

Relatório no âmbito do projeto

Report on project

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

Novembro, 2018

November, 2018



Centro de
Biotecnologia
Vegetal

CESAM Lisboa



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	1
Análise de óleo essencial / Essential oil analysis - <i>Cryptomeria japonica</i> (Thunb. ex L.f.) D.Don	1
Análise por Cromatografia Gasosa (GC) e Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massa (GC-MS)	1
Analysis by Gas Chromatography (GC) and Gas Chromatography coupled to Mass Spectrometry (GC-MS)	1
 CQB	 9
Análise por Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de ^{13}C (^{13}C RMN)	9
Analysis by ^{13}C Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy (^{13}C NMR)	15

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	Antonio.JR.Almeida@azores.gov.pt Maria.CSM.Rodrigues@azores.gov.pt

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 Outubro de 2018.

Table 1. Data on *Cryptomeria japonica* essential oils samples, isolated in October 2018.

<i>Cryptomeria japonica</i> (L. fil.) D. Don					Óleo Essencial / Essential Oil				
Tipo de material		Sample type	Origem	Provenance	MAC	ME	TD	R	Código
					MYC	EP	DT	Yield	Code
							(h:min)	(%, v/p)	
Estróbilos verdes	Lote não estilhado	Green strobili from landscaping	Non-woodchips	Espigão, Água de Pau, Lagoa, São Miguel, Açores	Sep-18	H	1:31	na	18094A1
Estróbilos castanhos	Lote não estilhado	Brown strobili from landscaping	Non-woodchips	Espigão, Água de Pau, Lagoa, São Miguel, Açores	Sep-18	H	1:35	na	18094A2
Ramadas e bicadas	Lote não estilhado	Branches from landscaping	Non-woodchips	Espigão, Água de Pau, Lagoa, São Miguel, Açores	Oct-18	SD	2:10	0.29	18104A
Ramadas e bicadas	Lote não estilhado	Branches from landscaping	Non-woodchips	Achadinha, Nordeste, São Miguel, Açores	Oct-18	SD	2:06	0.24	18106A
Ramadas e bicadas	Lote não estilhado	Branches from landscaping	Non-woodchips	Pasto comprido da Pacheca, Lomba da Maia, Ribeira Grande, São Miguel, Açores	Oct-18	SD	2:08	0.30	18105A

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. H: Hydrodistillation. SD: Steam distillation. nd: Não disponível. na: Not available

