl}_3$  ( $\delta$  10 –170 ppm). Aparelho de RMN de 400 MHz. Identificação dos compostos:  **$\alpha$ -Pin**-  $\alpha$ -Pineno; **Sab** – Sabineno; **Lim** – Limoneno; **Myr** – Mirceno;  **$\alpha$ - e  $\gamma$ -Terp**– Terpineno; **Tern-4-ol**- Terpinen-4-ol; **EIOH**- Elemol; **Filo**- Filocladeno; **ent-Caur** – *ent*-Caureno; **Sand**- Sandaracopamaradieno; **EudOH** – Eudesmol; Acetato de bornilo; canfeno.



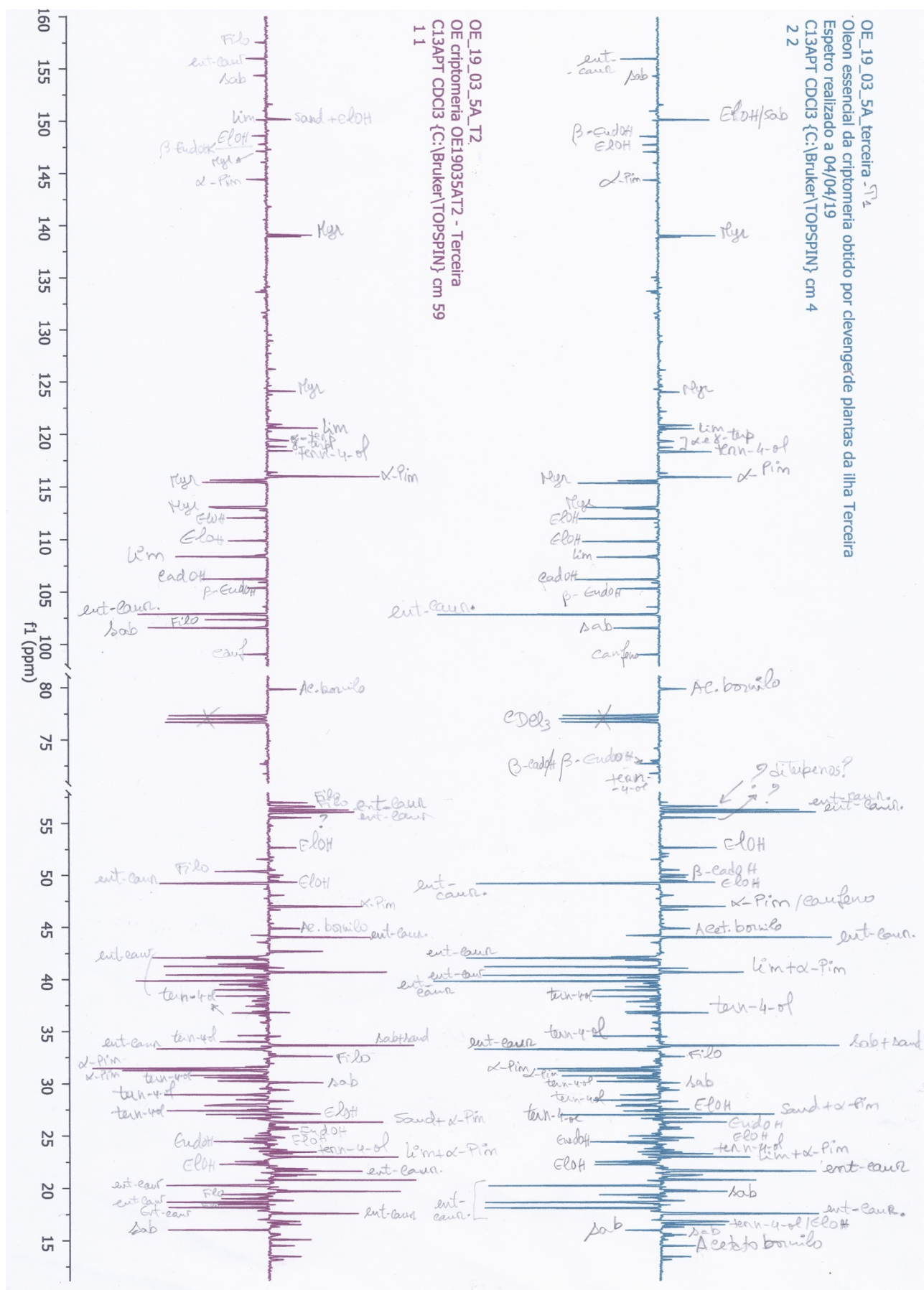


Figura 5- Espectro comparativo dos  $^{13}\text{C}$  RMN (APT) dos OEs de 19035AT1 e 19035AT2 em  $\text{CDCl}_3$  ( $\delta$  10 –170 ppm). Aparelho de RMN de 400 MHz. Identificação dos compostos:  $\alpha$ -Pin-  $\alpha$ -Pineno; Sab – Sabineno; Lim – Limoneno; Myr – Mirreno;  $\alpha$ - e  $\gamma$ -Terp– Terpineno; Tern-4-ol- Terpinen-4-ol; EIOH- Elemol; Filo- Filocladeno; ent-Caur – ent-Caureno; Sand- Sandaracopamaradieno; EudOH – Eudesmol; Acetato de bornilo; canfeno.

**Agradecimentos:** ao CQB no âmbito do projeto UID/MULTI/0062/2013 financiado pela FCT/MCTES e ao projeto SAI-AZOR/2018/392.

## Analysis by $^{13}\text{C}$ Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy ( $^{13}\text{C}$ NMR)

**Project:** Valorisation of Forestry Residues – Production, Characterization and Quantification of Essential Oils of *Cryptomeria japonica* D. Don

**Service provided:** Qualitative Analysis of Essential Oils (EOs) of *Cryptomeria japonica* from Azores by  $^{13}\text{C}$  Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy ( $^{13}\text{C}$  NMR).

**Producer:** Azorina S. A.