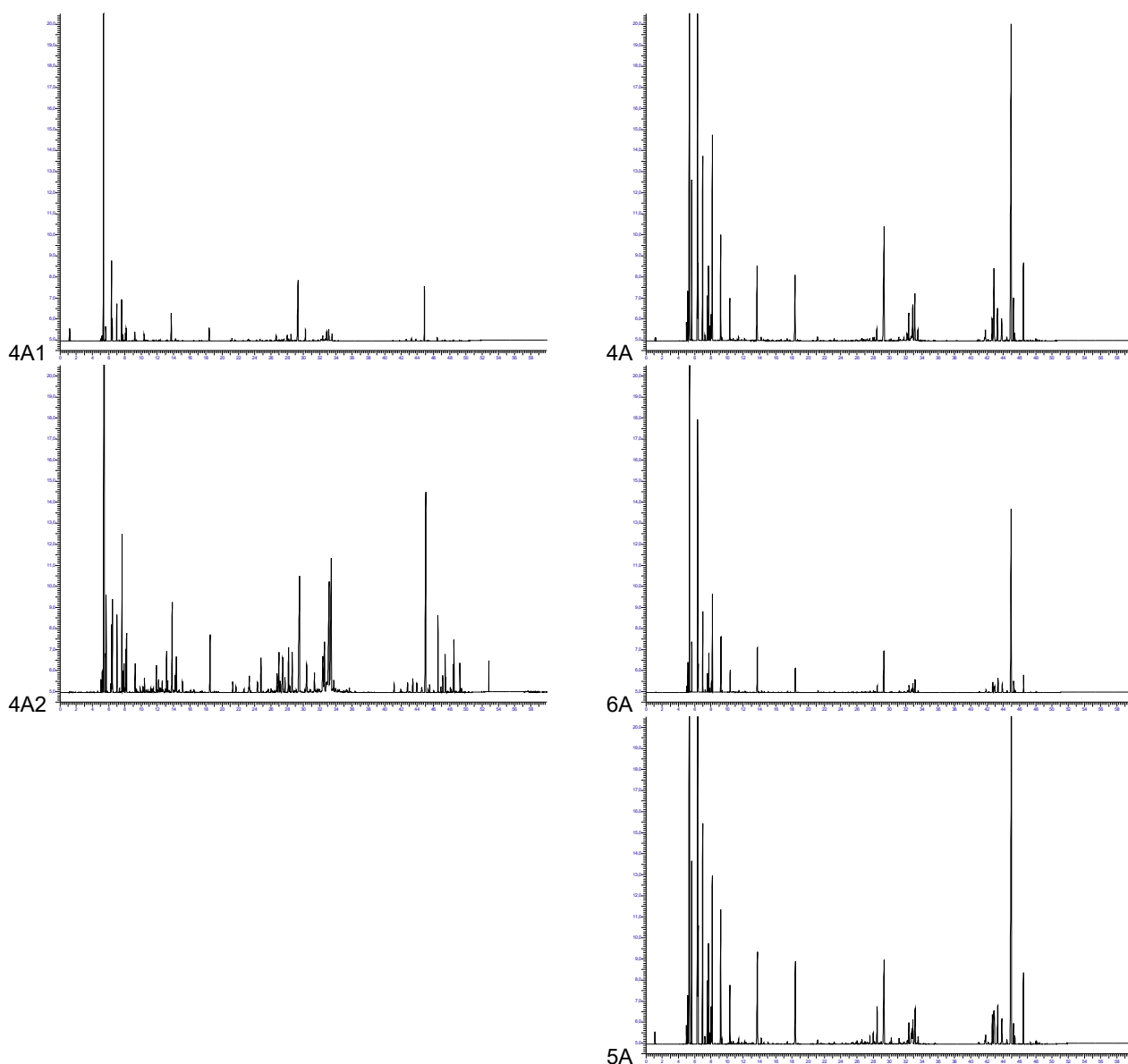


Fig. 1. Perfis cromatográficos das amostras analisadas. / **Fig. 1.** Gas chromatography profiles, taken on the DB-1 column, of the essential oils isolated from *Cryptomeria japonica* samples (for sample codes, see Table 1).

Tabela 2. Composição percentual das amostras de óleo essencial de *Cryptomeria japonica* isoladas em Outubro de 2018 (para códigos das amostras *vide* Tabela 1).

Table 2. Percentage composition of the essential oils isolated from *Cryptomeria japonica* samples in October 2018 (for sample codes, *vide* Table 1).