**Project manager:** António J. R. M. Almeida / Maria Conceição S. M. Rodrigues

**Email:** Antonio.JR.Almeida@azores.gov.pt; Maria.CSM.Rodrigues@azores.gov.pt

**Scientific name:** *Cryptomeria japonica* D. Don

**Common name:** Japanese cedar; Sugi

**Place of collection:** Cumeeiras, Sete Cidades, São Miguel (**4A**); Achadinha, Northeast, São Miguel (**6A**); Achada, Northeast, São Miguel, (**6A2**); Praia Cais do Pico (**6LP**); Praia Cais do Pico, (**6AP**); Encosta dos Altares, Praia da Vitória, Terceira (**5AT1**); Encosta dos Altares, Praia da Vitória, Terceira (**5AT2**); Azores, Portugal.

**Type of forest:** Cultivar

**Production Year / production month:** 2019 / 03

**Quota:** 4, 5 and 6

**Type of soils:** Andosols (A); Lithosols (L)

**Part of plant:** Aerial parts – Strobilus and branches from landscaping (RB+E)

**Extraction procedure:** Steam-distillation and *Clevenger* apparatus

**Sample:** 7 Essential Oils (EOs); **4A**, **6A** and **6A2** (São Miguel Island); **6LP** and **6AP** (Pico Island); **5AT1** and **5AT2** (Terceira Island)

**Table 1.** Sample codes and extraction conditions of *C. japonica* EOs collected in March 2019.

Code (Year; month; quota; soil type; sample number)	Plant processing (Plant state)	Type of forest	Distillation time (h:min)	Yield (%, v/w)
19034A	Uncut RB+E (Floral)	Cultivar	2:08	0.28
19036A	Uncut RB+E (Floral)	Cultivar	2:03	0.26
19036A2	Uncut RB+E (Floral)	Cultivar	2:02	0.29
19036LP*	Uncut RB+E (Floral)	Cultivar	2:08	-
19036AP*	Uncut RB+E (Floral)	Cultivar	2:10	-
19035AT1**	Uncut RB+E (Floral)	Cultivar	2:00	-
19035AT2*	Uncut RB+E (Floral)	Cultivar	2:00	-

\*Steam-distillation at Pico Island; \*\* Extraction method *via Clevenger* apparatus.