Componentes	Components	IR / RI	18094A1	18094A2	18104A	18106A	18105A
Triciclano	Tricyclene	921	0.2	0.2	0.4	0.2	0.3
α -Tujeno	α -Thujene	924	0.4	0.4	1.1	1.5	1.1
α -Pineno	α -Pinene	930	40.9	30.2	20.0	19.4	23.2
Canfeno	Camphene	938	1.3	1.7	2.9	2.5	2.6
Sabineno	Sabinene	958	6.6	1.0	12.4	18.1	15.0
β -Pineno	β -Pinene	963	2.2	1.3	1.9	1.6	1.5
β -Mirceno	β -Myrcene	975	3.5	1.1	4.1	4.7	4.3
α -Felandreno	α -Phellandrene	995	t	t	0.1	t	0.1
δ -3-Careno	δ -3-Carene	1000	4.0	2.7	0.9	1.1	1.1
α -Terpineno	α -Terpinene	1002	0.6	0.4	1.6	2.3	1.9
<i>p</i> -Cimeno	<i>p</i> -Cymene	1003	t	0.5	0.3	0.1	0.1
β -Felandreno	β -Phellandrene	1005	0.7	0.7	0.6	0.7	0.7
Limoneno	Limonene	1009	1.2	1.0	5.9	6.2	3.6
<i>cis</i> - β -Ocimeno	<i>cis</i> - β -Ocimene	1017	t	t	t	t	t
<i>trans</i> - β -Ocimeno	<i>trans</i> - β -Ocimene	1027	t	t	t	t	t
γ -Terpineno	γ -Terpinene	1035	0.9	0.5	2.6	3.8	3.1
Hidrato de <i>trans</i> -sabineno	<i>trans</i> -Sabinene hydrate	1037	0.1	t	0.1	t	0.1
2,5-Dimetil estireno	2,5-Dimethyl styrene	1059	t	0.1	t	t	t
Terpinoleno	Terpinolene	1064	0.8	0.3	1.0	1.4	1.3
Hidrato de <i>cis</i> -sabineno	<i>cis</i> -Sabinene hydrate	1066	0.1	t	t	t	t
Linalol	Linalool	1074	0.1	t	t	t	t
Acetato de 1-octen-3-ilo	1-Octen-3-yl acetate	1086	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	0.1	0.1	t	0.1
Cânfora	Camphor	1102	t	0.1	0.1	t	0.1
<i>cis</i> - <i>p</i> -2-Menten-1-ol	<i>cis</i> - <i>p</i> -2-Menthen-1-ol	1114	0.2	0.1	t	t	t
Borneol	Borneol	1134	t	t	t	t	t
Terpinen-4-ol	Terpinen-4-ol	1148	3.3	3.0	2.4	3.7	3.5
α -Terpineol	α -Terpineol	1159	0.3	1.0	0.1	t	0.1
Acetato de α -fenchilo	α -Fenchyl acetate	1200	t	t	t	t	t
Geraniol	Geraniol	1236	t	t	t	t	t
Acetato de linalilo	Linalyl acetate	1245	t	t	0.1	t	t
Acetato de bornilo	Bornyl acetate	1265	1.7	1.6	2.2	2.0	2.6
Acetato de <i>cis</i> -verbenilo	<i>cis</i> -Verbenyl acetate	1266	t	t	t	t	t
Acetato de α -terpenilo	α -Terpenyl acetate	1334	0.3	0.3	0.1	t	0.1
α -Cubebeno	α -Cubebene	1345	0.1	0.2	0.1	t	t
Acetato de geraniol	Geranyl acetate	1370	t	t	t	t	t
α -Copaeno	α -Copaene	1375	t	t	t	t	t
β -Bourboneno	β -Bourbonene	1379	t	t	t	t	t
β -Elemeno	β -Elemene	1388	t	t	t	t	t
β -Cariofileno	β -Caryophyllene	1414	t	t	t	t	t
β -Copaeno	β -Copaene	1426	0.2	0.5	t	t	t
α -Humuleno	α -Humulene	1447	t	t	t	t	t
γ -Muroleno	γ -Murolene	1469	t	t	t	t	t
Germacreno D	Germacrene D	1474	0.8	0.3	0.1	t	0.1
Biciclogermacreno	Bicyclogermacrene	1487	0.2	1.4	0.1	t	t
α -Muroleno	α -Murolene	1494	0.2	0.4	0.1	t	0.2
γ -Cadineno	γ -Cadinene	1500	0.8	1.4	0.1	0.1	0.4
<i>trans</i> -Calameneno	<i>trans</i> -Calamenene	1505	0.3	0.2	0.1	t	t
δ -Cadineno	δ -Cadinene	1505	0.8	1.2	0.4	0.6	1.1
Elemol	Elemol	1530	10.6	6.0	6.4	4.0	3.9
Germacreno D-4-ol *	Germacrene D-4-ol *	1557	1.9	1.0	0.1	t	0.1
Óxido de β -cariofileno	β -Caryophyllene oxide	1561	t	t	t	t	t
Anidrooplopanona	Anhydrooplopanone (= β -Oplopenone)	1576	0.2	0.1	0.1	t	0.1
γ -Eudesmol	γ -Eudesmol	1609	0.7	1.9	1.1	0.7	0.7
T-Cadinol	T-Cadinol	1616	0.3	2.0	0.2	0.3	0.4
T-Murolol	T-Murolol	1616	t	t	t	t	t

β -Eudesmol	β -Eudesmol	1620	1.3	6.5	1.5	0.2	0.6
α -Cadinol	α -Cadinol	1626	t	t	t	t	0.6
α -Eudesmol	α -Eudesmol	1634	1.9	6.6	1.9	1.5	1.0
Criptomeriona*	Cryptomerione*	1686	t	0.1	t	t	t
Acetato de oplopanoilo*	Oplopanoyl acetate*	1808	t	0.1	t	t	t
Rimueno	Rimueno	1814	t	t	t	t	t
Isopimara-9(11),15-dieno	Isopimara-9(11),15-diene	1821	t	t	0.5	0.2	0.3
NI 1	UI 1	1915	0.3	0.2	0.9	1.1	0.9
NI A'	UI A'	1915	t	t	3.5	0.5	1.0
NI 2	UI 2	1915	t	0.2	0.4	0.6	0.9
NI 3	UI 3	1924	0.4	0.4	1.3	1.5	1.3
Sandaracopimara-8(14),15-dieno	Sandaracopimara-8(14),15-diene	1956	0.3	0.3	0.9	1.0	0.9
Filocladeno*	Phyllocladene	2006	6.1	6.4	15.5	16.4	16.0
Caureno	Kaurene	2044	t	t	1.0	0.8	0.4
Abietadieno	Abietadiene	2060	t	t	t	t	t
NI 4	UI 4	2176	0.2	1.3	1.6	0.8	1.2
Phyllocladanol*	Phyllocladanol*	2177	t	0.4			
% Identificação	% identification		96.2	85.3	91.2	95.1	93.3
Componentes agrupados	Grouped components						
Hidrocarbonetos monoterpénicos	Monoterpene hydrocarbons	63.3	42.0	55.8	63.6	59.9	
Monoterpenos oxigenados	Oxygen-containing monoterpenes	6.2	6.2	5.2	5.7	6.6	
Hidrocarbonetos sesquiterpénicos	Sesquiterpene hydrocarbons	3.4	5.6	1.0	0.7	1.8	
Sesquiterpenos oxigenados	Oxygen-containing sesquiterpenes	16.7	24.1	11.2	6.7	7.3	
Hidrocarbonetos diterpénicos	Diterpene hydrocarbons	6.4	6.7	17.9	18.4	17.6	
Diterpenos oxigenados	Oxygen-containing diterpenes	t	0.4	t	t	t	
Fenilpropanóides	Phenylpropanoids	t	t	t	t	t	
Outros	Others	0.2	0.3	0.1	0.0	0.1	