Seven samples of *C. japonica* EOs, representative of March 2019 provided by Azorina S.A., were analyzed by the  $^{13}\text{C}$  NMR technique simultaneously with the GC and GC-MS analyzes. Thus, following the same procedure used for the other samples from previous months, a comparative analysis of the chemical constituents of the three EOs **4A**, **6A**, and **6A2** from São Miguel Island, two OEs **6LP** and **6AP** from Pico Island and two EOs 5AT1 and 5AT2, was progressed.

In relation to EOs of the São Miguel Island, the  $^{13}\text{C}$  RMN chemical profile of the March EO 1903**4A**, from uncut strobilus and branches landscaping of the same quote and region in comparison with February EO 1802**4A**, are equivalent. In the EO 1903**4A** the amount of  $\alpha$ -pinene decreased considerably while sabinene,

limonene, elemol and a slightly increase of myrcene. There is no variation in the phyllocladene, bornyl acetate and camphene. Similar to the EO of the previous month, the amount of *ent*-kaurene is practically non-existent (Annex, Figure 1).

The  $^{13}\text{C}$  RMN chemical profile of the EO 19036A from uncut strobilus and branches landscaping of the same quote and region is similar to the previous month 18026A1. A slightly increase of both sabinene and elemol in the EO 19036A is observed while all other constituents of essential oil remain constants (Annex, Figure 2). The  $^{13}\text{C}$  RMN chemical profiles of EO 19036A2, EO 19036A and EO 19034A are analogous. However, in the first essential oil, 19036A2, there is a decrease of phyllocladene and an increase of  $\alpha$ -pinene and sabinene, with no detection of *ent*-caurene (Annex, Figure 3).

The  $^{13}\text{C}$  RMN chemical profiles of Pico island (cais, Praia) EOs from different soils, andosoils (6AP) and lithosoils (6LP) are similar. Both EOs were obtained by steam-distillation at Pico Island. Likewise, São Miguel EOs, the  $\alpha$ -pinene, sabinene, phyllocladene and limonene are the mainly constituents of Pico EOs (19036AP and 19036LP) followed of minor percentages of  $\beta$ -myrcene, elemol, terpinen-4-ol, bornyl acetate,  $\alpha$ - and  $\gamma$ -terpinene, no presence of *ent*-kaurene was detected (Annex, Figure 4).

Two EOs of the Terceira Island, extracted from the uncut strobilus and branches landscaping of Praia da Vitória region through different extraction methods, have similar chemical composition. One of them, EO 19035AT1 obtained from *Clevenger* apparatus, have *ent*-kaurene as the main constituent, followed the  $\alpha$ -pinene and elemol. This EO contains comparable percentages (*ca.* 5%) of sabinene, limonene, terpinen-4-ol and an unknown diterpene, with reduced percentages of the  $\beta$ -myrcene,  $\alpha$ - e  $\gamma$ -terpinene, camphene and bornyl acetate; an increase of oxygenated sesquiterpenes (*ca.* 2%) such as  $\alpha$ -,  $\beta$ - and  $\gamma$ -eudesmols and cadinols were also identified.

The same sample of uncut strobilus and branches landscaping (Praia da Vitória region, Terceira) was extracted, using steam-distillation method at Pico Island, produced EO 19035AT2. Both EOs profiles (19035AT2 and 19035AT1) were compared. The EO 19035AT2 contains high amounts of  $\alpha$ -pinene and sabinene, with the last constituent in minor percentage than usual for this cryptomeria essential oils. In contrast whit EO 19035AT1, the EO 19035AT2 contains phyllocladene and an unknown diterpene with a decrease of *ent*-kaurene, elemol and terpinen-4-ol (Annex, Figure 5).

Figures 1, 2, 3, 4 and 5 were illustrated in pages 13 to 17

**Acknowledgments:** Thanks are due to CQB, UID/MULTI/0062/2013 project funding by FCT/MCTES and to project SAI-AZOR/2018/392.



GOVERNO  
DOS AÇORES



UNIÃO EUROPEIA  
Fundo Europeu de  
Desenvolvimento Regional