IR – Índices de retenção calculados relativamente a uma série de *n*-alcanos C₉-C₂₂ 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 C₉-C₂₂ *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}C (^{13}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}C (^{13}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-japones

Locais de recolha: Espigão, Água de pau, Lagoa, São Miguel, Açores (**4A1**); Espigão, Água de pau, Lagoa, São Miguel, Açores (**4A2**); Achadinha, Nordeste, São Miguel, Açores (Mata ca. 50 anos) (**6A**); Espigão, Água de pau, Lagoa, São Miguel, Açores (**4A**); Pasto comprido da Pacheca, Lomba da Maia, Ribeira Grande, São Miguel, Açores (**5A**), Portugal.

Tipo de mata: Cultivo

Ano / mês de recolha: 2018 / 10

Cota: 4, 5 e 6

Tipo de solo: Andossolo (A)

Parte da planta: parte aérea – ramadas e bicadas (RB); estróbilos

Método de extração: Destilação por arrastamento de vapor

Amostra: 5 Óleos essenciais (OE); **4A1** (estróbilos verdes); **4A2** (estróbilos secos); **4A**; **5A** e **6A**

Tabela 1. Código das amostras referentes a setembro e outubro de 2018 e condições de extração dos OEs de *C. japonica*.

Código (ano; mês; cota; tipo de solo; número da amostra)	Processamento da planta	Tempo de destilação (h:min)	Rendimento (%, p/p)
18094A1	Estróbilos não estilhados	1:31	0,26 (%v/p)
18094A2	Estróbilos não estilhados	1:35	0,77 (%v/p)
18104A	Amostra não estilhada	2:00	0,29
18105A	Amostra não estilhada	2:10	0,30
18106A	Amostra não estilhada	2:08	0,24

Em simultâneo com as análises de GC e GC-MS dos OEs procedeu-se à análise por ^{13}C RMN das cinco amostras de OEs de *C. japonica*, representativas do mês de outubro de 2018 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 cinco OEs, **4A1** e **4A2** referentes aos estróbilos do mês de setembro e **4A**, **5A** e **6A** referentes às ramas e bicadas do mês de outubro.

O perfil químico de ^{13}C RMN do OE 18104A do mês de outubro resultante de amostras de ramadas e bicadas não estilhadas da mesma cota e local comparativamente com o OE 18094A do mês de setembro são semelhantes. Contudo o OE do mês de outubro, 18104A, contém maiores quantidades de elemol e filocladeno observou-se, ainda uma diminuição de sabineno e ligeiramente de α -pineno não existindo evidência de *ent*-caureno. (Anexo, Figura 1).

O perfil químico de ^{13}C RMN dos OEs 18105A de ramas e bicadas não estilhadas do mesmo local, mesma cota e do mês de outubro comparativamente com o OE do mês anterior (18095A) são semelhantes. No OE 18105A do mês de outubro deteta-se um aumento significativo dos monoterpenos sabineno, α -pineno e dos diterpeno filocladeno e sandaracopamaradieno, não havendo alteração nas percentagens de mirceno, elemol e limoneno. Observa-se ainda uma ausência de *ent*-caureno (Anexo, Figura 2).

O perfil químico de ^{13}C RMN dos OEs 18106A de ramas e bicadas não estilhadas do mesmo local, mesma cota e do mês de outubro comparativamente com o OE do mês anterior (18096A) são semelhantes. À semelhança dos OEs deste mês de outubro, no OE 18106A observa-se um aumento dos monoterpenos, sabineno, limoneno e mirceno. No que respeita ao conteúdo em diterpenóides observa-se um aumento de filocladeno e ausência de *ent*-caureno (Anexo, Figura 3).

A análise dos OEs dos estróbilos de *C. Japonica* do mês de setembro (18094A1 e 18094A2) foram pela primeira vez analisados por ^{13}C RMN. O perfil químico do OE 18094A1, correspondente aos estróbilos verdes, é maioritariamente constituído por α -pineno, existindo pequenas percentagens de todos os outros constituintes existentes neste OE de criptoméria, como sabineno, limoneno, mirceno, elemol, filocladeno e sandaracopamaradieno. O perfil químico do OE 18094A2, correspondente aos estróbilos secos, é semelhante ao do OE 18094A1, no entanto a percentagem de todos os seus constituintes é bastante reduzida. (Anexo, Figura 4).

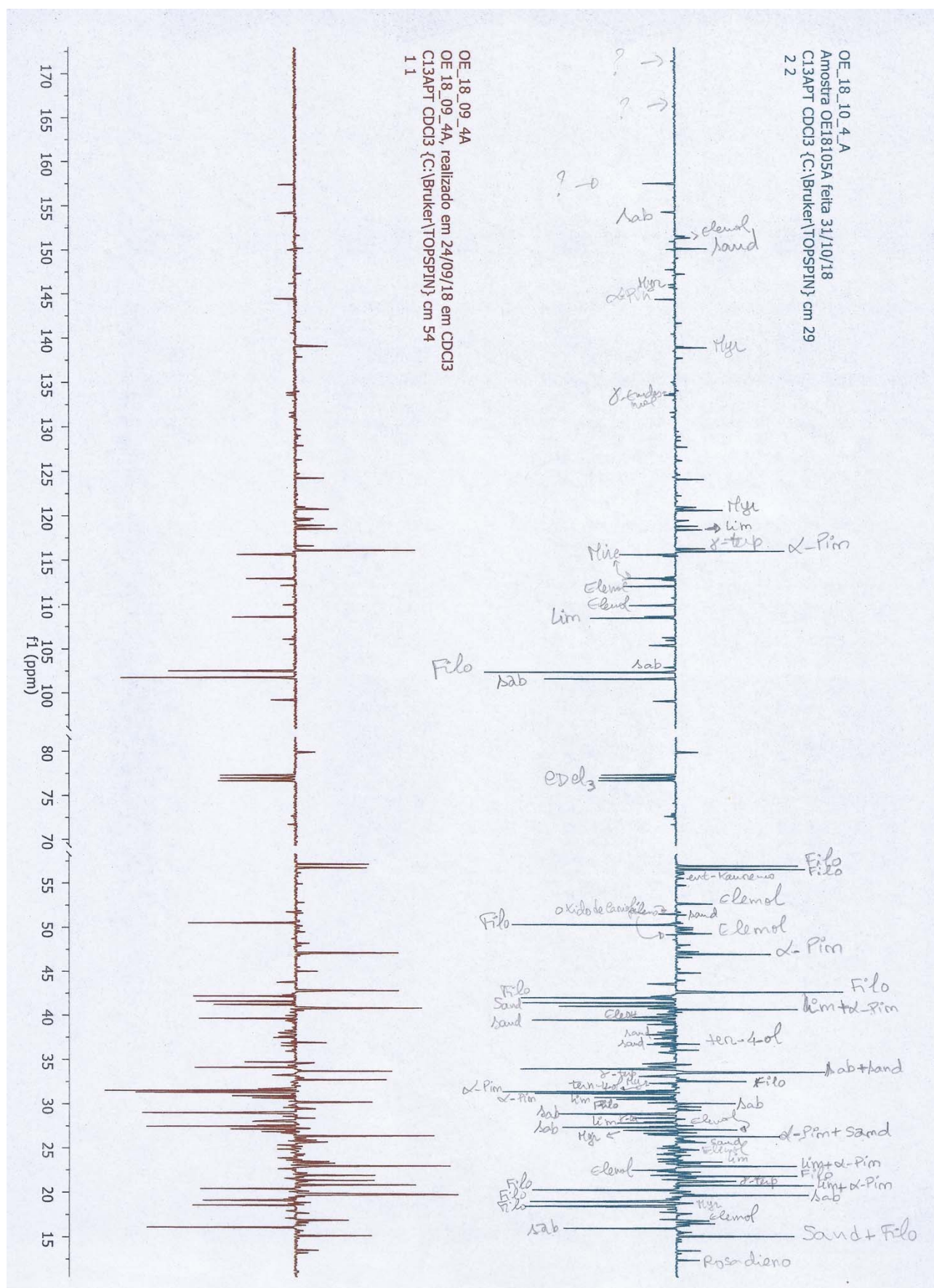


Figura 1. Comparação dos espectros de ^{13}C RMN (APT) dos OEs de 18104A e 18094A em CDCl_3 (δ 10 – 170 ppm). Aparelho de RMN de 400 MHz. Identificação dos compostos: α -Pin- α -Pineno; Sab – Sabineno; Lim – Limoneno; Myr – Mirceno; γ -Ter – γ -Terpineno; Tern-4-ol- Terpineno-4-ol; Emol- Elemol; Filo- Filocladeno; ent-Caur- ent-Caureno; Sand- Sandaracopamaradieno.

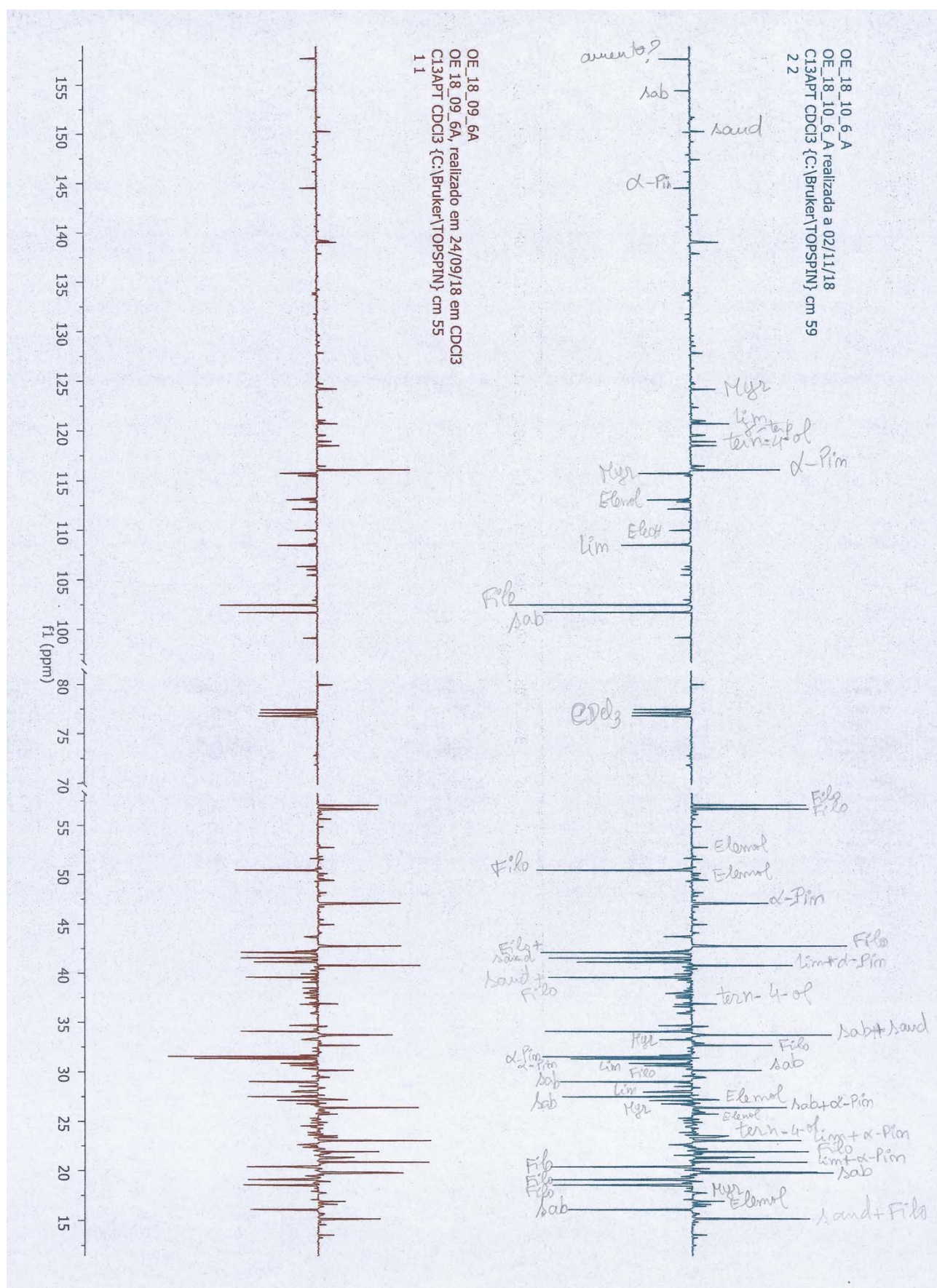


Figura 3- Comparação dos espectros de ^{13}C RMN (APT) do OE de **18106A** e **18096A** em CDCl_3 (δ 10 – 170 ppm). Aparelho de RMN de 400 MHz. Identificação dos compostos: **α -Pin**– α -Pineno; **Sab**– Sabineno; **Lim** – Limoneno; **Myr**– Mirceno; **γ -Ter**– γ -Terpineno; **Tern-4-ol**– Terpinen-4-ol; **Emol**– Elemol; **Filo**- Filocladeno; **ent-Caur**– ent-Caureno; **Sand**– Sandaracopamaradieno.

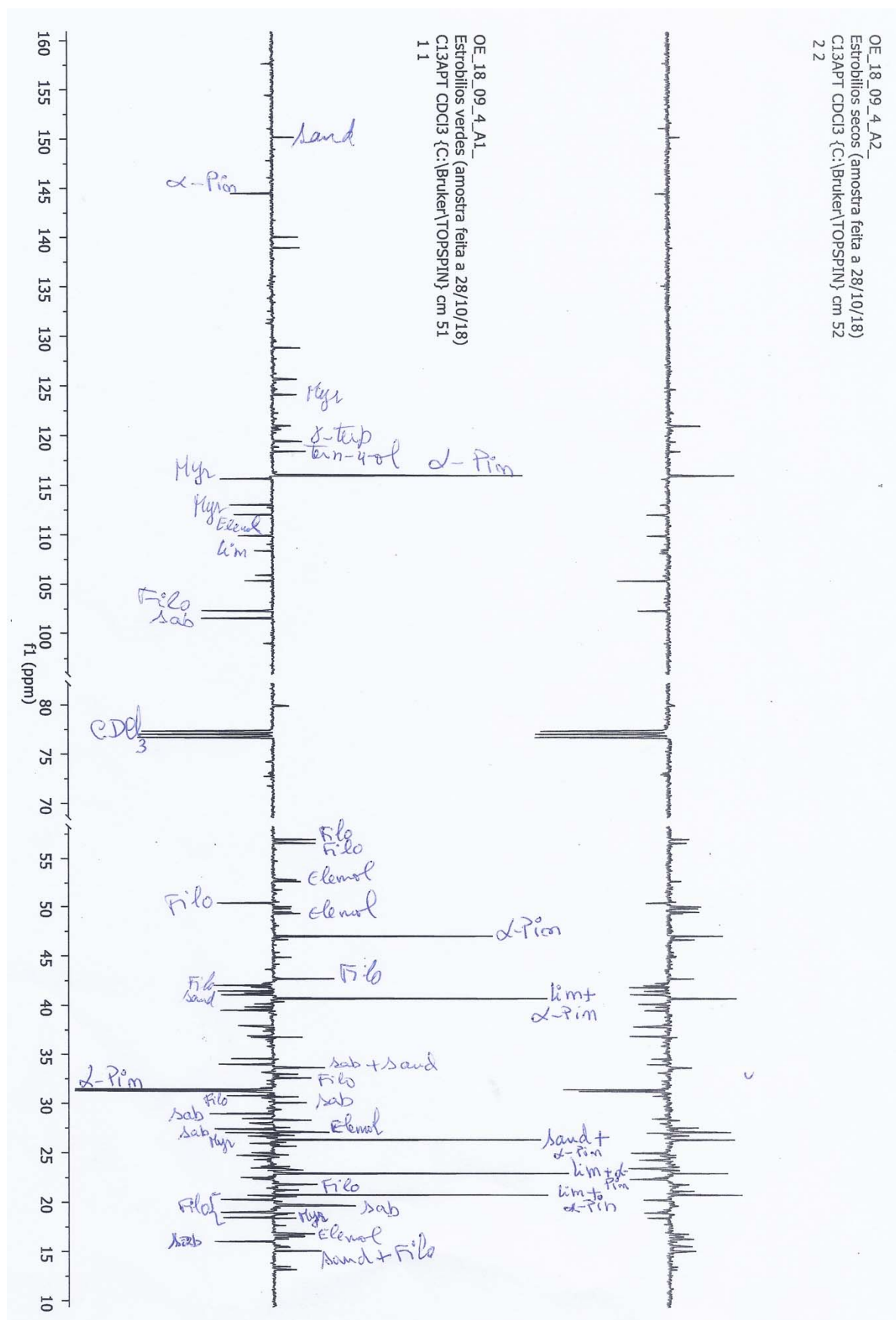


Figura 4- Comparação dos espectros de ^{13}C RMN (APT) do OE dos estróbilos verdes (**18094A1**) e OE dos estróbilos secos (**18094A2**) em CDCl_3 (δ 10 – 170 ppm). Aparelho de RMN de 400 MHz. Identificação dos compostos: **α -Pin**– α -Pineno; **Sab**– Sabineno; **Lim** – Limoneno; **Myr**– Mirceno; **γ -Ter**– γ -Terpineno; **Tern-4-ol**– Terpinen-4-ol; **Elemol**– Elemol; **Filo**– Filocladeno; **ent-Caur**– *ent*-Caureno; **Sand**–Sandaracopamaradieno.

Agradecimentos: ao projeto estratégico do CQB, ref^a UID/MULTI/0062/2013, e ao projeto SAI-AZOR/2018/392.

Analysis by ^{13}C Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy (^{13}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}C Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy (^{13}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: Espigão, Água de pau, Lagoa, São Miguel, Azores (**4A1**); Espigão, Água de pau, Lagoa, São Miguel, Azores, (**4A2**); Achadinha, Northeast, São Miguel, Azores, (**6A**) (Woods ca. 50 years); Espião, Água de pau, Lagoa, São Miguel, Azores (**4A**); Pasto comprido da Pacheca, Lomba da Maia, Ribeira Grande, São Miguel, Azores (**5A**), Portugal.

Type of forest: Cultivar

Production Year / production month: 2018 / 10

Quota: 4, 5 and 6

Types of soils: Andosols (A)

Part of plant: Aerial parts – tree branches; cones

Extraction procedure: Steam-distillation

Sample: 5 Essential Oils (EOs); **4A1**; **4A2**; **4A**; **5A** and **6A**

Table 1. Sample codes and extraction condition of *C. japonica* EOs collected in October 2018.

Code (Year; month; quota; soil type; sample number)	Plant processing	Distillation time (h:min)	Yield (%, w/w)
18094A1	Uncut green cones	1:31	0.26 (%v/p)
18094A2	Uncut dry cones	1:35	0.77 (%v/p)
18104 ^A	Uncut branches	2:00	0.29
18105 ^A	Uncut branches	2:10	0.24
18106 ^A	Uncut branches	2:08	0.30

The five samples of *C. japonica* EOs, representative of October 2018 provided by Azorina S.A., were analyzed by the ^{13}C NMR technique simultaneously with the GC and GC-MS analyzes. Thus, following the same procedure used with the other samples from previous months, a comparative analysis of the chemical constituents of the five EOs (**4A1**; **4A2**; **4A**; **5A** e **6A**) was progressed.

The ^{13}C RMN chemical profiles from October EOs 1810**4A** (uncut tree branches, same quote and region) in comparison with EO 1809**4A** of September are similar. However, the EO 1810**4A** contains a high amount of elemol and phylcladene and a decrease of sabinene and a slightly reduction of α -pinene. Additionally, the *ent*-caurene was not identified in the OE 1810**4A** (Annex, Figure 1).

The ^{13}C RMN chemical profiles from October EOs 1810**5A** and 1809**5A**, (uncut tree branches, same quote and region) are similar. However, there is a significant increase of sabinene, α -pinene, phylcladene and sandaracopamaradiene, while no percentage variation of myrcene, elemol and limonene is detected in the EO 1810**5A** (Annex, Figure 2).

The ^{13}C RMN chemical profiles from October EOs 18106A and 18096A, (uncut tree branches, same quote and region) are similar. In the same way, all October EOs, there is a slight increase of the limonene, sabinene and myrcene. Additionally, the content of phyllocladene increase and no *ent*-kaurene is identified (Annex, Figure 3).

The EOs 18094A1 and 18094A2 from *C. Japonica* cones (quote 4) was for the first time analysed. The ^{13}C NMR chemical profile of OE 18094A1 from green cones contains mainly α -pinene and minor amounts of sabinene, limonene, myrcene, elemol, and phyllocladene and sandaracopamaradiene diterpenoids. The EO 18094A2 from dry cones has a similar chemical profile with the EO 18094A1, however the monoterpene and diterpene contents of this EO is reduced (Annex, Figure 4).

Acknowledgments: Thanks are due to CQB, ref^a UID/MULTI/0062/2013, and to project SAI-AZOR/2018/392.